

Роль тромбоцитов в свёртывании плазмы не ограничивается предоставлением липидной поверхности.

Научный руководитель – Баландина Анна Николаевна

Петрунина Наталия Андреевна

Студент (магистр)

Московский физико-технический институт, Москва, Россия

E-mail: nap@purplefront.ru

В организме основным источником фосфолипидной поверхности, необходимой для запуска каскада реакций свёртывания крови, являются тромбоциты [1]. Но полный вклад тромбоцитов в этот процесс до конца не изучен. Целью данной работы было выяснить, как различается свёртывание плазмы в присутствии тромбоцитов и искусственных фосфолипидных микровезикул (ФМ).

Тромбин - основной регуляторный фермент системы свертывания. И самый распространенный глобальный тест гемостаза - это тест генерации тромбина [1]. В этом тесте измеряется концентрация тромбина в системе в зависимости от времени.

Процесс свёртывания активируется добавлением тканевого фактора (ТФ) непосредственно в объём плазмы в концентрации 5 пМ (гомогенная модель [3]). Модифицированный тест проводится при активации от поверхности с иммобилизованным ТФ (100 пмоль/м²) (пространственная модель [2]). Фибриновый сгусток и генерация тромбина изучалась с помощью видеомикроскопии. Использовалась плазма крови здоровых доноров с тромбоцитами, свободная от тромбоцитов и плазма с добавлением 4 мкМ ФМ (80% фосфатидилхолин, 20% фосфатидилсерин).

В гомогенной модели с 200 тыс./мкл тромбоцитов максимум концентрации тромбина достигается через 10 ± 3 минут от начала реакции и имеет амплитуду 124 ± 30 нМ (N=6). При уменьшении концентрации тромбоцитов амплитуда пика уменьшается, и пик распадается на два. Амплитуда второго пика так же уменьшается, а время его достижения увеличивается. Без тромбоцитов наблюдается только первый пик тромбина (время достижения 8 ± 2 минут, амплитуда 25 ± 9 нМ). В присутствии ФМ его амплитуда увеличивается до 102 ± 29 нМ, время достижения 5 ± 1 минут. Амплитуда пика тромбина в плазме с ФМ достоверно ниже по сравнению с амплитудой в присутствии 200 тыс./мкл тромбоцитов ($p < 0,05$, парный t-тест). В пространственной модели при 200 тыс./мкл тромбоцитов формируется волна тромбина, распространяющаяся от места активации. Амплитуда волны через 60 минут составляет 119 ± 37 нМ. При уменьшении концентрации тромбоцитов амплитуда волны тромбина также уменьшается, скорость распространения не изменяется. При концентрации тромбоцитов ниже 40 тыс./мкл и в отсутствие тромбоцитов волна не формируется - распространение тромбина диффузное. При добавлении ФМ так же как и при высокой концентрации тромбоцитов формируется волна тромбина. Амплитуда волны в плазме с ФМ 63 ± 23 нМ, а скорость распространения волны выше, чем в присутствии тромбоцитов.

Образование тромбина качественно отличается в присутствии тромбоцитов и ФМ, т. е. роль тромбоцитов в свёртывании плазмы не ограничивается предоставлением липидной поверхности.

Источники и литература

- 1) М.А. Пантелеев, С.А. Васильев, Е.И. Синауридзе, А.И. Воробьев, Ф.И. Атауллаханов. Практическая коагулология. М., 2011.
- 2) Dashkevich N.M., et al. Thrombin Activity Propagates in Space During Blood Coagulation as an Excitation Wave // Biophys J. 2012 Nov 21; 103(10): 2233-40.
- 3) Hemker H.C., et al. The thrombogram: monitoring thrombin generation in platelet-rich plasma // Thromb Haemost 2000; 83: 589-91.