

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ДЕФЕНСИНОВ НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ ТРОМБОЦИТОВ

Цыганок С.С., Парахонский А.П.,

Медицинский центр «Здоровье», Кубанский медицинский университет

Краснодар, Россия

E-mail: para.path@mail.ru

В последние годы из лейкоцитов человека и других млекопитающих выделен ряд веществ пептидной природы с антимикробными свойствами (дефенсины, протегрины, профенины и др.). Такие олигопептиды участвуют в регуляции многих физиологических процессов. Молекулярные особенности пептидов оказываются существенными при выполнении ими регуляторных функций. Дефенсины (ДФ) являются наиболее представительными веществами этой группы, поскольку обнаружены не только у человека, но и у ряда животных, и составляют 5-7% от клеточного белка нейтрофилов и до 50% белка азурофильных гранул. Они обладают широким спектром антимикробной, антивирусной, цитотоксической, хемотаксической активности, модулируют гормональные ответы. Имеющиеся различия в структуре и физико-химических свойствах ДФ человека и других млекопитающих дают основание сопоставить их влияние на функциональную активность тромбоцитов.

Цель работы – сравнительная оценка влияния дефенсинов человека и кролика на агрегационную активность тромбоцитов. Использовали кровь здоровых доноров и кроликов. ДФ получали из лейкоцитарной фракции крови путём экстракции раствором уксусной кислоты. Экстракт лиофилизировали, подвергали гельфильтрационной хроматографии на колонке с акрилексом Р-10. Фракцию белков, выходящую из колонки после лизоцима, с молекулярной массой менее 15000Д, анализировали на присутствие ДФ методом аналитического электрофореза в полиакриламидном геле. В работе использовали суммарные фракции ДФ человека и кролика в концентрациях от 0,2 до 200 мкг/мл. Тромбоциты выделяли центрифугированием. Влияние ДФ на агрегационную активность тромбоцитов изучали в плазме крови и в суспензии отмытых клеток. Концентрация тромбоцитов в суспензии составляла 2×10^5 /мкл. В качестве индукторов агрегации тромбоцитов применяли тромбин, АДФ, коллаген, липополисахарид в различных концентрациях. Агрегацию тромбоцитов регистрировали на двухканальном агрегометре.

Установлено, что ДФ в высоких концентрациях индуцировали агрегацию тромбоцитов в суспензии. Под влиянием ДФ кролика развивалась более выраженная агрегация клеток, чем на фоне той же концентрации ДФ человека. Амплитуда и максимальная скорость агрегации тромбоцитов в присутствии кроличьих ДФ превышала аналогичные показатели в опытах с ДФ человека на 20% ($p < 0,05$) и 37% ($p < 0,05$) соответственно. При снижении концентрации ДФ до 100 мкг/мл достоверных различий между оцениваемыми показателями агрегационной активности тромбоцитов, стимулированных человеческими или кроличьими пептидами, не выявлено. В плазме, богатой тромбоцитами, ДФ человека и кролика даже в высоких концентрациях не стимулировали агрегацию клеток. В концентрациях до 50 мкг/мл ДФ человека подавляли агрегацию тромбоцитов, индуцированную тромбином, коллагеном и АДФ, достоверно уменьшая как амплитуду, так и скорость индуцированной агрегации клеток. ДФ кролика проявляли большую активность в отношении кроличьих тромбоцитов, чем человеческих. Амплитуда и скорость агрегации кроличьих тромбоцитов превышали аналогичные показатели для тромбоцитов человека, вызванную теми же концентрациями пептидов, соответственно в 1,4 и 1,8 раз.

Свойство оказывать разнонаправленные биологические эффекты, в зависимости от концентрации обнаружено у пептидов различных групп (эндорфины, энкефалины и др.). Показано, что ДФ, выделенные у человека и кролика, также вызывают разнонаправленные

изменения агрегационной активности тромбоцитов при различных концентрациях. Среди основных характеристик ДФ, определяющих их биологическую активность рассматриваются особенности их первичной структуры и связанные с ними физико-химические свойства. Чередование в молекулах ДФ высококатионных участков с гидрофобными, благодаря высокому содержанию в них аминокислотных остатков аргинина и тирозина, делает их сильными поверхностно-активными веществами. С этими свойствами связаны начальные этапы электростатического взаимодействия ДФ с клетками-мишенями, прохождение этих пептидов через липидный бислой плазматических мембран и образование в них потенциал-регулируемых ионных каналов. Оказалось, что ДФ кролика, имея сходное строение с ДФ человека, имеют более выраженные катионные свойства. Анализ показал, что ДФ кролика в равных концентрациях с ДФ человека обладают более выраженными проагрегационными свойствами. Эти данные позволяют предположить, что проагрегационная активность ДФ в высоких концентрациях в большой степени обусловлена положительным зарядом их молекул.

Таким образом, дефенсины человека и кролика вызывают однонаправленные, дозозависимые изменения агрегации тромбоцитов, обладая проагрегационной активностью в высоких концентрациях и ингибируя её в низких концентрациях. Выяснена зависимость характера влияния ДФ на тромбоциты от их видовой принадлежности, а также особенности физико-химических свойств этих пептидов. Проагрегационная активность ДФ кролика в отношении тромбоцитов выражена сильнее, чем у ДФ человека.