

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ AP4A ДЛЯ КОРРЕКЦИИ КАЛЬЦИЕВОГО ОБМЕНА В ТРОМБОЦИТАХ КРЫС В БЛИЖАЙШЕЕ СРОКИ ПОСЛЕ ОБЛУЧЕНИЯ

**Пархимович О. Г.¹, Хилькевич А. А.¹, Деркач С.¹, Милевич Т. И.²,
Зинченко А. И.³, Лобанок Л. М.⁴, Буланова К. Я.¹**

¹Международный государственный экологический институт им. А. Д. Сахарова БГУ

²Институт радиобиологии НАН Беларуси

³Институт микробиологии НАН Беларуси

⁴Белорусский государственный университет, г. Минск, Беларусь

o_l_y_a89@mail.ru

Введение. Зарождение и существование жизни на Земле неразрывно связано с воздействием низкоинтенсивного радиационного фона. Изоляция от него вызывала замедление самых фундаментальных жизненных процессов. Более того, малые дозы радиации способствовали стимуляции антибластомных и противоинфекционных защитных механизмов, активизации внутриклеточного метаболизма, увеличению плодовитости и долголетию. Однако в настоящее время на живые организмы и человека дополнительно действует техногенная радиация, которая приводит к патологическим изменениям функции ряда органов и систем, в первую очередь сердечно-сосудистой системы, и как следствие, – к росту инвалидизации среди населения и летальности [1]. Обнаружена прямая связь между увеличением риска ишемических поражений сердца и повышением активности тромбоцитов в 1-3 сутки развития лучевой болезни. Известно, что процессы изменения формы и активации тромбоцитов определяются резким увеличением уровня $[Ca^{2+}]_{цит}$ в результате согласованного функционирования молекулярных транспортных систем для данного иона, локализованных во внутриклеточных депо тромбоцита и в его плазматической мембране [2]. Выявление мембраносвязанных молекулярных механизмов радиационно-индуцированной патологии и использование эффективных способов коррекции нарушений в сердечно-сосудистой системе на ранних стадиях является одной из актуальных проблем современной радиобиологии и радиационной медицины.

Цель – изучение молекулярных механизмов постлучевых изменений регуляции уровня цитоплазматического кальция в тромбоцитах облученных животных, а также возможности использования диаденозинтетрафосфата (Ар4А) для коррекции повышенной агрегационной способности тромбоцитов в ближайшие сроки постлучевого периода.

Методы исследования. Исследования проводили с использованием тромбоцитов необлученных (контроль) и облученных белых крыс. Животных подвергали воздействию γ -квантов ^{137}Cs (однократно и равномерно) на установке ИГУР (ГНУ «Институт радиобиологии НАН Беларуси») в дозе 1 Гр (мощность дозы 0,62 Гр/мин, в течение 2 минут). Исследования проводили на 3, 10, 30 и 90-е сутки постлучевого периода. Гематологические параметры изучали с использованием геманализатора фирмы Technicon Н-1. АДФ-индуцируемая активность тромбоцитов исследовалась с применением компьютеризированного анализатора агрегации тромбоцитов AP 2110 научно-производственного центра «СОЛАР» (Минск, Беларусь). В качестве индуктора агрегации использовали АДФ в концентрации 10^{-6} - 10^{-3}M , а дезагрегантом являлся Ар4А (ГНУ «Институт микробиологии НАН Беларуси»). Исследование содержания ионов кальция в тромбоцитах осуществляли с использованием флуоресцентного зонда fura-2AM.

Результаты и их обсуждение. Выявлено, что острое облучение в дозе 1 Гр не повлияло на количество тромбоцитов в периферической крови крыс, но на 3-и и 30-е сутки после облучения обнаружилось увеличение у части особей степени АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов по сравнению с контролем. Следовательно, риск тромбообразования в постлучевой период обусловлен именно изменением функциональной активности тромбоцитов, поскольку количество кровяных пластинок не изменялось в течение исследуемых сроков.

Эксперименты показали, что в ближайшие сроки после облучения в тромбоцитах крыс увеличено содержание $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{цит}}$ как в бескальциевой, так и в кальций-содержащей среде, что свидетельствует о нарушении функций молекулярных систем, расположенных в плазматической мембране и внутриклеточных

депонирующих структурах, регулирующих приток в цитоплазму и отток из нее ионов кальция. В постлучевой период также нарушается функционирование рецептор-зависимой регуляции уровня ионов кальция в цитоплазме тромбоцитов. АДФ-стимулированное поступление ионов кальция в цитоплазму тромбоцитов облученных животных на 3-и сутки увеличивалось в 2,3 раза, на 10-е сутки в 1,5 раза вследствие роста трансмембранного поступления этих ионов извне. Доказано, что под действием тромбина стимулируется более интенсивный выброс ионов кальция из внутриклеточных депо во все исследованные сроки постлучевого периода (с максимумом на 3-и сутки).

Ар4А оказался способным снижать АДФ-индуцированное повышение содержания ионов кальция в цитоплазме тромбоцитов контрольных и облученных животных в экспериментах *invitro*. На 3-и сутки постлучевого периода достигалось 50% ингибирование, а на 10-е – 80%. Под действием Ар4А снижалось также и тромбин-индуцированное поступление ионов кальция в цитоплазму из депонирующих структур тромбоцитов контрольных и облученных крыс: в контроле – на 40%, на 3-и сутки после облучения – на 15%, на 10-е сутки – на 30%. Дальнейшими экспериментами доказана возможность применения Ар4А *in vivo* для снижения эффективности Ca^{2+} -зависимых процессов в тромбоцитах облученных крыс.

Выводы. Таким образом, доказана целесообразность использования Ар4А как в качестве антиагреганта при тромбоцитарных состояниях, так и радиопротектора, обладающих особыми свойствами – вызывать снижение агрегационной способности тромбоцитов только до определенного уровня, не выходящего за пределы нормы реакции, выявленной в контрольных экспериментах, что позволяет при применении данного препарата избегать нежелательных геморрагических осложнений.

Литература

1. Кузин А. М. Природный радиоактивный фон и его значение для биосферы Земли // Наука. – 1991. – 115 с.
2. Varga-Szabo D., Braun A., Nieswa B. Calcium signaling in platelets // Journal of Thrombosis and Haemostasis. – 2009. – № 7. – P. 1057-1066.