

# Ca<sup>2+</sup>-ОТВЕТ И ПРОВОДИМОСТЬ ИОННЫХ КАНАЛОВ ПЛАЗМАТИЧЕСКОЙ МЕМБРАНЫ ТРОМБОЦИТОВ ПРИ ДЕЙСТВИИ РАЗЛИЧНЫХ ФОРМ МИЕЛОПЕРОКСИДАЗЫ

**Шамова Е.В.<sup>1</sup>, Кохан А.Ю.<sup>1</sup>, Григорьева Д.В.<sup>1</sup>, Балабин Ф.А.<sup>2</sup>, Соколов А.В.<sup>3,4</sup>,  
Свешникова А.Н.<sup>2</sup>, Горудко И.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

<sup>2</sup>ФГБУН Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН и в ФГБУ  
«НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва, Россия

<sup>3</sup>ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

<sup>4</sup>ФГБУ ФНКЦ физико-химической медицины ФМБА России, Москва, Россия

Взаимодействие компонентов иммунной системы и системы гемостаза происходит на множестве уровней. Одним из механизмов такого взаимодействия является регуляция функциональной активности тромбоцитов белками гранулярного аппарата нейтрофилов. Ранее было показано, что миелопероксидаза (МПО) – фермент азурофильных гранул нейтрофилов – оказывает праймирующее действие на АДФ-индуцированную агрегацию и депо-зависимый вход Ca<sup>2+</sup> в тромбоцитах. МПО, катализирующая реакции образования активных форм галогенов (АФГ) и кислорода (АФК), становится мишенью для АФК и АФГ будучи в очаге воспаления, что в случае острой фазы воспаления приводит к появлению в крови различных модификаций МПО (МПО-НОС1, мономерная МПО (геми-МПО) и др.). В связи с этим, в настоящей работе проведен сравнительный анализ влияния различных форм МПО (нативная димерная МПО, МПО-НОС1 и геми-МПО) на способность связываться с плазматической мембраной тромбоцитов и влиять на функциональный отклик данных клеток.

Изменение концентрации внутриклеточного Ca<sup>2+</sup> изучали с помощью флуоресцентного зонда CalBryte 590 методом TIRF-микроскопии. Электрофизиологические характеристики тромбоцитов детектировали методом пэтч-клэмп в конфигурации «cell-attach».

Установлено, что способность геми-МПО связываться с мембраной тромбоцитов была достоверно ниже по сравнению с нативным белком, а НОС1-модифицированная МПО в соотношении 1:100 (моль:моль) была практически не способна связываться с мембраной тромбоцитов. С помощью TIRF-микроскопии в присутствии димерной МПО и геми-МПО обнаружено увеличение частоты осцилляций свободных ионов внутриклеточного Ca<sup>2+</sup> в тромбоцитах, адгезированных на VM64 (anti-CD31). Данный эффект сопровождался гиперполяризацией плазматической мембраны клеток вследствие открытия Ca<sup>2+</sup>-зависимых калиевых и Ca<sup>2+</sup>-зависимых хлорных ионных каналов плазматической мембраны. При этом влияние геми-МПО на Ca<sup>2+</sup>-сигнализацию и изменение проводимости ионных каналов было достоверно ниже, по сравнению с эффектами димерной МПО (в 1,5 - 2 раза). НОС1-МПО не влияла на исследуемые отклики клеток, что согласуется с результатами о низком сродстве данной формы МПО к мембранным структурам тромбоцитов. Поскольку Ca<sup>2+</sup>-зависимый ионный гомеостаз играют важную роль в процессах образования субпопуляций тромбоцитов, дальнейшие исследования, направленные на выяснение механизмов сигнализации различных субпопуляций тромбоцитов при действии МПО, будут важны для понимания патофизиологии гемостаза и разработки новых способов фармакологической регуляции.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что нейтрофилы способны регулировать процессы тромбоцитарного звена гемостаза не только за счет высвобождения гранулярных белков во внутриклеточное пространство, но и за счет модификации их физико-химических свойств АФГ и АФК.

Работа поддержана грантами БРФФИ №Б20Р-215 и МД-1901.2020.4.