

ВЛИЯНИЕ БИОПОЛИМЕРОВ И ФУНКЦИОНАЛИЗИРОВАННЫХ ИМИ МИКРОЧАСТИЦ ВАТЕРИТА НА АГРЕГАЦИЮ ТРОМБОЦИТОВ

Д. В. Григорьева¹, Е. В. Михальчик², Н. Г. Балабушевич³, М. А. Мурина²,
О. М. Панасенко², А. В. Соколов^{2,4}, И. В. Горудко¹

¹Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

²ФГБУ ФНКЦ физико-химической медицины им. Ю.М. Лопухина ФМБА, Москва, Россия

³Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

⁴ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

Введение. Микрочастицы ватерита, представляющие собой метастабильную форму карбоната кальция, являются перспективными формами доставки лекарственных соединений. В настоящее время разрабатываются препараты с включением в ватерит тромбина и транексамовой кислоты для терапии геморрагических состояний. Однако для более эффективной доставки целевых молекул (увеличения включения и удерживания) микрочастицы ватерита необходимо функционализировать биополимерами. Цель работы – исследовать влияние полисахаридов (декстрансульфата, хондроитинсульфата, гепарина, пектина, фукоидана), муцина и микрочастиц ватерита, а также гибридных микрочастиц ватерита с вышеупомянутыми биополимерами на агрегационную активность тромбоцитов.

Методы. Обогащенную тромбоцитами плазму (ОТП), а также изолированные тромбоциты выделяли из донорской крови, стабилизированной цитратом натрия. ОТП получали центрифугированием крови при 200 g в течение 10 мин. Отмытые тромбоциты выделяли путем двукратного центрифугирования ОТП при 1600 g в течение 3 мин с последующим отмыванием осадка в трис/ЭДТА-буфере, содержащем 13,3 мМ трис, 120 мМ NaCl, 15,4 мМ KCl, 6 мМ D-глюкозы и 1,5 мМ ЭДТА (pH 6,9). Агрегацию тромбоцитов исследовали турбидиметрическим методом, регистрируя изменение светопропускания клеточных суспензий на длине волны 540 нм при 37 °С и постоянном перемешивании.

Результаты. Установлено, что фукоидан, гепарин, декстрансульфат (при внесении в ОТП) и муцин (при добавлении к изолированным тромбоцитам) индуцировали агрегацию клеток. Пектин и хондроитинсульфат дозо-зависимым образом ингибировали АДФ- и тромбин-индуцированную агрегацию, муцин подавлял АДФ-индуцированную, а декстрансульфат – тромбин-индуцированную агрегацию тромбоцитов. Микрочастицы ватерита в концентрации 0,1–1 мг/мл не влияли на агрегацию изолированных тромбоцитов, но вызывали 10–15%-ую агрегацию клеток в плазме; при этом в концентрации 1 мг/мл микрочастицы ватерита на ~ 30% препятствовали агонист-индуцированной агрегации клеток. Установлено, что гибридные микрочастицы ватерита с фукоиданом или гепарином при внесении как в ОТП, так и к изолированным клеткам способны инициировать агрегацию тромбоцитов. Гибридные микрочастицы ватерита, функционализированные пектином или хондроитинсульфатом, не оказывали влияния на спонтанную агрегацию клеток, и не влияли (с хондроитинсульфатом) или ингибировали (с пектином) агонист-индуцированную агрегацию тромбоцитов.

Вывод. Использование гибридных микрочастиц ватерита с пектином или фукоиданом/гепарином может быть перспективным для доставки препаратов, направленных на модуляцию (ингибирование – с пектином или активацию – с фукоиданом/гепарином) тромбоцитарного звена гемостаза.

Работа выполнена при поддержке совместного гранта Российского научного фонда (проект № 23-45-10026) и Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (проект № Б23РНФ-093), получение микрочастиц ватерита проведено при частичной поддержке темы 121041500039-8 МГУ им. М.В. Ломоносова.