

УДК 577.345 (075.8)

Л.В. Кухаренко¹, С.А. Чижик², Е.С. Дрозд², С.В. Сыроежкин², М.В. Гольцев¹,
Л.Г. Гелис³, Е.А. Медведева³, И.В. Лазарева³**АСМ В ДИАГНОСТИКЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ
ТРОМБОЦИТОВ**¹Белорусский государственный медицинский университет, пр-т. Дзержинского, 83,
220116, Минск, Беларусьlvk@europe.com²Институт тепло- и массообмена им. А. В. Лыкова НАН Беларуси, ул. П. Бровки, 15,
220072, Минск, Беларусьlizadr@iut.by³Республиканский научно-практический центр «Кардиология», ул. Р.Люксембург, 110,
220036, Минск, Беларусь

В последние годы атомно-силовая микроскопия (АСМ) широко используется для исследования морфофункциональных особенностей тромбоцитов, что позволяет выявить ранние этапы их внутрисосудистой активации, охарактеризовать гемостазиологический статус у лиц со стабильной стенокардией (ФК II/ III) и у лиц с нестабильным течением ИБС, а также контролировать применение фармакологических средств, влияющих на их функции. В данной работе методом АСМ визуализировались спонтанные тромбоцитарные агрегаты, определялось их количество и количество тромбоцитов в агрегатах, а так же определялись морфометрические характеристики тромбоцитов у здоровых лиц и у лиц со стабильной стенокардией.

Оценка внутрисосудистой активации тромбоцитов осуществлялась с помощью АСМ NT-206 (ОДО «Микротестмашины», Беларусь) в режиме прерывистого контакта на воздухе с использованием стандартных кремниевых кантилеверов NSC11 (MikroMasch). Исследования поверхностной морфологии тромбоцитов при больших окнах сканирования проводились на АСМ Nanoscope (R) IIIa MultiMode (Digital Instruments/Veeco) в tapping режиме на воздухе с использованием стандартных кремниевых кантилеверов NSC15/100 (NT-MDT, Россия). Алгоритмы для определения морфофункционального состояния тромбоцитов реализованы в виде компьютерной модели в пакете MatLab.

Циркулирующие в кровотоке тромбоциты при отсутствии патологических активирующих факторов интактны, практически не взаимодействуют друг с другом, с другими клетками крови и эндотелием сосудов. Интактные тромбоциты имеют вид бесцветных телец размерами 2-5 мкм дисковидной или овальной формы. На рис.1 представлено АСМ изображение тромбоцитов здорового человека при окне сканирования 35х35 мкм². Диаметр интактных тромбоцитов здоровых лиц в среднем составлял 2,5 – 3 мкм, высота варьировала от 300 нм до 500 нм.

При ишемической болезни сердца наблюдается высокая чувствительность кровяных пластинок к индукторам активации и их повышенная готовность к спонтанной агрегации в кровяном русле. На рис.2 представлено АСМ-изображение тромбоцитов пациента со стабильной стенокардией напряжения при окне сканирования

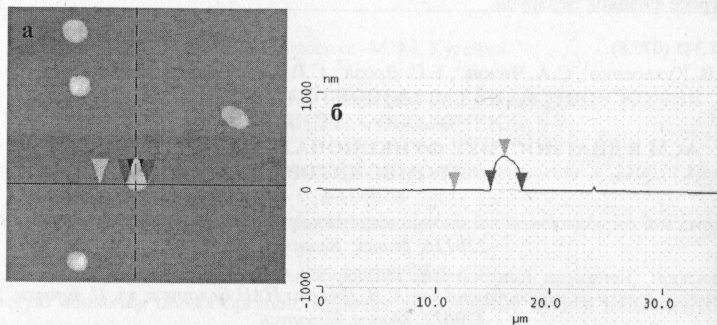


Рис.1. а - АСМ-изображение тромбоцитов здорового человека при окне сканирования $35 \times 35 \text{ мкм}^2$; б - профиль сечения для определения диаметра тромбоцита.

$45 \times 45 \text{ мкм}^2$. Активированные тромбоциты из дисковидной формы превращаются в сферические с многочисленными короткими и длинными выпячиваниями мембраны. Высота кровяных пластинок изменяется от 300 нм до 1,9 мкм. Визуализировано образование длинных узких филоподий тромбоцитов. Ширина филоподий составляет от 30 нм до 390 нм, их длина варьирует от 250 нм до 3,2 мкм. На данном АСМ изображении также визуализированы небольшие тромбоцитарные агрегаты. Количество тромбоцитов в агрегатах изменяется от 2 до 5.

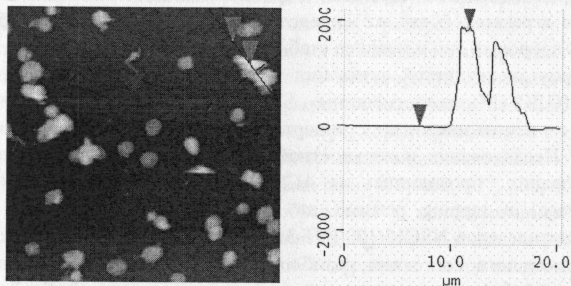


Рис.2. а - АСМ-изображение тромбоцитов пациента со стабильной стенокардией напряжения при окне сканирования $45 \times 45 \text{ мкм}^2$; б - профиль сечения для определения диаметра тромбоцита.

Таким образом, методом АСМ показано, что у лиц со стабильной стенокардией напряжения наблюдается увеличение числа дискоэритроцитов и сфероэритроцитов. Возрастание внутрисудистой активации тромбоцитов способствует образованию спонтанных тромбоцитарных агрегатов циркулирующих в кровотоке. Метод АСМ позволяет дифференцировать внутрисудистую активацию кровяных пластинок в кровяном русле и может быть использован в качестве диагностического.