

Исследование молекулярных механизмов действия агликонов флавоноидов на тромбоциты

Научный руководитель – Гамбарян Степан Петрович

Балыкина Анна Михайловна

Студент (специалист)

Санкт-Петербургский государственный университет, Медицинский факультет,
Санкт-Петербург, Россия

E-mail: priliplaW@gmail.com

Тромбоз - это патология сердечно-сосудистой системы, которая является одной из основных причин смертности по всему миру, вызывая ишемическую болезнь сердца и цереброваскулярные заболевания. Несмотря на наличие широкого спектра лекарственных средств, корригирующих нарушения гемостаза, многие из них токсичны и имеют узкое терапевтическое окно. Высокий терапевтический потенциал имеют препараты растительного происхождения, относящиеся к классу флавоноидов. Для соединений агликонов флавоноидов показано наличие множества биологических активностей, а также низкий уровень токсичности. В связи с тем, что молекулярные механизмы действия агликонов на тромбоциты на данный момент недостаточно изучены, исследование данной группы соединений является перспективным направлением.

Цель работы: изучение молекулярных механизмов антитромбоцитарного эффекта ряда агликонов флавоноидов: кемпферол, лютеолин, кверцетин, эриодиктиол, мирицетин.

Исследование проводилось на тромбоцитах человека, выделенных из крови здоровых доноров. Для оценки активации интегринов $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$ на поверхности тромбоцитов, активности внутриклеточных эстераз и экстернализации фосфатидилсерина использовался метод проточной цитометрии. Для определения уровня фосфорилирования субстратного белка VASP (vasodilator-stimulated phosphoprotein) применялся Western blot анализ. Эксперименты были выполнены в количестве не менее четырех, достоверность определялась по U-критерию Манна-Уитни, значения $p < 0.05$ считали статистически значимыми.

Исследуемые агликоны флавоноидов ингибировали активацию тромбоцитов, индуцированную тромбином. Данный эффект осуществляется без индукции апоптоза и воздействия на жизнеспособность тромбоцитов. Основные молекулярные механизмы ингибирования тромбоцитов реализуются через системы циклических нуклеотидов cAMP и cGMP, активирующие соответствующие протеинкиназы A и G (PKA и PKG). Активность систем PKA и PKG была измерена по степени фосфорилирования субстратного белка VASP. Было установлено, что все исследуемые агликоны (5-100 μM ; 5-20 мин) обладают антитромбоцитарным эффектом. Для определения, через какую из систем циклических нуклеотидов: cAMP/PKA или cGMP/PKG реализуется данный эффект, были использованы ингибиторы аденилатциклазы (AC) - SQ22536 и гуанилатциклазы (GC) - ODQ. В ходе экспериментов было определено, что антитромбоцитарный эффект агликонов не связан с непосредственной активацией AC и GC. Следовательно, ингибирование активации тромбоцитов может быть связано либо с активацией PKA или PKG, либо с ингибированием фосфодиэстеразы. Для того чтобы установить точные механизмы воздействия данных агликонов на тромбоциты, необходимо провести дополнительные исследования.

Таким образом, агликоны флавоноидов: кемпферол, лютеолин, кверцетин, эриодиктиол, мирицетин вызывают ингибирование активации тромбоцитов без индукции апоптоза и воздействия на жизнеспособность тромбоцитов. Молекулярные механизмы антитромбоцитарного эффекта не связаны с непосредственной активацией AC и GC.