

КАЛЬЦИЕВЫЙ ГОМЕОСТАЗ В ТРОМБОЦИТАХ ПРИ БЕРЕМЕННОСТИ, ОСЛОЖНЕННОЙ ПРЕЭКЛАМПСИЕЙ

**Криволап А.А.¹, Бакунович А.В.², Бичан О.Д.¹, Сидоренко В.Н.³,
Лобанок Л.М.³, Буланова К.Я.²**

¹*Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь*

²*УО «Международный государственный экологический институт
имени А.Д. Сахарова» БГУ, Минск, Беларусь*

³*УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
Минск, Беларусь*

Одной из актуальнейших проблем современного акушерства является преэклампсия – осложнение беременности, в основе которого лежат расстройства кровообращения как на микроциркуляторном, так и системном уровне. Преэклампсия стабильно занимает третье место в структуре материнской смертности во всем мире. Нарушения функциональной активности тромбоцитов, связанной с адгезией и агрегацией, приводят к повышенной кровоточивости или усилению тромбообразования и развитию патологических изменений кровообращения. При преэклампсии у беременных женщин возникающая повышенная агрегационная активность тромбоцитов может вызвать компенсаторное снижение их числа. Затяжные процессы в снижении числа тромбоцитов способны привести к процессам декомпенсации, развитию HELLP-синдрома: жизненно несовместимому падению числа тромбоцитов, снижению агрегационной способности тромбоцитов, приводящей к трудно устранимым кровопотерям [1]. Агрегационная активность тромбоцитов напрямую связана с повышенным уровнем цитоплазматического кальция и зависящих от него процессов. Целью исследования явилось изучение изменения кальциевого гомеостаза в тромбоцитах беременных женщин с преэклампсией.

Объектом исследования служили тромбоциты крови здоровых беременных женщин, составивших контрольную группу (23 пациентки) и беременных с установленным на 37-39 неделе беременности диагнозом – преэклампсия (19 пациенток). Забор крови у пациенток проводили при обязательном контроле отсутствия в течение месяца приема препаратов, влияющих на агрегацию тромбоцитов. Внутриклеточную концентрацию свободных ионов кальция ($[Ca^{2+}]_i$) в тромбоцитах определяли флуоресцентным методом с использованием кальциевого зонда флуора 2-AM.

Нами получено, что в тромбоцитах, суспендированных в Хепс-буфере, содержащем 1 ммоль/л CaCl_2 , базальный уровень ионов кальция был выше в группе женщин с преэклампсией (82,1±4,2) нмоль/л по сравнению с контрольной группой (60,6±3,5) нмоль/л.

Агрегант-индуцированный переход тромбоцитов из состояния покоя в активированное состояние происходит посредством Ca^{2+} -сигнализации. Результаты исследования показали, что в среде с кальцием в ответ на действие АДФ (20 мкмоль/л) достигаются более высокие значения внутриклеточной концентрации ионов Ca^{2+} при преэклампсии, чем в контрольной группе ((254,9±30,6) нмоль/л и (215,4±17,1) нмоль/л, соответственно).

При действии иономицина (50 нмоль/л) в присутствии тапсигаргина (ТГ) (1 мкмоль/л), являющегося ингибитором Ca^{2+} -АТФазы эндоплазматического ретикулума, концентрация ионов кальция в цитоплазме тромбоцитов, суспендированных в бескальциевой среде, здоровых беременных женщин и с преэклампсией, увеличивалась достигая равных, максимальных значений (592,1±67,5) нмоль/л и (584,4±49,2) нмоль/л, соответственно. Поскольку при действии иономицина в присутствии ТГ происходит полное опустошение кальциевых депо тромбоцитов, то полученные данные свидетельствуют о том, что количество цитоплазматического Ca^{2+} , аккумулированного во внутриклеточных пулах тромбоцитов, для обеих исследуемых групп было одинаковым. Через 5 мин после активации, $[\text{Ca}^{2+}]_i$ в тромбоцитах здоровых беременных и с преэклампсией уменьшалась по сравнению с исходными максимальными значениями до разных уровней: (84,5±6,8) нмоль/л и (101,2±13,7) нмоль/л, соответственно, свидетельствуя о том, что скорость снижения уровня мобилизованного кальция в цитоплазме за счет его удаления Ca^{2+} -транспортными системами плазматической мембраны, была значительно ниже в группе беременных женщин с преэклампсией по сравнению с контрольной группой. Полученные данные позволяют предположить, что в тромбоцитах беременных женщин с преэклампсией нарушены процессы, регулирующие скорость экструзии ионов Ca^{2+} во внеклеточную среду.

Внутриклеточная концентрация ионов Ca^{2+} повышается за счет высвобождения Ca^{2+} из внутриклеточных депо и/или активации входа внеклеточных ионов Ca^{2+} через каналы плазматической мембраны. В настоящее время, методический прием с использованием бескальциевой среды, в которую добавляют 100 мкмоль/л ЭГТА для связывания примесных двухвалентных катионов, широко используется для определения вклада каждого из компонентов. В условиях ингибирования Ca^{2+} -АТФазы плазматической мембраны снижение уровня мобилизиро-

ванных ионов Ca^{2+} в цитозоле до базального способны обеспечить Ca^{2+} -АТФазы эндоплазматического ретикулума. В тромбоцитах идентифицированы 2 различные изоформы Ca^{2+} -АТФаз – SERCA2b и SERCA3 [2, 3]. Специфическим ингибитором изоформы SERCA2b, которая является Ca^{2+} -АТФазой плотной тубулярной системы, является ТГ. SERCA3, представленная в содержащих кислую фосфатазу органеллах, обладает низкой чувствительностью к ТГ, но высокой к 2,5-ди-(tert-бутил)-1,4-гидрохинону (tBHQ).

Добавление ТГ в низкой концентрации (10 нмоль/л) приводит к росту $[\text{Ca}^{2+}]_i$ из-за выхода ионов кальция из плотной тубулярной системы. Данные показали, что концентрация ионов кальция после добавления ТГ была существенно выше у пациенток с преэклампсией (156,5±23,2) нмоль/л, чем в контрольной группе (94,1±7,1) нмоль/л. Аналогичные результаты были нами получены при изучении высвобождения ионов кальция с использованием tBHQ (20 мкмоль/л). После его добавления максимальная концентрация высвободившихся ионов кальция в группе с преэклампсией была (238,8±19,4) нмоль/л и (116,8±12,8) нмоль/л в контрольной группе.

Таким образом, нами установлено, что в тромбоцитах беременных женщин с преэклампсией нарушены процессы, регулирующие снижение уровня мобилизованных ионов Ca^{2+} в цитозоле. Результаты настоящей работы свидетельствуют об изменении процессов регулирования Ca^{2+} -гомеостаза в тромбоцитах беременных женщин с преэклампсией, которое может быть связано с развитием повышенной агрегационной активностью тромбоцитов при данной патологии.

Литература

1. Change in platelet count predicts eventual maternal outcome with syndrome of hemolysis, elevated liver enzymes and low platelet count / B. Renhart [et al.] // *J. Matern. Fetal Med.* – 2001. – Vol. 10, № 1. – P. 29-34.
2. Cavallini, L. Two classes of agonist-sensitive Ca^{2+} stores in platelets, as identified by their differential sensitivity to 2,5-di-(tert-butyl)-1,4-benzohydroquinone and thapsigargin / L. Cavallini, M. Coassin, A. Alexandre // *J. Biochem.* – 1995. – Vol. 2. – P. 449-452.
3. Demonstration of two forms of calcium pumps by thapsigargin inhibition and radio-immunoblotting in platelet membrane vesicles / B. Papp [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 1991. – Vol. 266. – P. 14593-14596.