

Ostapets M. O., Shevtsov I. I., Bereznyakova M. E., Karabut L. V. Вплив сухого екстракту з трави герані болотної на показники системи гемостазу = The effect of dry extract of *geranium palustre* herb on indicators of gemostasis. Journal of Education, Health and Sport. 2015;5(10):244-250. ISSN 2391-8306. DOI <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.32828>
<http://ojs.ukw.edu.pl/index.php/johs/article/view/2015%3B5%2810%29%3A244-250>
<https://pbn.nauka.gov.pl/works/663165>
Formerly Journal of Health Sciences. ISSN 1429-9623 / 2300-665X. Archives 2011–2014
<http://journal.rsw.edu.pl/index.php/JHS/issue/archive>

Deklaracja.

Specyfika i zawartość merytoryczna czasopisma nie ulega zmianie.

Zgodnie z informacją MNIŚW z dnia 2 czerwca 2014 r., że w roku 2014 nie będzie przeprowadzana ocena czasopism naukowych; czasopismo o zmienionym tytule otrzymuje tyle samo punktów co na wykazie czasopism naukowych z dnia 31 grudnia 2014 r.

The journal has had 5 points in Ministry of Science and Higher Education of Poland parametric evaluation. Part B item 1089. (31.12.2014).

© The Author (s) 2015;

This article is published with open access at Licensee Open Journal Systems of Kazimierz Wielki University in Bydgoszcz, Poland and Radom University in Radom, Poland

Open Access. This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Noncommercial License which permits any noncommercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author(s) and source are credited. This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.

This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.

The authors declare that there is no conflict of interests regarding the publication of this paper.

Received: 05.08.2015. Revised 05.09.2015. Accepted: 20.10.2015.

УДК 615.322:582.751:615.273

ВПЛИВ СУХОГО ЕКСТРАКТУ З ТРАВИ ГЕРАНІ БОЛОТНОЇ НА ПОКАЗНИКИ СИСТЕМИ ГЕМОСТАЗУ THE EFFECT OF DRY EXTRACT OF *GERANIUM PALUSTRE* HERB ON INDICATORS OF GEMOSTASIS

М. О. Остапеч, І. І. Шевцов, М. Є. Березнякова, Л. В. Карабут
M. O. Ostapets, I. I. Shevtsov, M. E. Bereznyakova, L. V. Karabut

Національний фармацевтичний університет, Харків, Україна
National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine

Abstract

The article devoted to studying the indicators of hemostasis during introduction of dry extract from *Geranium Palustre* herb. Established that the investigation extract in its composition contains the active platelet components. Into the studying parameters of coagulation hemostasis the dry extract from *Geranium Palustre* herb was showed an active effect on the activation of «internal» mechanism of blood clotting – I phase (formation of prothrombinase), moderately affected on the II and III stages. In the studying of anticoagulant system and fibrinolysis was revealed that the investigated extract was showed a low antifibrinolytic action and not affected on the anticoagulant mechanism. High hemostatic activity of dry extract from *Geranium Palustre* herb can be explained by the presence of biologically active substances in the extract.

Keywords: hemostasis, coagulation, dry extract from *Geranium Palustre* herb.

Реферат

Стаття присвячена дослідженню показників системи гемостазу на фоні введення сухого екстракту з трави герані болотної. Встановлено, що досліджуваний екстракт в своєму складі містить активний тромбоцитарний компонент. При вивченні показників коагуляційного гемостазу сухий екстракт з трави герані болотної проявив активний вплив на активацію «внутрішнього» механізму зсідання крові – I фазу (утворення протромбінази), помірно впливав на II та III стадії. При дослідженні системи антизсідання та фібринолізу встановлено, що досліджуваний екстракт проявив слабку антифібринолітичну дію та не впливав на антикоагулянтну ланку гемокоагуляції. Висока гемостатична активність сухого екстракту з трави герані болотної може пояснюватися наявністю біологічно активних речовин у складі екстракту.

Ключові слова: гемостаз, коагуляція, сухий екстракт з трави герані болотної.

Реферат

ВЛИЯНИЕ СУХОГО ЭКСТРАКТА ИЗ ТРАВЫ ГЕРАНИ БОЛОТНОЙ НА ПОКАЗАТЕЛИ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА. Статья посвящена исследованию показателей системы гемостаза на фоне введения сухого экстракта из травы герани болотной. Установлено, что исследуемый экстракт в своем составе содержит активный тромбоцитарный компонент. При изучении показателей коагуляционного гемостаза сухой экстракт из травы герани болотной проявил активное влияние на активацию «внутреннего» механизма свертывания крови – I фазу (образование протромбиназы), умеренно влиял на II и III стадии. При исследовании системы противосвертывания и фибринолиза установлено, что исследуемый экстракт проявил слабое антифибринолитическое действие и не влиял на антикоагулянтное звено гемокоагуляции. Высокая гемостатическая активность сухого экстракта травы герани болотной может объясняться наличием биологически активных веществ в составе экстракта.

Ключевые слова: гемостаз, коагуляция, сухой экстракт из травы герани болотной.

Вступ. Система гемостазу – багатокомпонентна система організму, функціональною особливістю якої є, з одного боку, попередження та зупинка кровотеч, а з іншого – збереження крові в рідкому стані. Функціонально-структурними складовими системи зсідання є: судинна стінка, тромбоцити, коагуляційна та антикоагулянтна ланки, активатори та інгібітори фібринолізу [1]. Порушення взаємодії між будь-якою з цих ланок може призвести як до тромбозів, так і до геморагічних станів. Пошук та розробка нових гемостатичних засобів для зупинки кровотеч різного генезу залишається однією із найбільш актуальних напрямлень в сучасній фармакології. Перспективними для фармакологічної корекції порушень системи гемостазу являються препарати рослинного походження, яким притаманна широка терапевтична дія, низька токсичність, тривале введення без ризику виникнення побічних ефектів [2]. В даному випадку, особливу зацікавленість привертає трава герані болотної, яка містить в своєму складі велику кількість біологічно активних речовин: елагову та галову кислоти, флавоноїди, аскорбінову кислоту, що проявляють виражену антигеморагічну дію та можуть застосовуватися при кровотечениях різної етіології.

Мета роботи: оцінити динаміку показників судинно-тромбоцитарного, коагуляційного гемостазу, систем антизсідання та фібринолізу на фоні введення сухого екстракту з трави герані болотної.

Матеріали та методи

Дослідити проводили на білих нелінійних щурах масою 200 – 220 г. Всіх тварин було розподілено на 3 групи (по 6 тварин в кожній): I група – інтактний контроль, тварини, які отримували дистильовану воду в об'ємі 1 мл; II група – тварини, які отримували сухий екстракт з трави герані болотної в його ефективній дозі 3 мг/кг [3]; III група – тварини, яким вводили референс-препарат – екстракт із трави грициків звичайних в дозі 25 мг/кг [4]. Досліджувані сполуки вводили внутрішньошлунково у вигляді водного розчину, стабілізованого твіном-80.

Всі дослідження проводили в 3 етапи. Спочатку вивчали судинно-тромбоцитарний гемостаз: підраховували кількість тромбоцитів, їх агрегаційну здатність та ретракцію кров'яного згустку за стандартними методиками [5]. Другий етап – оцінку коагуляційної стадії проводили за такими критеріями як: час кровотечі, активований частковий тромбопластиновий час (АЧТЧ), час рекальцифікації, протромбіновий час (ПЧ), тромбіновий час (ТЧ), тромбіновий час з протамінсульфатом, рівень фібриногену та активність фібринстабілізуючого фактора XIII. Коагуляційні

дослідження виконували за допомогою 4-х каналного аналітичного гемокоагулографа RT-2204C (Китай) з використанням реактивів фірми «Технологія-Стандарт» (Барнаул) [6]. Заключним етапом дослідження було вивчення системи фібринолізу визначали: час лізису еуглобулінового згустку, фібринолітичну активність. Як маркер протромбінемії оцінювали вміст продуктів деградації фібрину. Для характеристики системи антизсідання досліджували показник плазмоторантності до гепарину [7, 8].

Всі маніпуляції з тваринами проводили згідно з національними «Загальними етичними принципами дослідів на тваринах» (Київ, 2001), що узгоджуються з положенням «Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986) [9].

Результати досліджень обробляли за допомогою програми ANOVA та Excel. Для одержання статистичних висновків застосовували однофакторний дисперсійний аналіз та критерій Фішера [10].

Результати та їх обговорення

При аналізі судинно-тромбоцитарного гемостазу встановлено, що при введенні досліджуваного екстракту кількість тромбоцитів недостовірно підвищувалась, але знаходилась в межах фізіологічної норми. Їх агрегаційна здатність підвищувалась в 3,1 рази відносно контрольної групи та в 1,3 рази в порівнянні з екстрактом із трави грициків звичайних. Також достовірно підвищувалась ретракція кров'яного згустку. Отримані дані вказують на наявність активного тромбоцитарного компоненту у складі сухого екстракту з трави герані болотної (табл.1).

Таблиця 1

Вплив сухого екстракту з трави герані болотної на показники системи гемостазу

 $(\bar{X} \pm S_x, n=6)$

Показник	Контрольна група	Сухий екстракт з трави герані болотної, 3 мг/кг	Екстракт із трави грициків звичайних, 25 мг/кг
Судинно-тромбоцитарний механізм			
Кількість тромбоцитів,	549,50±8,89	585,67±5,90 ^{*/**}	565,67±8,2
Агрегація тромбоцитів, хв.	12,50±1,48	39±1,79 ^{*/**}	30,33±2,76 [*]
Ретракція згустку крові, %	38,67±1,65	70,67±1,36 ^{*/**}	53,33±1,36 [*]
Коагуляційний механізм			
Час кровотечі, с	209,6±1,48	104,23±1,26 ^{*/**}	168,4±1,33 [*]
Активованій частковий тромбопластиновий час, с	23,6±0,78	18,6±0,8 [*]	20,6±1,27
Час рекальцифікації, с	43,6 ±1,48	37,0±1,34 [*]	38,8 ±0,84 [*]
Протромбіновий час, с	12,17±0,48	12,82±0,26	12,31±0,39
Тромбіновий час, с	32,6±1,24	27,8±1,32 [*]	28,8±0,72 [*]
Тромбіновий час з протамінсульфатом, с	22,5±0,34	23,9±0,6	24,2±0,52
Фібриноген, г/л	2,55±0,39	2,81±0,22	2,63±0,26
Активність фактора XIII	52,4±1,4	64,6±0,9 [*]	59,6±0,68 [*]
Система антикоагуляції та фібринолізу			
Плазмолерантність до гепарину, хв.	644,8±4,9	661,7±4,3 [*]	663,4±4,8 [*]
Час лізису еуглобулінового згустку, хв.	210,5±9,7	243,8±7,6 ^{*/**}	213,9±6,38
Фібринолітична активність, %	19,84±0,42	16,7±0,72	21,6±0,34
Продукти деградації фібрину	0	0	0

Примітки:

* - $p < 0,05$ відносно контрольної групи тварин;** - $p < 0,05$ в порівнянні з екстрактом із трави грициків звичайних;

n – кількість тварин в кожній групі.

На фоні введення сухого екстракту з трави герані болотної скорочувався час

кровотечі в 2 рази відносно контрольної групи та в 1,6 разів в порівнянні з референс-препаратом. Знижувався рівень АЧТЧ та час рекальцифікації в 1,27 та в 1,18 разів відносно контрольної групи та в 1,11 та 1,02 рази у порівнянні з екстрактом із трави грициків звичайних, що вказує на активний вплив досліджуваного екстракту на внутрішній механізм гемокоагуляції. Підвищувався ПЧ, що вказувало на прискорення переходу протромбіну в тромбін, тобто II фазу коагуляції. Досліджуваний екстракт прискорював перехід фібриногену в фібрин під впливом тромбіну на 5,5 % відносно контрольної групи. Отримані дані вказують на помірний ефект сухого екстракту з трави герані болотної на III стадію гемокоагуляції. Дещо підвищувалася активність фібринази (фібринстабілізуючого фактора XIII), яка бере участь в кінцевому етапі гемокоагуляції та сприяє утворенню стабілізованого, нерозчинного тромбу. Відомо, що показниками, які вказують на порушення фібриноутворення (якісні чи кількісні пошкодження фібриногену, через наявність інгібіторів тромбіну) є тромбіновий час з протамінсульфатом та рівень фібриногену. При введенні сухого екстракту з трави герані болотної дані показники не відрізнялися від показників контрольної групи.

При аналізуванні показників системи антизсідання та фібринолізу встановлено, що сухий екстракт з трави герані болотної проявив помірну антифібринолітичну активність. Показник плазмотолерантності до гепарину не відрізнявся від контрольних даних та препарату порівняння.

При вивченні дії досліджуваного екстракту на час лізису еуглобулінового згустку встановлено підвищення часу лізису на 15,8% та 14 % відносно контрольної групи та референс-препарату, що підтверджує помірний гальмуючий вплив на систему фібринолізу. Оскільки головною складовою еуглобулінової фракції є плазміноген – підвищення часу лізису еуглобулінового згустку може пояснюватися пригніченням активності плазміногену та його перетворення в фібрин.

Сухий екстракт з трави герані болотної проявив помірний інгібуючий ефект на фібринолітичну активність крові щурів, пригнічуючи фібриноліз, в 1,2 рази відносно контрольної групи та в 1,3 рази в порівнянні з екстрактом із трави грициків звичайних. Підвищення рівня продуктів деградації фібрину – ознака гіперфібринолізу. В експерименті у всіх 3 групах тварин встановлений негативний результат даного показника.

Висновки

1. При дослідженні судинно-тромбоцитарного гемостазу встановлено наявність активного тромбоцитарного компоненту у складі сухого екстракту з трави герані

болотної.

2. При введенні досліджуваного екстракту скорочувався час кровотечі. Сухий екстракт з трави герані болотної проявив активний вплив на внутрішній механізм гемокоагуляції: знижувався рівень АЧТЧ та час рекальцифікації. На фоні введення екстракту дещо підвищувався ПЧ та знижувався ТЧ, що свідчить про помірний вплив екстракту на II та III стадії зсідання крові.

3. Показник плазмотолерантності до гепарину під дією сухого екстракту з трави герані болотної не змінювався, тобто екстракт не впливав на систему антизсідання крові. При аналізі фібринолізу встановлено помірний антифібринолітичний вплив досліджуваного екстракту, що може пояснюватися пригніченням плазміногену та його перетворення в плазмін.

Список літератури

1. Oakley C. Hemostasis, coagulation and complications / C. Oakley // Oral Wound healing cell biology and clinical management / ed. by H. Larjava. – 2013. – Vol. 2. – P. 11–38.

2. Викторов А. П. Фитопрепараты : рациональный подход к медицинскому применению / А. П. Викторов // Фітотерапія. Часопис. – 2011. – № 3. – С. 3–12.

3. Остапець М. О. Вивчення гострої токсичності та ефективної дози сухого екстракту з трави герані болотної / М. О. Остапець, В. А. Волковой, Г. П. Фоміна // Клінічна та експериментальна патологія. – 2015. – Т. XIV, № 1 (51). – С. 113–116.

4. Бекеле Ю. Б. Разработка, исследование и пути использования фитокомплексов из травы пастушьей сумки и их лекарственных форм: автореф. дис. на соиск. ученой степени канд. фарм.наук : спец. 15.00.01 «Технология лекарств в организации фармацевтического дела» / Ю. Б. Бекеле. – Пятигорск, 1993. – С. 11–12.

5. Баркаган З. С. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза / З. С. Баркаган, А. П. Момот. – М. : Ньюдиамед, 2008. – 292 с.

6. Da Rin G. Total laboratory automation of routine hemostasis testing / G. Da Rin, G. Lippi // Journal of laboratory automation. – 2013. – Vol. 20, № 10. – P. 1–4.

7. Lippi G. Technological advances in the hemostasis laboratory / G. Lippi, M. Plebani, E. J. Favaloro // Journal of Thrombosis and Haemostasis. – 2014. – Vol. 40, № 2. – P. 178–185.

8. The effect of blood coagulation factor XIII on fibrin clot structure and fibrinolysis / E. L. Hethershaw, A. L. Cilia La Corte, C. Duval et al. // Journal of Thrombosis and Haemostasis. – 2014. – Vol. 12, № 2. – P. 197–205.

9. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and others scientific purposes. – Council of Europe. Strasburg, 1986. – № 123. – P. 52.

10. Кочетов А. Г. Методы статистической обработки медицинских данных : методические рекомендации / А. Г. Кочетов, О. В. Лянг, И. В. Жиров [и др.] – М. : РКНПК, 2012. – 42 с.

References

1. Oakley C. Hemostasis, coagulation and complications / C. Oakley // Oral Wound healing cell biology and clinical management / ed. by H. Larjava. – 2013. – Vol. 2. – P. 11–38.

2. Viktorov A. P. Phytomedication: rational approach to medical using / A. P. Viktorov / Phytotherapy. Journal. – 2011. – № 3. – P. 3–12.

3. Ostapets M. O. Studying of acute toxicity and effective dose of the dry extract of *Geranium Palustre* herb / M. O. Ostapets, V. A. Volkovoy, G. P. Fomina // Clinical and Experimental Pathology. – 2015. – Vol. XIV, № 1 (51). – P. 113–116.

4. Bekele U. B. Development, research and ways to using of phytocomplex from *Bursa Pastoris* herb and dosage forms: author. dis. on scientific degree of candidate of pharmaceutical sciences : spec. 15.00.01 «Technology of medicines in the organization of pharmaceutical business» / U. B. Bekele.- Pyatigorsk, 1993. – P. 11–12.

5. Barkagan Z. S. Diagnostic and control therapy the disturbance of hemostasis / Z. S. Barkagan, A. P. Momot. – М. : Newdiamed, 2008. – 292 p.

6. Da Rin G. Total laboratory automation of routine hemostasis testing / G. Da Rin, G. Lippi // Journal of laboratory automation. – 2013. – Vol. 20, № 10. – P. 1–4.

7. Lippi G. Technological advances in the hemostasis laboratory / G. Lippi, M. Plebani, E. J. Favalaro // Journal of Thrombosis and Haemostasis. – 2014. – Vol. 40, № 2. – P. 178–185.

8. The effect of blood coagulation factor XIII on fibrin clot structure and fibrinolysis / E. L. Hethershaw, A. L. Cilia La Corte, C. Duval et al. // Journal of Thrombosis and Haemostasis. – 2014. – Vol. 12, № 2. – P. 197–205.

9. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and others scientific purposes. – Council of Europe. Strasburg, 1986. – № 123. – P. 52.

10. Kochetov A. G. Methods of statistic processing of medical data: guidelines / A. G. Kochetov, O. V. Lang, I. V. Girov [et al]. – М. : RKNPK, 2012. – 42 p.