

**ОСОБЕННОСТИ БИОЭНЕРГЕТИКИ ТРОМБОЦИТОВ УСЛОВНО  
ЗДОРОВЫХ ДОНОРОВ****В.Т. Чещевик<sup>1</sup>, Н.Г. Чещевик<sup>1</sup>, О.К. Цвирко<sup>2</sup>**<sup>1</sup>*Полесский государственный университет, Пинск*<sup>2</sup>*Филиал «Станция переливания крови» УЗ «Пинская центральная поликлиника», Пинск*

Изменения функционального состояния митохондрий тканей в настоящее время признаны отличительной чертой многих заболеваний инфекционной и неинфекционной природы в острой и хронической формах и представляют собой новый потенциальный путь терапии. Разработка стратегий оценки функционального состояния митохондрий в тканях человека в норме и при патологических состояниях в настоящее время является интенсивной областью трансляционных исследований. Митохондрии занимают центральное место в биоэнергетике клетки вследствие их способности производить значительное количество АТФ путем окислительного фосфорилирования, а также участия в реализации ряда других функций, а именно генерации активных форм кислорода в электрон-транспортной цепи, регуляция кальциевого гомеостаза клетки, клеточной сигнализации, апоптозе [1].

Функциональное состояние митохондрий и биоэнергетика хорошо изучены в тканях и органах, которые имеют высокую потребность в энергии и содержат большое количество митохондрий, таких как мозг, сердце, печень и скелетные мышцы. В то же время, значение и регуляторное влияние этих органелл в функционировании циркулирующих клеток крови только сравнительно недавно начали исследоваться. В частности, было показано, что изменения митохондриальной активности в стволовых клетках крови определяет направления их дифференциации. Также митохондрии играют активную роль в зрелых клетках крови. В частности, увеличение продукции митохондриями активных форм кислорода и апоптоз приводят к активации тромбоцитов и сенсibilизации дендритных клеток, увеличение потребления митохондриями кислорода связано с активацией лимфоцитов [2].

В настоящее время растет интерес к использованию циркулирующих клеток крови как биомаркеров (или в качестве инструмента) для понимания митохондриальных механизмов, лежащих в основе различных процессов в организме, и их трансляционных применений для персонализированной и митохондриальной медицины. С одной стороны, это связано с тем, что все большее количество исследований показывают, что вызванные патологическим процессом изменения в биоэнергетике и митохондриальной активности могут происходить системно, затрагивая весь организм. Например, у астматиков повышенное окислительное фосфорилирование наблюдается не только в клетках дыхательных путей, но и в циркулирующих тромбоцитах [3]. С другой стороны, существует множество ограничений для измерения функции митохондрий человека в тканях и органах. Самыми существенными из них являются отсутствие доступа к достаточному количеству интактной жизнеспособной ткани и применение высоко инвазивных методов (биопсии) для получения образцов, либо необходимость наличия специализированного дорогостоящего оборудования и высокой квалификации персонала для исследования и анализа метаболизма клеток и тканей при использовании таких методов как спектроскопия ближнего инфракрасного диапазона, фосфорно-магнитно-резонансная спектроскопия, неинвазивная позитронно-эмиссионная томография.

Использование клеток крови в качестве биомаркеров функционального состояния митохондрий органов и тканей в клинике для диагностики заболеваний и прогнозирования их развития обусловлено уникальным свойством крови, а именно путем перфузии взаимодействовать с каждой системой органов и подвергаться воздействию, как системных факторов окружающей среды, так и факторов, выделяемых другими органами. Многие исследования в настоящее время демонстрируют, что клетки периферической крови действительно могут отражать состояние митохондриальной биоэнергетики в различных клетках и тканях организма в нормальных условиях и при патогенезе [4]. Преимуществом использования тромбоцитов в качестве биомаркера клеточных энергетических процессов органов и тканей обусловлено тем, что данные клетки лишены ядра, представляя собой фрагменты цитоплазмы, и содержат всего лишь 1-3 митохондрий на клетку. Также тромбоциты являются наиболее многочисленной фракцией форменных элементов крови, которые содержат митохондрии. Данный факт в совокупности с тем, что они имеют наиболее короткий период жизни и малые размеры, обеспечивает потенциальную возможность применения тромбоци-

тов для более адекватного отражения динамики системных митохондриальных и клеточных энергетических процессов в организме в норме и при патологических состояниях.

В связи с выше изложенным целью данной работы явилось исследовать структуру потребления кислорода и выявить факторы, оказывающие влияние на параметры функционального состояния митохондрий тромбоцитов условно здоровых доноров.

Для выделения тромбоцитов использовали кровь, полученную на станции переливания крови УЗ «Пинская центральная поликлиника» в г. Пинск. Забор крови для получения тромбоцитов осуществляли с использованием вакуумных пробирок, содержащих в качестве антикоагулянта  $K_2$ -ЭДТА, а для исследования биохимических показателей сыворотки крови использовали вакуумные пробирки с кремнеземом в качестве активатора свертывания крови. Получение плазмы и тромбоцитов из плазмы осуществляли в результате центрифугирования при 400g и 1100g, соответственно, в течение 15 мин при комнатной температуре. Полученный осадок тромбоцитов ресуспендировали в обедненной (надосадочной) плазме крови до концентрации  $10^8$  клеток / мл. Концентрацию клеток в суспензии определяли путем подсчета в камере Горяева. Измерение параметров дыхательной активности тромбоцитов осуществляли полярографически. Измерение уровня глюкозы в сыворотке крови осуществляли спектрофотометрически с использованием набора для определения глюкозы (BioMaxima, Польша). Статистическую обработку и визуализацию данных осуществляли с использованием R пакета статистических программ.

В результате проведенных исследований было установлено, что в структуре потребления кислорода тромбоцитами условно здоровых доноров 38,2% приходится на дыхание тромбоцитов, связанное с синтезом АТФ, 41,6% составляет резерв дыхания, 8,6% - утечка протонов, 11,6% относится к немитохондриальным процессам потребления кислорода (рисунок 1).



Рисунок 1. – Структура потребления кислорода тромбоцитов условно здоровых доноров

Среди исследованных биохимических параметров крови статистически достоверную обратно пропорциональную взаимосвязь наблюдали для скорости базового дыхания и АТФ-связанного дыхания с уровнем глюкозы в плазме крови ( $r = -0,54$ ,  $p < 0,05$  и  $r = -0,57$ ,  $p < 0,05$ , соответственно) (рисунок 2).

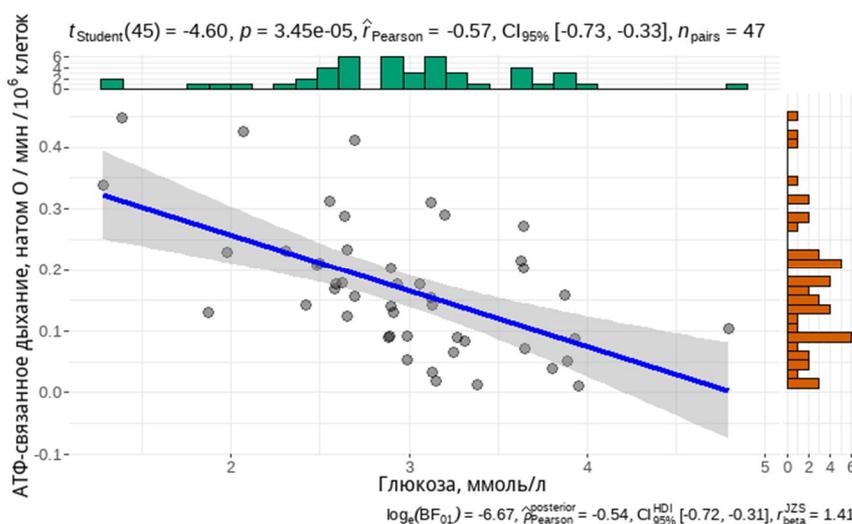


Рисунок 2. – Влияние уровня глюкозы в плазме крови на скорость АТФ-связанного дыхания тромбоцитов

При этом следует отметить, что базовое дыхание тромбоцитов обусловлено одновременным протеканием процессов АТФ-связанного дыхания, утечки протонов и немитохондриальными процессами потребления кислорода. В случае тромбоцитов значительную долю в структуре потребления кислорода составляет АТФ-связанное дыхание (рисунок 1), что обуславливает изменение скорости базового дыхания вследствие изменения именно АТФ-связанного дыхания при различных уровнях глюкозы в плазме крови условно здоровых доноров.

Таким образом, для тромбоцитов в состоянии покоя потребление кислорода за счет митохондриального процесса синтеза АТФ составляет около 38%. При этом сохраняется значительный резерв митохондриального потребления кислорода (около 42%), что, вероятно, необходимо для осуществления функциональной активности тромбоцитов в случае их активации и участия в тромбообразовании. Ингибирование глюкозой скорости АТФ-связанного дыхания тромбоцитов обусловлено переключением энергетического метаболизма тромбоцитов с окислительного фосфорилирования на гликолиз (эффект Крабтри). В связи с установленными параметрами биоэнергетики и их зависимости от биохимических показателей крови тромбоциты могут выступать в качестве перспективных биомаркеров энергетических процессов в клетках и тканях организма человека.

Исследования проведены при финансовой поддержке Министерства образования Республики Беларусь (договор № 65 от 05.05.2021) в рамках ГПНИ «Биотехнологии-2» (Рег. № НИР 20212457).

#### **Список использованных источников**

1. Chandel, N.S. Mitochondria as signaling organelles / N.S. Chandel // BMC Biol. – 2014. – Vol. 12. – P. 34-41.
2. Waters, L.R., Initial B Cell Activation Induces Metabolic Reprogramming and Mitochondrial Remodeling / L.R. Waters et al. // iScience. – 2018. – Vol. 5. – P. 99-109.
3. Winnica, D. Bioenergetic Differences in the Airway Epithelium of Lean *Versus* Obese Asthmatics Are Driven by Nitric Oxide and Reflected in Circulating Platelets / D. Winnica et al. // Antioxidants Redox Signal. – 2019. – Vol. 31, № 10. – P. 673–686.
4. Braganza, A. Blood-based bioenergetics: An emerging translational and clinical tool / A. Braganza et al. // Molecular Aspects of Medicine. – 2020. – Vol. 71. – P. 835-847.