

ОСОБЕННОСТИ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СОСТОЯНИЯ КОСТНОЙ ТКАНИ И ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ТРОМБОЦИТАРНОГО ЗВЕНА ГЕМОСТАЗА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ МОДЕЛИРОВАНИИ НАРУШЕНИЙ КОСТНОЙ ТКАНИ

Хвисьюк А.Н., Павлов С.Б., Гончарова А.В., Кумечко М.В., Семко Н.Г.

Харьковская медицинская академия последипломного образования

В настоящее время объектом повышенного внимания исследователей становится анализ взаимодействия физиологических систем в условиях патологии. Так, изучается проблема общих патогенетических механизмов сердечно-сосудистых заболеваний и нарушений в костной ткани. Появились исследования по изучению особенностей коморбидного течения атеросклероза и инволютивного остеопороза [1, 2]. Известно утяжеление прогноза ишемической болезни сердца благодаря гиперкоагуляционным сдвигам [3]. Была выявлена взаимосвязь изменений кальциевого гомеостаза, функциональной активности тромбоцитов и липидного обмена с обусловленными возрастом процессами потери костной массы у пожилых пациентов. Значимым фактором риска неблагоприятного протекания и прогноза ишемической болезни сердца у них становится повышение агрегационной способности тромбоцитов при существенном снижении минеральной плотности костной ткани. В связи с этим АДФ-индуцированная агрегация тромбоцитов рассматривается авторами исследования как параметр, наиболее зависимый от уровня минеральной плотности костной ткани, и поэтому рекомендуется ими для оценки состояния сосудисто-тромбоцитарного звена гемостаза у этой группы пациентов [4].

Интерес представляет изучение изменений описанных систем в более молодом возрастном периоде, а также изменений, вызванных воздействием различных факторов, например, применением таких препаратов, как глюкокортикоиды.

Цель исследования – выявить особенности показателей состояния костной ткани и функционирования тромбоцитарно-

го звена гемостаза при экспериментальном моделировании нарушений обмена костной ткани с помощью глюкокортикоидов.

Материалы и методы. Исследование проводилось на 2 группах белых крыс самок в возрасте 6 месяцев с массой 210 ± 30 г. Контрольная группа составляла 6 животных, группа с моделью нарушения ремоделирования костной ткани – 15 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) [5].

Экспериментальное нарушение ремоделирования костной ткани создавали путем введения 0,375 мл дексаметазона фосфата внутримышечно дважды в неделю в течение месяца.

Определение суммарного, свободного и связанного оксипролина в моче проводили по методике П.Н. Шараева [6].

Кровь для исследования агрегации тромбоцитов брали из сердца.

Индукцированная агрегация тромбоцитов исследовалась с применением компьютеризированного анализатора агрегации тромбоцитов «SOLAR-2110» (Беларусь). В качестве индуктора использовали аденозиндифосфат (АДФ) в концентрации 2,5, 5,0 и 10,0 мкмоль/л. Запись агрегатограмм проводилась при 37°C в течение 10 минут. Последующий анализ агрегационной кривой включал в себя оценку типа агрегатограммы и определение следующих показателей: 1) степени агрегации – максимального % светопропускания плазмы; 2) времени достижения максимальной скорости агрегации – времени достижения макси-

мального % светопропускания; 3) скорости агрегации, рассчитываемой в течение 30 секунд после начала агрегации тромбоцитов.

Статистическая обработка результатов исследований проводилась непараметрическим методом с помощью U-критерия Манна-Уитни [7].

Результаты и их обсуждение. Исследование уровня оксипролина мочи у крыс при создании глюкокортикоидной модели нарушения состояния костной ткани выявило изменения всех трех фракций оксипролина – суммарного, свободного и связанного. После создания глюкокортикоидного нарушения состояния костной ткани у крыс произошло снижение как суммарного, так и свободного, а также связанного оксипролина ($p < 0,05$) (рис. 1).

Изучение функциональной активности тромбоцитов у крыс с экспериментальным нарушением состояния костной ткани выявило признаки начала изменений функций тромбоцитарного звена под влиянием глюкокортикоидов.

При концентрации индуктора агрегации 2,5 мкмоль/л степень агрегации тромбоцитов, время достижения максимальной скорости агрегации и скорость агрегации у животных почти не отличались от параметров контрольных животных (табл. 1).

Таблица 1. Параметры агрегации у крыс с экспериментальным глюкокортикоидным (ГКС) нарушением состояния костной ткани при концентрации АДФ 2,5 мкмоль/л

Группы животных	Параметры агрегации		
	Степень агрегации, %	Время достижения максимальной скорости агрегации, сек	Скорость агрегации, %/мин
Контроль	45,1±10,55	85,2±7,78	59,12±21,49
ГКС	41,58±8,73	81,9±9,29	66,22±9,44

Таблица 2. Параметры агрегации у крыс с экспериментальным глюкокортикоидным (ГКС) нарушением состояния костной ткани при концентрации АДФ 5 мкмоль/л

Группы животных	Параметры агрегации		
	Степень агрегации, %	Время достижения максимальной скорости агрегации, сек	Скорость агрегации, %/мин
Контроль	80,4±9,25	132,66±8,08	107,4±10,41
ГКС	61,61±7,66	105,6±10,69	87,06±7,57

Таблица 3. Параметры агрегации у крыс с экспериментальным глюкокортикоидным (ГКС) нарушением состояния костной ткани при концентрации АДФ 10 мкмоль/л

Группы животных	Параметры агрегации		
	Степень агрегации, %	Время достижения максимальной скорости агрегации, сек	Скорость агрегации, %/мин
Контроль	90,5±6,22	202,5±4,66	108,5±11,25
ГКС	85,37±8,99	178,36±18,71	91,41±9,77

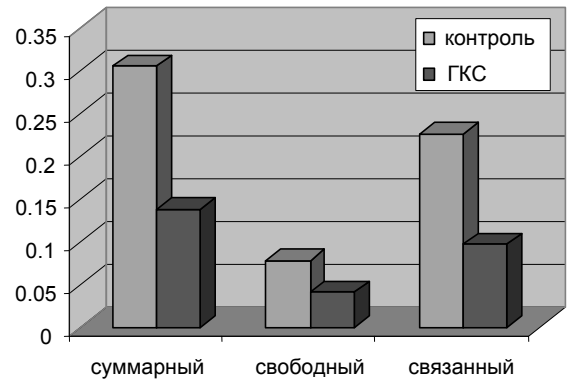


Рис. 1. Уровень фракций оксипролина у крыс при глюкокортикоидной модели нарушения состояния костной ткани (мг/сут).

При концентрации индуктора агрегации 5 мкмоль/л у крыс с нарушением состояния костной ткани все параметры агрегации имели тенденцию к снижению в сравнении с таковыми у контрольных животных (табл. 2).

Изучение параметров функциональной активности тромбоцитов при концентрации индуктора агрегации 10 мкмоль/л у животных с нарушенным состоянием костной ткани показало, что все параметры агрегации также имели тенденцию к снижению в сравнении с показателями контрольных животных (табл. 3).

Морфологическая верификация выявила деструктивные изменения в костной ткани экспериментальных животных (рис.2 (а, б), 3 (а, б)).

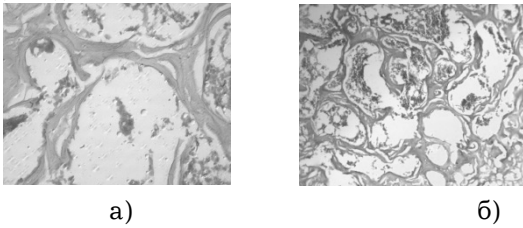


Рис. 2. Тело позвонка экспериментальной крысы. Гематоксилин и эозин.

Примечания: а) Ок.10, об. 40; б) Ок.10, об. 20.

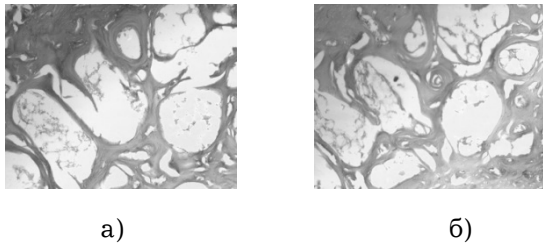


Рис. 3. Фрагмент бедренной кости экспериментальной крысы. Гематоксилин и эозин. Ок.10, об. 40.

Таким образом, под воздействием глюкокортикоида в соединительной ткани и тромбоцитарном звене гемостаза экспериментальных животных отмечены первичные изменения. Уровень оксипролина является отражением метаболизма соединительной ткани [8]. Возможно, снижение этого уровня свидетельствовало о замедлении обменных процессов в ней. Наибольшее снижение концентрации наблюдалось у белковосвязанного оксипролина, что отражало снижение процессов синтеза. Уменьшение параметра свободного оксипролина означало замедление и процессов распада коллагена соединительной ткани, вероятно, в связи с истощившимся его количеством. Морфологическая картина костной ткани подтверждает это предположение. Кроме того, прослеживалась тенденция снижения функциональной активности тромбоцитов под воздействием глю-

кокортикоидов, что усиливалось благодаря общности и взаимосвязанности процессов, происходящих в крови и соединительной ткани. Однако, четкой картины изменения этого показателя на данном этапе прослежено не было. Вероятно, углубление нарушений может наступить на более поздних сроках воздействия.

Выводы. Временные рамки исследования позволили заметить нарушения протекания биохимических процессов в соединительной ткани, в частности в кости, и даже деструктивные микроскопические процессы. Однако, на данном временном интервале нарушения функциональной активности тромбоцитарного звена гемостаза только начали проявляться.

Литература

1. *Marini F.* Genetic determinants of osteoporosis: common bases to cardiovascular diseases? / F. Marini, M.L. Brandi // *Int. J. Hypertens.* – 2010. – Vol. 25.
2. *Майчук Е.* Развитие атеросклероза и остеопороза у женщин / Е.Ю. Майчук, С.В. Юренева, Т.В. Митрохина и др. // *Проблемы женского здоровья.* – 2010. – Т.5, №3. – С. 51-55.
3. *Шехтман А.* Изменения некоторых показателей системы гемостаза в зависимости от выраженности потери костной массы у пожилых пациентов / А.Г. Шехтман, С.Н. Брылякова // *Геронтология и гериатрия.* – Выпуск 3. – М., 2004. – С. 167-169.
4. *Захарова Н.* Агрегационная функция тромбоцитов у лиц старших возрастных групп с ишемической болезнью сердца на фоне старческого остеопороза / Н.О. Захарова, О.Г. Яковлев, С.Н. Брылякова // *Клиническая геронтология.* – 2003. – Т.9, №4. – С. 23-25.
5. *Общие этические принципы экспериментов на животных: Материалы I Национального конгресса по биоэтике.* – К.: НАНУ, 2001. – 16с.
6. *Шараев П.* 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.
7. *Гублер Е.В.* Вычислительные методы анализа и распознавания патологических процессов / Е.В. Гублер. – М.: Медицина, 1978. – 294 с.
8. *Мазуров В.* Биохимия коллагеновых белков / В.И. Мазуров – М., 1974. – 220с.