

УДК 616.71-007.234-092.9:616.155.2

ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ТРОМБОЦИТОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ МОДЕЛИРОВАНИИ НАРУШЕНИЙ СОСТОЯНИЯ КОСТНОЙ ТКАНИ

Проф. А. Н. Хвисяук, канд. биол. наук С. Б. Павлов, канд. биол. наук
А. В. Гончарова, Н. Г. Семко, М. В. Кумечко, Т. А. Блажко, Л. В. Черных

Харьковская медицинская академия последипломного образования

Приведены данные о функциональной активности тромбоцитов у крыс при моделировании нарушений костной ткани в отставленном периоде. Агрегационная активность тромбоцитов не превышает выраженных изменений ни в одной из двух экспериментальных групп.

ОСОБЛИВОСТІ ФУНКЦІОНАЛЬНОЇ АКТИВНОСТІ ТРОМБОЦИТІВ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ МОДЕЛЮВАННІ ПОРУШЕНЬ СТАНУ КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ

Проф. О. М. Хвисяук, канд. біол. наук С. Б. Павлов,
канд. біол. наук А. В. Гончарова, Н. Г. Семко, М. В. Кумечко,
Т. О. Блажко, Л. В. Черних

Наведено дані про функціональну активність тромбоцитів у щурів при моделюванні порушень кісткової тканини у відставленому періоді. Агрегаційна активність тромбоцитів не зазнає виражених змін у жодній із двох експериментальних груп.

THE FEATURES OF PLATELET FUNCTIONAL ACTIVITY IN THE EXPERIMENTAL MODELING OF BONE DISORDERS

A. N. Khvisyuk, S. B. Pavlov, A. V. Goncharova, N. G. Semko,
M. V. Kumechko, T. A. Blazhko, L. V. Chernykh

The data on platelet functional activity in a rat model of bone disorders in the delayed period are presented. Platelet aggregation does not undergo marked changes in either of the two experimental groups.

Тромбоцитарное звено системы гемостаза принимает активное участие во многих патологических процессах. Его реакция на острые процессы достаточно полно и давно изучена. Изменения же активности тромбоцитов в отставленном периоде после каких-либо воздействий в костной ткани исследованы недостаточно [1]. Например, в литературе мало данных о функциональной активности тромбоцитов при нарушениях состояния костной ткани, вызванных действиями различных агентов.

Цель работы — изучить функциональную активность тромбоцитарного звена гемостаза при экспериментальном моделировании нарушений обмена костной ткани с помощью глюкокортикоидов и на модели сочетанных воздействий.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проводилось на 3 группах белых крыс — самок в возрасте 6 месяцев массой 210 ± 30 г. Функциональную активность тромбоцитов изучали на двух моделях нарушений состояния костной ткани.

В первой экспериментальной группе (15 животных) нарушение создавали с помощью глюкокортикоида дексаметазона. Дважды в неделю в течение месяца животным вводили по 0,375 мл дексаметазона фосфата внутримышечно. Во второй экспериментальной группе (13 животных) моделирование нарушений осуществлялось путем сочетанных воздействий — иммобилизационного стресса и последующего хронического воспаления в печеночной области экспериментальных животных. Иммобилизационный стресс воссоздавали высаживанием

животных в тесные пеналы на 4 ч ежедневно в течение месяца. Хроническое воспаление печеночной области достиглось 10 инъекциями 0,5 мл желчи в область печени ежедневно. Контрольная группа составляла 6 животных. Экспериментальные манипуляции проводились в соответствии с принципами Европейской конвенции о защите позвоночных животных (Страсбург, 1986) и «Общими принципами экспериментов на животных», одобренными I Национальным конгрессом по биоэтике (Киев, 2001) [3].

Исследовались агрегационная активность тромбоцитов крови и оксипролин мочи, также проводилась морфологическая верификация изменений в костной ткани крыс.

Кровь для исследования агрегации тромбоцитов брали из сердца. Индуцированная агрегация тромбоцитов исследовалась с применением компьютеризированного анализатора агрегации тромбоцитов «SOLAR 2110» (Беларусь) по ранее описанной методике [4]. В качестве индуктора использовали аденозиндифосфат (АДФ) в концентрации 2,5, 5,0 и 10,0 мкмоль/л.

В моче определяли суммарный, свободный и связанный оксипролин [6].

Результаты исследований подвергали статистической обработке непараметрическим методом с помощью U-критерия Манна-Уитни [2].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Изучение агрегационной активности тромбоцитов у крыс с экспериментальными нарушениями состояния костной ткани в двух сериях эксперимента выявило разнонаправленные изменения функциональной активности тромбоцитов, все кривые носили одноволновой характер (рис. 1).

У животных первой экспериментальной группы (ГКС) при концентрации индуктора агрегации 2,5 мкмоль/л степень агрегации тромбоцитов, время достижения максимальной скорости агрегации и скорость агрегации почти не отличались от параметров контрольных животных (табл. 1).

При концентрациях индуктора агрегации 5 мкмоль/л и 10 мкмоль/л у животных первой группы все параметры агрегации имели тенденцию к снижению в сравнении с таковыми у контрольных животных (табл. 1).

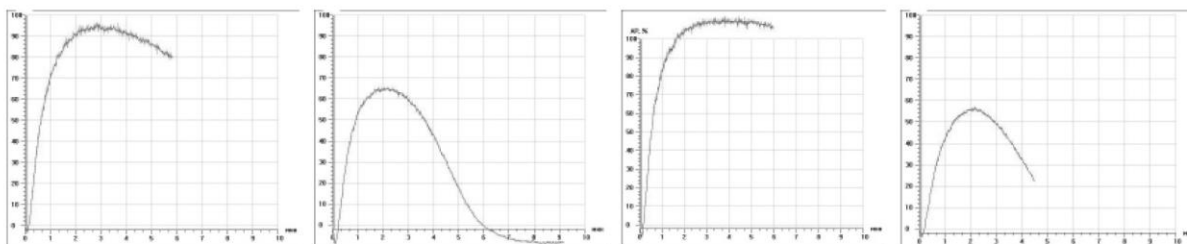


Рис. 1. Виды агрегационных кривых у экспериментальных животных

Таблица 1

Параметры агрегации у крыс с экспериментальным глюкокортикоидным (ГКС) нарушением состояния костной ткани

Концентрация АДФ, мкмоль/л	Группы животных	Параметры агрегации		
		Степень агрегации, %	Время достижения максимальной скорости агрегации, с	Скорость агрегации, %/мин
2,5	Контроль	45,1 ± 10,55	85,2 ± 7,78	59,12 ± 21,49
2,5	ГКС	41,58 ± 8,73	81,9 ± 9,29	66,22 ± 9,44
5	Контроль	80,4 ± 9,25	132,66 ± 8,08	107,4 ± 10,41
5	ГКС	61,61 ± 7,66	105,6 ± 10,69	87,06 ± 7,57
10	Контроль	90,5 ± 6,22	202,5 ± 4,66	108,5 ± 11,25
10	ГКС	85,37 ± 8,99	178,36 ± 18,71	91,41 ± 9,77

Изучение показателей агрегации у крыс после иммобилизационного стресса и хронического воспаления (ИС + В) при концентрации АДФ 2,5 мкмоль/л выявило тенденцию к увеличению таких параметров функциональной активности тромбоцитов, как степень и скорость агрегации (табл. 2).

Параметры агрегации у крыс второй экспериментальной группы при концентрации АДФ 5 мкмоль/л почти не отличались от показателей контрольных животных. Такая же ситуация наблюдалась и при исследовании этих показателей при концентрации 10 мкмоль/л (табл. 2).

При исследовании уровня оксипролина мочи у крыс с глюкокортикоидной моделью нарушения состояния костной ткани (ГКС) уровень всех трех фракций оксипролина — суммарного, свободного и связанного — оказался сниженным по сравнению с таковым у крыс контрольной группы ($p < 0,05$) (рис. 2).

У крыс с моделированием нарушения состояния костной ткани путем создания иммобилизационного стресса и последующего хронического воспаления уровень свободного оксипролина в моче уменьшился относительно контроля. Уровень суммарного и связанного оксипролина не изменился.

При морфологической верификации были выявлены деструктивные изменения в костной ткани экспериментальных животных с дексаметазоновой моделью. В группе крыс с моделью сочетанных воздействий изменения в костной ткани были менее заметны.

Несмотря на свойство глюкокортикоидов снижать агрегацию тромбоцитов, в первой экспериментальной группе при низкой концентрации индуктора параметры агрегации не изменились. При высоких же концентрациях АДФ агрегация действительно снижалась. Снижение уровня оксипролина после

Таблица 2

Параметры агрегации у крыс с экспериментальным нарушением состояния костной ткани после иммобилизационного стресса и хронического воспаления

Концентрация АДФ, мкмоль/л	Группы животных	Параметры агрегации		
		Степень агрегации, %	Время достижения максимальной скорости агрегации, с	Скорость агрегации, %/мин
2,5	Контроль	45,1 ± 10,55	85,2 ± 7,78	59,12 ± 21,49
2,5	ИС+В	62,53 ± 6,25	87,15 ± 6,70	99,55 ± 9,90
5	Контроль	80,4 ± 9,25	132,66 ± 8,08	107,4 ± 10,41
5	ИС+В	74,82 ± 4,37	130,57 ± 6,67	100,8 ± 7,34
10	Контроль	90,5 ± 6,22	202,5 ± 4,66	108,5 ± 11,25
10	ИС+В	81,4 ± 6,12	200 ± 10,01	101,8 ± 10,17

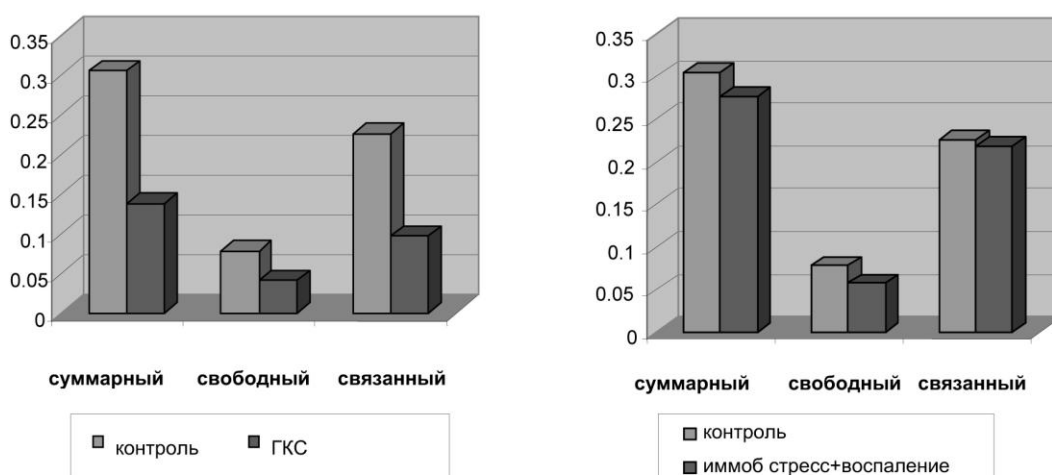


Рис. 2. Уровень фракций оксипролина у крыс с нарушением состояния костной ткани (мг/сут)

воздействия дексаметазона свидетельствует о замедлении процессов синтеза и распада соединительной ткани в целом и костной ткани в частности. Это обусловлено действием глюкокортикоидов, угнетающих активность клеток, синтезирующих коллаген. В результате, у крыс первой экспериментальной группы адаптационные резервы оказываются исчерпанными, и повреждение начинает проявляться на системном уровне.

В группе с моделью стресса и воспаления при низкой концентрации индуктора наблюдалась тенденция к повышению агрегации. При высоких концентрациях АДФ изменения агрегации не были выявлены. Уменьшение уровня свободного оксипролина при этом может свидетельствовать о замедлении распада коллагена.

Механизмы создания первой и второй моделей можно считать сходными. По сути, во второй модели у животных также вызывалось увеличение уровня глюкокортикоидов в организме. Но осуществлялось это не прямым введением веществ, а путем создания ситуации, приводящей к эмоциональному напряжению и активизации функции коры надпочечников [5]. Величина воздействия синтетических глюкокортикоидов из-за большей

дозы оказывается более существенной. Во второй модели наблюдаются не столь глубокие изменения, и механизмы адаптивных реакций организма справляются с действием повреждающих факторов, хотя изменения уровня оксипролина и морфологическая картина свидетельствуют о нарушениях обмена в костной ткани. Возможно, полученные результаты являются отражением складывающихся разнонаправленных эффектов глюкокортикоидов, как экзо-, так и эндогенных.

ВЫВОДЫ

У крыс в условиях отставленного периода после начала воздействий агрегационная активность тромбоцитов не претерпевает выраженных изменений ни в одной из двух экспериментальных групп, несмотря на то, что показатели обмена костной ткани и состояние морфологических структур свидетельствуют о нарушениях в ней.

Полученные результаты могут быть использованы *в перспективе* для разработки и усовершенствования новых методов профилактики и лечения остеопороза, а также сочетанных с ним патологий печени и желчевыводящих путей.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Аранович А. М. Тромбоцитарный гемостаз при дистракционном остеосинтезе / А. М. Аранович, Е. В. Трофимова, С. Л. Сашенков // Известия Челябинского научного центра. — 2005. — Вып. 4 (30). — С. 208–211.
2. Гублер Е. В. Вычислительные методы анализа и распознавания патологических процессов / Е. В. Гублер. — М.: Медицина, 1978. — 294 с.
3. Общие этические принципы экспериментов на животных: материалы I Национального конгресса по биоэтике. — К.: НАНУ, 2001. — 16 с.
4. Павлов С. Б. Морфофункциональные изменения соединительной ткани у крыс с экспериментальной патологией панкреатодуоденальной области / С. Б. Павлов, А. В. Гончарова, О. Б. Литвинова [и др.] // Проблеми безперервної медичної освіти та науки. — 2011. — № 2. — С. 62–65.
5. Пат. 2384891 Российская Федерация, МПК С2, G09В23/28 (2006.01). Способ стимуляции костной резорбции у лабораторных животных / В. Г. Подковкин, Д. Г. Иванов; заявитель и патентообладатель В. Г. Подковкин — № 2008118969/14; заявл. 13.05.2008; опубл. 20.11.2009, Бюл. № 8.
6. Шараев П. Н. Определение свободного и связанного оксипролина в моче / П. Н. Шараев, Е. А. Ботникова, В. М. Иванова [и др.] // Лаб. дело. — 1990. — № 12. — С. 23–25.