

Состояние тромбоцитарных функций у биологических объектов в Центральном Черноземье России с медицинских и биологических позиций.

Медведев И.Н., Наумов М.М., Павлов М.Н.

Курский институт социального образования (филиал) РГСУ,
Курская государственная с/х академия,
Курский НИИ Агропроизводства,
Курск, Россия

Первичный гемостаз выполняет ряд функций, важнейшей из которых является адгезия и агрегация кровяных пластинок к поврежденному участку сосуда с последующей остановкой кровотечения. От активности тромбоцитов во многом зависит скорость нормального протекания всего первичного гемостаза и возможность развития патологических процессов – атеросклероза, ишемии внутренних органов, тромбозов различных локализаций, состояние микроциркуляции и др. Агрегационная способность тромбоцитов (АТ) под действием различных индукторов и их внутрисосудистая активность (ВАТ) может зависеть от многих условий, в т.ч. от особенностей региона проживания. Проведение исследований тромбоцитарного гемостаза у различных групп живых существ с медицинских и биологических позиций требует определения нормативных показателей тромбоцитарного гемостаза у здоровых жителей г. Курска и новорожденных телят.

Цель работы: определить некоторые параметры тромбоцитарного гемостаза у здоровых людей и новорожденных телят.

С учетом цели работы обследовано в летне-осенний период 21 здоровый человек и 23 новорожденных теленка. На момент осмотра не выявлено отклонений в объективном статусе людей и животных. В анамнезе существенных заболеваний не отмечено. Лабораторные и инструментальные методы исследования не выявили отклонений от общепринятой нормы.

Оценивали следующие параметры. Активность перекисного окисления липидов (ПОЛ) плазмы определяли по содержанию ТБК-активных продуктов набором фирмы ООО «Агат-Мед», ацилгидроперекисей (АГП) [2] и антиокислительному потенциалу жидкой части крови [1]. Внутротромбоцитарное ПОЛ оценили по концентрации базального и стимулированного тромбином уровня малонового диальдегида (МДА) в реакции восстановления тиобарбитуровой кислоты [9], в модификации [2]. Внутритромбоцитарную антиоксидантную систему характеризовали активность каталазы и супероксиддисмутазы (СОД) по [7]. Для косвенной оценки обмена арахидоновой кислоты в тромбоцитах, а также выявления уровня активности в них циклооксигеназы и тромбоксансинтетазы использованы 3 пробы переноса по методу Ермолаевой Т.А. и соавт. (1992) с регистрацией агрегации тромбоцитов (АТ) на ФЕКе [5]. Производили подсчет количества тромбоцитов в капиллярной крови в камере Горяева. Агрегационная способность тромбоцитов исследовалась визуальным микрометодом [3] по Шитиковой А.С. (1999) с использованием в качестве индукторов АДФ ($0,5 \times 10^{-4}$ М.), коллагена (разведение 1:2 основной суспензии), тромбина (0,125 ед/мл.), ристомицина (0,8 мг/мл.), адреналина (5×10^{-6} М.) и перекиси водорода ($7,3 \times 10^{-3}$ М.). Внутрисосудистую активность тромбоцитов (ВАТ) оценивали с фазовым контрастом по Шитиковой А.С. (1997). Статистическая обработка полученных результатов проведена с использованием t-критерия Стьюдента.

Концентрация ТБК-активных продуктов в плазме здоровых людей составила $3,50 \pm 0,03$ мкмоль/л., у телят – $3,92 \pm 0,06$ мкмоль/л. Уровень МДА в тромбоцитах составлял у людей $0,66 \pm 0,003$ нмоль/ 10^9 тр., у телят – $0,89 \pm 0,02$ нмоль/ 10^9 тр. Уровень стимулированного тромбином МДА тромбоцитов у людей составлял $6,38 \pm 0,04$ нмоль/ 10^9 тр. и его выделение $5,79 \pm 0,05$ номоль/ 10^9 тр. были ниже аналогичных показателей у животных ($8,01 \pm 0,02$ нмоль/ 10^9 тр. и $7,12 \pm 0,05$ нмоль/ 10^9 тр., соответственно). Содержание АГП в плазме людей составило $1,44 \pm 0,006$ Д₂₃₃/1 мл., у животных $1,92 \pm 0,02$ Д₂₃₃/1 мл. В тромбоцитах телят содержание АГП $2,87 \pm 0,04$ Д₂₃₃/1 тр. также достоверно превышало аналогичный показатель у людей $2,13 \pm 0,01$ Д₂₃₃/1 тр.

Уровень обмена в тромбоцитах арахидоновой кислоты определял состояние тромбоксанообразования. В простой пробе переноса косвенно оценивался уровень тромбоксана в кровяных пластинках, составляющий у людей – $35,7 \pm 0,13\%$, у животных $39,2 \pm 0,02\%$. Активность циклооксигеназы, выявленной по восстановлению АТ в коллаген-аспириновой пробе, у животных составляла $78,4 \pm 0,19\%$ и тромбоксансинтетазы, определенной по восстановлению АТ в коллаген-

имидазольной пробе – $63,8 \pm 0,17\%$. У здоровых лиц аналогичные показатели составили $67,9 \pm 0,13$ и $57,4 \pm 0,17\%$, соответственно. Количество тромбоцитов в крови у людей и животных было в пределах нормы.

Наиболее активным индуктором при исследовании АТ на стекле у здоровых лиц оказался коллаген ($33,0 \pm 0,13$ с.). За ним следовали АДФ ($42,0 \pm 0,40$ с.), ристомицин ($45,0 \pm 0,30$ с.) и H_2O_2 ($47,0 \pm 0,35$ с.). Поздняя АТ отмечена под действием тромбина ($55,0 \pm 0,40$ с.) и адреналина ($94,0 \pm 0,37$ с.).

Содержание интактных форм тромбоцитов - дискоцитов составило $84,0 \pm 0,10\%$. Количество тромбоцитов, находящихся в начальной фазе активации – диско-эхиноцитов достигало $11,4 \pm 0,10\%$. Число сфероцитов, сферо-эхиноцитов и входящих в рефрактерное состояние биполярных форм тромбоцитов равнялось $2,4 \pm 0,03\%$, $1,8 \pm 0,04\%$ и $0,4 \pm 0,01\%$, соответственно. Сумма активных форм тромбоцитов у здоровых жителей г. Курска составила $16,0 \pm 0,10\%$. Установлено, что в их крови циркулирует $3,2 \pm 0,015$ малых агрегатов и $0,16 \pm 0,002$ больших агрегатов кровяных пластинок на 100 свободных тромбоцитов с вовлеченными в них $6,6 \pm 0,10\%$ тромбоцитов от общего числа.

Наиболее активным индуктором при исследовании АТ на стекле у здоровых телят оказался коллаген ($30,0 \pm 0,12$ с.). За ним по активности следовали АДФ ($39,0 \pm 0,28$ с.) и ристомицин ($41,0 \pm 0,26$ с.). Еще менее активными были H_2O_2 ($43,4 \pm 0,03$ с.) и адреналин ($97,0 \pm 0,45$ с.).

Содержание интактных форм тромбоцитов – дискоцитов в кровотоке телят составило $82,0 \pm 0,16\%$. Количество тромбоцитов, находящихся в начальной фазе активации – диско-эхиноцитов достигало $10,3 \pm 0,10\%$. Число сфероцитов, сферо-эхиноцитов и входящих в рефрактерное состояние биполярных форм тромбоцитов равнялась $4,6 \pm 0,6\%$, $2,6 \pm 0,02\%$ и $0,5 \pm 0,04\%$, соответственно. Сумма активных форм тромбоцитов у здоровых телят составила $18,0 \pm 0,12\%$. Установлено, что в их крови циркулирует $3,6 \pm 0,04$ малых агрегатов и $0,12 \pm 0,01$ больших агрегатов кровяных пластинок на 100 свободных тромбоцитов с вовлеченными в них $5,0 \pm 0,2\%$ тромбоцитов от общего числа.

Полученные параметры тромбоцитарного гемостаза могут считаться нормативными, т.к. получены в тщательно подобранных однородных группах здоровых людей и животных и в последующих исследованиях могут быть использованы как контрольные показатели.

Более высокий уровень ПОЛ в плазме и тромбоцитах животных обуславливает более высокую агрегационную активность тромбоцитов *in vivo*. Возможными механизмами этого усиления можно считать активизацию обмена арахидоновой кислоты с повышением в них тромбоксанообразования, зарегистрированную в пробах переноса и повышение концентрации участвующего в процессе агрегации фактора Виллебранда, косвенно оцененной по ускорению АТ с ристомицином. Активное тромбоксанообразование требует у телят повышение простаглицлиногенерации для поддержания баланса про- и антиагрегантных веществ в кровотоке. Исследование ВАТ позволяет приблизиться к пониманию реальных условий кровотока у людей и животных и состояния у них микроциркуляции.

Список литературы.

1. Волчегорский И.А., Долгушин И.И., Колесников О.Л., Цейликман В.Э. Экспериментальное моделирование и лабораторная оценка адаптивных реакций организма. Челябинск. 2000.-167с.
2. Гаврилов В.Б., Мишкорудная М.И. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови // Лабор. Дело. 1983.-№3.-с.33-36.
3. Гемостаз. Физиологические механизмы, принципы диагностики основных форм геморрагических заболеваний. Петрищев Н.Н., Папаян Л.П. (ред.) СПб.: 1999.-117с.
4. Ермолаева Т.А., Головина О.Г., Морозова Т.В. и др. Программа клинико-лабораторного исследования больных тромбоцитопатиями. СПб, 1992.-25с.
5. Захария Е.А., Кипах М.В. Упрощенный способ определения агрегации и дезагрегации тромбоцитов. Лабораторное дело. 1989.-№1.- с.36-38.
6. Кубатиев А.А., Андреев С.В. Перекиси липидов и тромбоз. Бюлл. эксперим. биол. и мед. 1979.-№ 5.- с.414-417.
7. Чевари С., Андял Т., Штрэнгер Я. Определение антиоксидантных параметров крови и их диагностическое значение в пожилом возрасте. // Лабор. Дело. 1991.-№10.- с.9-13.
8. Шитикова А.С., Тарковская Л.Р., Каргин В.Д. Метод определения внутрисосудистой активации тромбоцитов и его значение в клинической практике. Клинич. и лабор. диагностика. 1997.-№ 2.- с. 23-35.
9. Schmith J.B., Ingerman C.M., Silver M.J. Malondialdehyde formation as an indicator of prostaglandin, production by human platelet J.Lab. Clin. Med.1976.-Vol. 88.-№1.-p.167-172.