

УДК 616.12—005.4+616.15+615.522

Н. Г. Епископосян, А. Г. Бадалян, А. Л. Азизян, Г. М. Шарафян, Б. Е. Чилингарян

МОДИФИКАЦИЯ ГАНГЛИОЗИДАМИ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ СВОЙСТВ
ТРОМБОЦИТОВ КРОВИ БОЛЬНЫХ ОСТРЫМ ИНФАРКТОМ МИОКАРДА
И АНТИАГРЕГАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ ФРУКТОЗО-1,6-ДИФОСФАТА

Ведущая роль тромбоцитарного звена системы регуляции агрегатного состояния крови (РАСК) в патогенезе ИБС свидетельствует о необходимости коррекции повышенной АДФ—индуцированной агрегационной активности тромбоцитов крови больных ОИМ [1]. Изыскание эффективных средств, способных ограничить агрегационную активность тромбоцитов крови больных, приобретает особую актуальность и требует дальнейшего изучения механизмов проагрегантного действия АДФ. Многочисленные литературные данные свидетельствуют, что в механизме проагрегантного действия АДФ, важную роль играют АДФ-рецепторы мембран тромбоцитов [11]. Установлено, что наряду с рецепторными белками в связывании АДФ с плазматическими мембранами тромбоцитов участвуют и другие структурные компоненты клеточных мембран липидной природы—гликосфинголипиды, которые рассматриваются как класс мембранных рецепторов [8]. В этой связи увеличение содержания ганглиозидов в клеточных элементах и плазме крови больных ОИМ, а также понижение активности ферментов их распада [2] приобретают особую значимость, так как появляется все больше данных, свидетельствующих о способности ганглиозидов, встраиваясь в глубокие слои мембран, вызывать их конформационные перестройки.

Целью настоящей работы является изучение АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов, нативных и обогащенных ганглиозидами, крови доноров и больных ОИМ, а также коррекция выявленных сдвигов в условиях применения фруктозо-1,6-дифосфата (ФДФ).

Агрегационную активность тромбоцитов крови доноров и больных ОИМ исследовали в остром периоде заболевания (1—3-и сутки). Из 42 обследованных больных у 31 был диагностирован крупноочаговый, у 11—мелкоочаговый ИМ. Средний возраст больных—53 года. В качестве контроля использовали кровь 22 практически здоровых лиц (доноров). Кровь забирали венепункцией из локтевой вены, стабилизировали 3,8% раствором цитрата натрия в соотношении 1:9, центрифугировали в течение 10 мин при 1000 об/мин. Богатую тромбоцитами плазму (БТП) индуцировали АДФ в концентрации 10^{-7} моль. Агрегацию тромбоцитов определяли по Вопп [7]. При анализе агрегограмм оценивали следующие величины: максимальную агрегацию тромбоцитов (ма), время максимальной агрегации

(t_{ma}), среднюю скорость агрегации ($v_{cp.a}$), максимальную дезагрегацию (m_{da}), время максимальной дезагрегации (t_{mda}), среднюю скорость дезагрегации ($v_{cp.da}$). Обогащение тромбоцитов суммарной фракцией ганглиозидов осуществляли по Callies [9]. Ганглиозиды растворяли непосредственно в плазме крови в конечной концентрации 300 $\mu\text{г}/\text{мл}$. Полученный материал был подвергнут статистической обработке с оценкой достоверности по критерию Стьюдента.

В первой серии опытов определяли агрегационную активность тромбоцитов крови доноров и больных ОИМ. В следующей серии опытов «обогащали» тромбоциты доноров и больных ганглиозидами.

Полученные результаты свидетельствуют, что при двухчасовой преинкубации ганглиозидов с БТП крови доноров отмечается увеличение показателя m_a , достигающее $45,6 \pm 7,0\%$ (в контроле $28,5 \pm 2,5\%$). Необходимо отметить, что именно в этот срок происходит встраивание ганглиозидов в мембранные структуры ферментных элементов крови, т. е. происходит их «обогащение» [6].

Совершенно другая картина выявляется при изучении последствий обогащения БТП крови больных ОИМ. Установлено, что в условиях повышенной АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов, наблюдаемой при ОИМ, когда показатель m_a достигает $61,2 \pm 4,0\%$, двухчасовая преинкубация с ганглиозидами, напротив, уменьшает агрегационную активность тромбоцитов крови больных до $40,3 \pm 1,7\%$. Таким образом, имеются качественные различия в функциональном состоянии между тромбоцитами (в условиях их обогащения ганглиозидами) доноров и больных ОИМ. Необходимо также отметить, что ганглиозиды, способствуя повышению АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов доноров, одновременно ингибируют их дезагрегацию. У больных ОИМ агрегационная активность обогащенных ганглиозидами тромбоцитов понижается, параллельно с этим уменьшается и m_{da} .

Анализируя возможные механизмы действия ганглиозидов на функциональное состояние тромбоцитов крови доноров, можно предположить, что повышение агрегационной активности обогащенных ганглиозидами тромбоцитов доноров может происходить за счет того, что ганглиозиды, обладая высоким сродством с Ca^{2+} , способны создавать дополнительные участки связывания комплексов Ca^{2+} —АДФ [3] за счет входящих в их состав отрицательно заряженных остатков нейраминовых кислот (N-АНК). Это подтверждается данными о наличии определенного параллелизма между содержанием N-АНК в тромбоцитах и степенью их агрегируемости и тем, что при отщеплении нейраминидазой нейраминовой кислоты агрегационная активность тромбоцитов снижается [10].

Не менее важными являются данные о способности ганглиозидов уменьшать агрегационную активность тромбоцитов крови больных ОИМ. В данном случае следует указать, что ганглиозиды, внедряясь в мембранные структуры, меняют активность липидзависимых ферментов. Так, показано, что малые концентрации ганглиозидов активируют Na^+ — K^+ —АТФ-азу, большие—ингибируют [5]. Основываясь на концепции образования тромбоци-

тарных мостиков с участием АДФ, Ca^{2+} и белкового кофактора, можно предположить, что ганглиозиды связывают иммобилизованный на поверхности тромбоцитов Ca^{2+} [12] и тем самым препятствуют взаимодействию адениловой части молекул АДФ с тромбоцитарной мембраной.

Выявленное повышение АДФ-индуцированной агрегационной активности тромбоцитов крови больных ОИМ свидетельствует о необходимости коррекции функционального состояния тромбоцитов. В качестве антиагреганта в условиях *in vitro* использовали ФДФ фирмы «Reanal» в дозе 5 мг/мл (инк. 10 мин). Полученные данные свидетельствуют о том, что ФДФ резко угнетает повышенную t_{pa} тромбоцитов больных, одновременно с этим отмечается укорочение t_{pa} и $v_{ср.а}$. Одним из важных показателей оценки функционального состояния тромбоцитов является степень их дезагрегации. Установлено, что ФДФ, обладая антиагрегационным эффектом, одновременно увеличивает дезагрегационную активность тромбоцитов крови больных ОИМ.

Изучалось также влияние ФДФ на агрегационную активность тромбоцитов крови больных в условиях обогащения их ганглиозидами. Проведение этой серии опытов преследовало две цели: определить чувствительность дополнительно нагруженных ганглиозидами тромбоцитов крови больных ОИМ к антиагрегантному действию ФДФ и, с другой стороны, если возможно, определить роль ганглиозидов в транспорте ФДФ через тромбоцитарные мембраны.

Результаты исследований по изучению влияния ФДФ на агрегационную активность обогащенных ганглиозидами тромбоцитов крови больных ОИМ свидетельствуют о том, что ФДФ при 10 минутной преинкубации в концентрации 5 мг/мл резко уменьшает величину t_{pa} и сокращает t_{pa} .

Итак, при изучении роли ганглиозидов в структурно-функциональной организации тромбоцитов после 2-часовой преинкубации, т. е. в сроки, когда, по данным литературы, происходит встраивание ганглиозидов в мембраны, отмечается значительное увеличение АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов доноров и одновременно уменьшение их дезагрегационной активности. Однако в условиях патологии происходит расщепление эффекта ганглиозидов на агрегационное и дезагрегационное звено. Установлено также, что ФДФ оказывает антиагрегантный эффект, резко понижая агрегационную активность нативных и обогащенных ганглиозидами тромбоцитов крови больных. Антиагрегантный эффект ФДФ можно связать со способностью ФДФ усиливать связывание Ca^{2+} с мембранными структурами тромбоцитов [12]. Не исключается также, что ФДФ увеличивает отрицательный заряд мембран тромбоцитов за счет дополнительных фосфатных групп, что подавляет способность тромбоцитов к агрегации.

Полученные нами данные относительно влияния ФДФ на нативные и обогащенные тромбоциты свидетельствует о том, что чувствительность нативных и дополнительно нагруженных ганглиозидами

тромбоцитов крови больных ОИМ к антиагрегантному воздействию ФДФ проявляется в виде выраженного уменьшения агрегационной активности.

Ереванский государственный
медицинский институт

Поступила 15/X 1991г.

Ն. Հ. Նպիսկեպոսյան, Ա. Գ. Բաղայան, Հ. Լ. Ազիզյան,
Գ. Մ. Ծարաֆյան, Բ. Ն. Զիլինգարյան

ՍՐՏԱՄԿԱՆԻ ՍՈՒՐ ԽՆՖԱՐԿՏՈՎ ՏԱՌԱՊՈՂ ՀԻՎԱՆՂՆԵՐԻ ԱՐՁԱՆ ՔՐՈՄԲՈՑԻՏՆԵՐԻ
ՖՈՒՆԿՑԻՈՆԱԿԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ՎԵՐԱՓՈԽՈՒԹՅՈՒՆԸ ԳԱՆԳԼԻՈՉԻԴՆԵՐԻ ԵՎ
ՖՐՈՒԿՏՈՉԱ-1, 6-ԳԻՖՈՍՖԱՏԻ ՀԱԿԱՄԻԱՑՔԱՎՈՐԱՅԻՆ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅՈՒՆԸ

Որոշվել է, որ սրտամկանի սուր ինֆարկտով տառապող հիվանդների թրոմբոցիտների ԱԴՖ-ի մակածումով պայմանավորված բարձր միացքավորումը զանգվածայինորով երկժամյա նախաինկուբացիայի եմֆարկելուց հետո իջնում է, դրան զուգահեռ նվազում է նաև հիվանդների թրոմբոցիտների ապամիացքավորումային ակտիվությունը: Բուժման համար ընդունված դեղաչափով ֆրուկտոզա-1,6-դիֆոսֆատի օգտագործումը փորձանոթային պայմաններում կտրուկ իջեցնում է սրտամկանի սուր ինֆարկտով տառապող հիվանդների բնական և զանգվածայինորով հագեցված թրոմբոցիտների միացքավորումային ակտիվությունը:

N. G. Yepiscopossian, A. G. Sadalian, A. L. Azizian, G. M. Sharafian,
B. Ye. Chilingarian

Modification by Gangliosides of the Functional Properties of Blood Thrombocytes in Patients with Acute Myocardial Infarction and the Antiagregative Activity of Fructose-1, 6-Diphosphate

It is established that the increased ADP-induced aggregation of thrombocytes in patients with acute myocardial infarction after 2 hours' preincubation with gangliosides decreases. Paralelly the desagregative activity of thrombocytes in these patients also decreases.

The use of fructose-1, 6-diphosphate in therapeutic dose in vitro conditions acutely decreases the agregative activity of the native and enriched by gangliosides thrombocytes of the patients with acute myocardial infarction.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Бадалян Г. О., Тунян Ю. С., Епископосян Н. Г., Акопов С. Э. Кардиол., 1983, 3, с. 93.
2. Бадалян Г. О., Епископосян Н. Г., Соцкий О. П. Кардиол., 1986, 5, с. 101.
3. Габриелян Э. С., Акопов С. Э. Клетки крови и кровообращение. Ереван, 1985.
4. Лакис К. М., Макаров В. А., Муляр А. Г. В кн.: Нейромедиаторы и механизм действия нейротропных и сердечно-сосудистых веществ. М., 1979, с. 31.
5. Мирзоян С. А., Мхлян Э. Е., Секоян Э. С. и др. Бюлл. эксп. биол. и мед., 1978, I, с. 682.
6. Мхлян Э. С., Соцкий О. П., Акопов С. Э. Ж. exper. и клин. мед. АН Арм. ССР, 1981, I, с. 20.
7. Born G. V. R. Nature, 1962, 194, 927.
8. Critchley Q. R., Ansell S., Quilks S. Biochem. Soc. Trans., 1979, 2 7, 314.
9. Gallies R., Schwarzmann G, et al. Eur. J. Biochem., 1977, 80, 425.
10. Greenberg J. P., Pachham M. A., Guccione M. A. Blood, 1979, 53, 916.
11. Lips J. P., Sigma J. J., Schiphorst M. E. Biochem. Biophys. Acta, 1980, 623, 451.
12. Rasmussen H., Goodman D. P. D. Physiol. Rev., 1977, 57, 421.