

Kavushevska N. S., Bereznayakova A. I., Zhemela O.D. Вплив гелю «Лізостом» на судинно-тромбоцитарний гемостаз = Influtnce of gels «Lizostom» on the vascular-platelet hemostasis Journal of Education, Health and Sport. 2016;6(10):415-422. eISSN 2391-8306. DOI <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.163976>
<http://ojs.ukw.edu.pl/index.php/johs/article/view/3967>
<https://pbn.nauka.gov.pl/sedno-webapp/works/755229>

The journal has had 7 points in Ministry of Science and Higher Education parametric evaluation. Part B item 755 (23.12.2015).
755 Journal of Education, Health and Sport eISSN 2391-8306 7
© The Author (s) 2016;

This article is published with open access at Licensee Open Journal Systems of Kazimierz Wielki University in Bydgoszcz, 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/4.0/>) 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/4.0/>) 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: 02.10.2016. Revised 02.10.2016. Accepted: 30.10.2016.

УДК 616. 31002:616. 311. 2002:616. 314. 17008. 1:61608

ВПЛИВ ГЕЛЮ «ЛІЗОСТОМ» НА СУДИННО-ТРОМБОЦИТАРНИЙ ГЕМОСТАЗ

Н. С. Кавушевська*, А. І. Березнякова*, О. Д. Жемела**

*Національний фармацевтичний університет, м. Харків

** Харківський національний університет ім. В. Н. Каразіна

Резюме

В ході експериментальних досліджень було доведено вплив стоматологічного гелю «Лізостом» на зменшення тривалості кровотеч з мікросудин, підвищення кількості тромбоцитів та їх агрегаційної здатності; зростання показника ретракції згустку крові.

Ключові слова: гель «Лізостом», судинно-тромбоцитарний гемостаз, лізоциму гідрохлорид.

INFLUENCE OF GELS «LIZOSTOM» ON THE VASCULAR-PLATELET HEMOSTASIS

N. S. Kavushevska*, A. I. Bereznyakova*, O. D. Zhemela**

*National University of Pharmacy, Kharkiv

** V. N. Karazin Kharkiv National University

Summary

During experimental studies have shown the impact of dental gel "Lizostom" to reduce the duration of the microvascular bleeding, increased platelet aggregation and their capacity; increase blood clot retraction.

Keywords: gel "Lizostom" vascular-platelet hemostasis, lysozyme hydrochloride.

Вступ. Співробітниками кафедри заводської технології ліків (завідувач кафедри – д.ф.н., професор Рубан О. А.) був розроблений склад стоматологічного гелю «Лізостом», діючою речовиною якого є лізоциму гідрохлорид, та переданий для подальшого фармакологічного вивчення на кафедру патологічної фізіології НФаУ.

Оскільки з літературних даних відомо, що лізоцим є прямим інгібітором гепарину[2], нами було здійснено дослідження з визначення впливу гелю «Лізостом» на судинно-тромбоцитарний гемостаз. В якості препарату порівняння було обрано Протаміну сульфат, як аналог за дією, у відношенні гепарину [5].

Однією із систем, яка тонко та закономірно реагує на більшість патологічних процесів в організмі є система гемокоагуляції. Дослідження системи гемостазу є складним багатоетапним процесом. До теперішнього часу немає єдиного лабораторного тесту, що дозволив би охарактеризувати всі ланки гемокоагуляції, тому перед проведенням дослідження впливу гелю «Лізостом» на систему зсідання, важливим етапом був вибір найбільш інформативних тестів, які володіли б високою чутливістю та достатньою специфічністю [7].

Мета дослідження: вивчення впливу стоматологічного гелю «Лізостом» на судинно-тромбоцитарний гемостаз.

Об'єкт і методи дослідження. Експеримент проведено на 30 щурах самцях масою 200-220 г, які були розділені на 3 групи: перша – інтактний контроль, друга –

тварини, яким внутрішньошлунково вводили 50% суспензію гелю «Лізостом» в дозі 80мг, третя – щури, яким внутрішньошлунково вводили препарат порівняння Протаміну сульфат в дозі 1мг.

Тривалість кровотечі із мікросудин розраховували за методом Дьюка (1910), принцип якого полягає у визначенні тривалості кровотечі із поверхневих мікросудин після порушення їх цілісності [3,9].

Підрахунок кількості тромбоцитів в мазках крові проводили за методом Фоніо (1912) в мазках крові. Метод заснований на підрахунку числа тромбоцитів в пофарбованих мазках крові на 1000 еритроцитів з розрахунком на 1 мкл крові, виходячи із вмісту в цьому об'ємі кількості еритроцитів [4].

Агрегацію тромбоцитів проводили за експрес-методом візуальної оцінки А. С. Шитікова (1984) [1, 6, 11]. При додаванні агрегуючих агентів до багатой на тромбоцити плазми та перемішуванні розвивається агрегація тромбоцитів. Отримані агрегати в певний період досягають великих розмірів та їх можна побачити неозброєним оком у вигляді білих крупинок – феномен «снігової бурі».

Ретракцію згустку крові визначали за методом, який базується на визначенні об'єму сироватки, яка виділяється при ретракції згустку крові, по відношенню до об'єму плазми в досліджуваній крові [10].

Дослідження проведено з дотриманням основних біоетичних положень Конвенції Ради Європи про права людини та біомедицину (від 04.04. 1997 р.), Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації про етичні принципи проведення наукових медичних досліджень за участю людини (1964–2008 рр.), а також наказу МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р.

Результати досліджень обробляли статистично з використанням критерію Стьюдента.

Результати досліджень та їх обговорення. В ході дослідження встановлено, що гель «Лізостом» скорочував тривалість кровотечі із мікросудин щура на 14,8 % відносно контрольної групи. Препарат порівняння Протаміну сульфат мав дещо вищі показники, та перевищував досліджуваний гель «Лізостом» на 43,0% (рис.1).

Відомо, що при активації тромбоцитів виникає однотипна реакція, що закінчується активацією фосфоліпази. В результаті цього мембрана клітини може вступати в контакт із сусідніми клітинами, внаслідок чого тромбоцити можуть агрегуватися один із одним з утворенням тромбоцитарного тромбу. Кофакторами чи інгібіторами агрегації тромбоцитів можуть слугувати фактор Віллебранда, білки,

пептиди плазми [8].

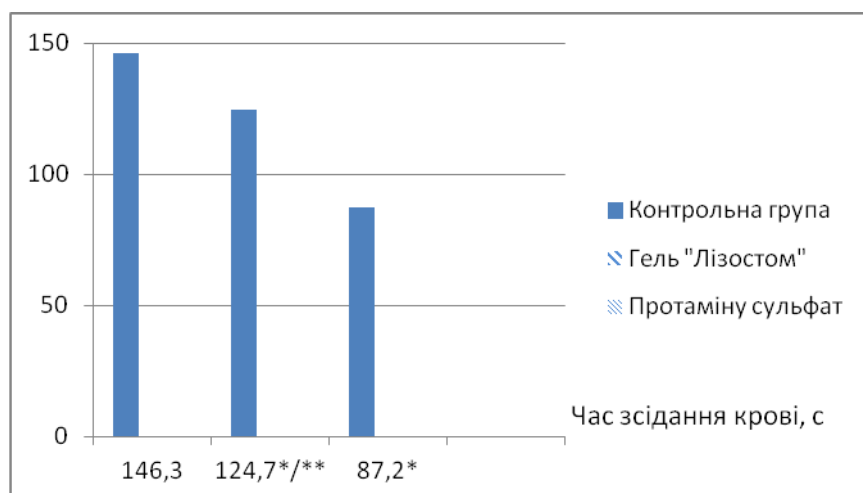


Рис.1. Вплив гелю «Лізостом» на тривалість кровотечі із судин

Примітки:

1. * - $p < 0,05$ порівняно з контролем;
2. ** - $p < 0,05$ порівняно з препаратом порівняння Протаміну сульфат.

Встановлено, що при одноразовому введенні гелю «Лізостом» в дозі 80мг кількість тромбоцитів в периферичній крові щурів не змінювалася (табл. 1).

Таблиця 1

Кількість тромбоцитів у периферичній крові щурів при одноразовому та тривалому внутрішньошлунковому введенні гелю «Лізостом» ($X \pm S_x$, $n=6$)

Терміни дослідження	Контрольна група	Гель «Лізостом»,	Протаміну сульфат,
Вихідні дані	531,0±11,0	537,5±12,4	536,3±12,5
Одноразове введення	532,3±12,7	544,3±8,9	547,8±11,2
Через 1 добу	536,3±11,5	549,2±9,0	557,7±12,1
Через 3 доби	544,3±9,9	560,0±11,4	570,0±9,1
Через 5 діб	548,5±8,9	564,7±8,2	582,0±6,1

Примітка. n – кількість тварин в кожній групі.

Однак, на 5 добу на фоні введення гелю «Лізостом» спостерігалася тенденція до підвищення кількості тромбоцитів відносно контрольної групи тварин, в той час як препарат порівняння Протаміну сульфат підвищував даний показник вже на 3 добу введення.

Найчастіше для оцінки агрегації тромбоцитів використовують спосіб, який базується на швидкості та ступені зменшення оптичної щільності тромбоцитарної плазми з індукторами агрегації [10] (табл. 2).

Таблиця 2

Вплив гелю «Лізостом» на агрегаційну здатність тромбоцитів ($X \pm S_x$, n=6)

Терміни дослідження	Контрольна група	Гель «Лізостом»,	Протаміну сульфат,
Вихідні дані	11,3±1,3	10,8±1,4	10,7±1,2
Одноразове введення	10,2±1,2	10,5±2,1	10,8±1,6
Через 1 добу	11,2±1,7	13,0±1,6	13,7±2,2
Через 3 доби	11,7±1,5	14,5±2,3 ^{*/**}	18,3±1,9
Через 5 діб	11,5±1,5	29,3±2,8 ^{*/**}	38,0±1,8 ^{*/**}

Примітки:

1. * - $p < 0,05$ порівняно з контролем;
2. ** - $p < 0,05$ порівняно з вихідними даними;

Агрегаційна здатність тромбоцитів при одноразовому введенні досліджуваного гелю «Лізостом» не відрізнялася від показників контрольної групи, але на 3 та 5 добу введення спостерігалось підвищення процесу агрегації в 1,1 та 2,3 рази ($p < 0,05$) відповідно до контрольної групи тварин. Досліджуваний гель «Лізостом» мав дещо нижчі показники агрегаційної активності в порівнянні з препаратом порівняння і на 5 добу експерименту відмінність складала 22,9 % (табл.2).

Процес ретракції характеризує кількість активованих тромбоцитів та їх функцію на стадії ущільнення кров'яного згустку. Дана реакція здійснюється за рахунок скорочувальних білків тромбоцитів, які взаємодіють між собою та з нитками фібрину. Дослідження гелю «Лізостом» проводили за допомогою кількісного методу [7].

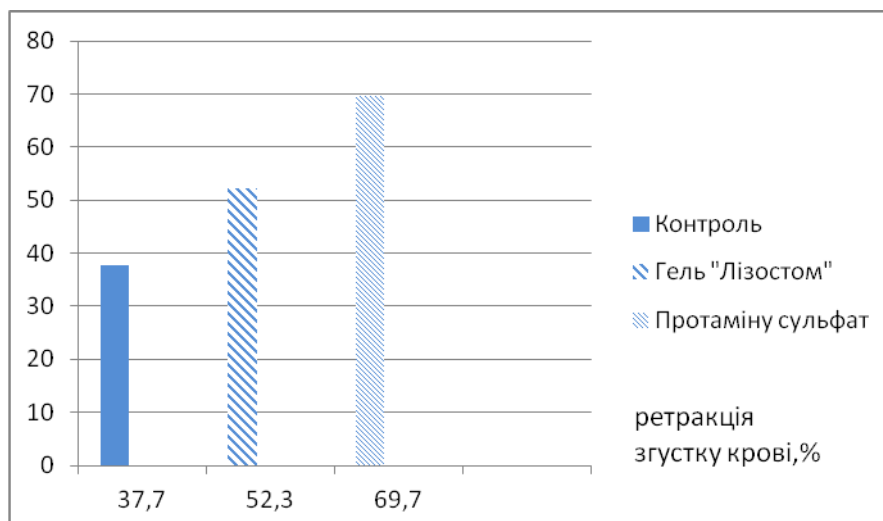


Рис. 2. Вплив гелю «Лізостом» на ретракцію згустку крові

Примітки:

1. * - $p < 0,05$ порівняно з контролем;
2. ** - $p < 0,05$ порівняно з препаратом порівняння Протаміну сульфат.

Результати експериментальних досліджень з вивчення впливу досліджуваного гелю «Лізостом» на ретракцію кров'яного згустку (рис. 2) вказують на те, що під дією гелю «Лізостом» ретракція згустку крові зростає в 1,3 рази відносно контрольної групи, але препарат порівняння Протаміну сульфат перевищує досліджуваний гель за даним показником 1,8 рази.

Висновки

Гель «Лізостом» виявляє активний вплив на механізми судинно-тромбоцитарного гемостазу, який здійснюється через рефлекторний спазм дрібних судин, адгезією та агрегацією тромбоцитів, і, в результаті, утворення первинного тромбоцитарного корку [6].

Література

1. Баркаган З.С. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза / З.С. Баркаган, А.П. Момот. – М.: Ньюдиамед, 2008
2. Боровский Е.В. Терапевтическая стоматология / Е.В. Боровский, В.С. Иванов, Ю.М. Максимовский. – М.: 2001. – С. 31.
3. Камышников В.С. Клинические лабораторные тесты от А до Я и их диагностические профили: справ. пособие / В.С. Камышников. - Минск: Беларусь,

2005. – 176 с.

4. Камышников В.С. Методы клинической лабораторной диагностики / В.С. Камышников. – М.: МЕЖпресс-информ, 2013. – 736 с.

5. Компендиум 2013 – лекарственные препараты / Под ред. В.Н. Коваленко, А.П. Викторова. – К.: МОРИОН, 2013. – 1001 с.

6. Неинвазивный метод изучения агрегационной активности тромбоцитов, лейкоцитов и эритроцитов / Б. И. Кузник, И.А. Файн, А.В. Калинин и др. // Клиническая лабораторная диагностика. – 2013. - №4. – С.20-23.

7. Мамаев А.Н. Практическая гемостазиология / А.Н. Мамаев. – М.: Практическая медицина, 2014. – 240.

8. Пантелеев М.А. Тромбоциты и гемостаз / М.А. Пантелеев, А.Н. Свешникова // Онкогематология. – 2014. - №2. – С. 65-73.

9. Getz T.M. Novel mouse hemostasis model for real-time determination of bleeding time and hemostatic plug composition / T. M. Getz, R. Piatt, B.G. Petrich // Journal of Trombosis and Haemostasis. – 2015. Vol. 13, №3. – P. 417-425.

10. Lillicrap M. D. Molecular testing for disorders of hemostasis / M.D. Lillicrap // International Journal of Laboratory Hematology. – 2013. – Vol. 35, №3. – P. 290-296.

11. Procoagulant platelets form an alpha-surface that promotes their attachment to aggregates / A. Abaeva, M. Canault, Y. Kotova et al. / Journal Biological Chemistry. – 2013. – 2013/ - Vol. 288, №41. – P. 221-232.

References

1. Barkagan Z.S. Diagnosis and therapy of kontrol violations hemostasis / Z.S. Barhakan, A.P. Stammerer. - M.: Nyudyamed, 2008

2. Borowski E.V. Terapy stomatogy / E.V. Borowski, V.S. Ivanov, Y. M. Maksymovskyy. - M.: 2001. - P. 31.

3. Kamyshnykov V.S. Clinical laboratory equipment tests from A to Z and diagnostic profiles: cases handbook/ VS Kamyshnykov. - Minsk, Belarus, 2005. – P. 176.

4. Kamyshnykov V.S. Methods clinical laboratory diagnosis / V.S. Kamyshnykov. - M.: MEZhpress-inform, 2013. – P. 736.

5. Compendium 2013 - Preparations Pharmaceuticals / Ed. V.N. Kovalenko, A.P. Vyktorova. - K.: MORYON 2013 – P. 1001.

6. The method of studing non-invasive aggregation activity of platelets, red blood cells and leukocyte / B. I. Kuznyk, I.A. Fine, A.V. Kalynsky et al .. Clinical // laboraty

diagnostics. - 2013. - №4. - P. 20-23.

7.. Mamaev A.N. Practical hemostazyology / A.N. Mamaev. - M .: Practical Medicine, 2014 – P. 240.

8. Panteleev M.A. Platelets and hemostasis / M.A. Panteleev, A.N. Sveshnikova // Onkohematology. - 2014. - №2. - P. 65-73.

9. Getz T.M. Novel mouse hemostasis model for real-time determination of bleeding time and hemostatic plug composition / T. M. Getz, R. Piatt, B.G. Petrich // Journal of Trombosis and Haemostasis. – 2015. Vol. 13, №3. – P. 417-425.

10. Lillicrap M. D. Molecular testing for disorders of hemostasis / M.D. Lillicrap // International Juornal of Laboratory Hematology. – 2013. – Vol. 35, №3. – P. 290-296.

11. Procoagulant platelets form an alpha-surface that promotes their attachment to aggregates / A. Abaeva, M. Canault, Y. Kotova et al. / Journal Biological Chemistry. – 2013. – 2013/ - Vol. 288, №41. – P. 221-232.