УДК 616.71-007.234-076:616.61-036

ФУНКЦІОНАЛЬНА АКТИВНІСТЬ ТРОМБОЦИТАРНОЇ ЛАНКИ ГЕМОСТАЗУ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ МОДЕЛЮВАННІ ГІНГІВІТУ І АЛЬВЕОЛІТУ

В. Ф. Черемісіна, А. І. Березнякова

Національний фармацевтичний університет, м Харків, Україна

Ключові слова: *тромбоцити, агрегація, гінгівіт, альвеоліт, оксипроліну.*

Клінічна та експериментальна патологія Т.16, №4 (62). С.97-101.

DOI:10.24061/1727-4338.XVI.4.62.2017.60

E-mail:cheremishav@gmail.com

Мета роботи *- вивчити функціональну активність тромбоцитарної ланки гемостазу при експериментальному моделюванні гінгівіту і альвеолита.*
Матеріал і методи. *Дослідження проведено на нелінійних лабораторних білих щурах-самцях масою 240,0 ± 30,0 г, розділених на чотири групи: експериментальний гінгівіт, альвеоліт і дві групи інтактного контролю за допомогою обстеження агрегації тромбоцитів, визначення в сечі сумарного, вільного і пов'язаного оксипролина, проведення морфологічної верифікації змін у кістковій тканині пародонта щурів.*
Результати. *Агрегаційна активність тромбоцитів за умови низької концентрації індуктора АДФ при альвеоліті підвищує ступінь і швидкість агрегації. Високі концентрації АДФ змін агрегації тромбоцитів не викликають. Зміни всіх рівнів оксипролина в сечі щурів засвідчують розпад колагену різного ступеня, залежно від патології.*
Висновки. *Низькі концентрації (2,5 мкмоль/л) аденозиндифосфата підвищують функціональну активність тромбоцитів. Високі концентрації (5,0 і 10,0 мкмоль/л) аденозиндифосфата не впливають на функціональну активність тромбоцитів у тварин з альвеолітом. Зміни всіх рівнів оксипролина в сечі щурів, виявлені у щурів з гінгівітом, і зниження вільного оксипроліну у щурів з альвеолитом вказують на виражене уповільнення розпаду колагену при гінгівіті і початок цього процесу у тварин з альвеолитом.*

Ключевые слова: *тромбоциты, агрегация, гингивит, альвеолит, оксипролин.*

Клиническая и экспериментальная патология Т.16, №4 (62). С.97-101 .

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ТРОМБОЦИТАРНОГО ЗВЕНА ГЕМОСТАЗА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ МОДЕЛИРОВАНИИ ГИНГИВИТА И АЛЬВЕОЛИТА

В. Ф. Черемисина, А. И. Березнякова

Цель работы *- изучить функциональную активность тромбоцитарного звена гемостаза при экспериментальном моделировании гингивита и альвеолита.*
Материал и методы. *Исследование проведено на нелинейных лабораторных белых крысах-самцах массой 240,0 ± 30,0 г, разделенных на четыре группы: экспериментальный гингивит, альвеолит и две группы интактного контроля с помощью обследования агрегации тромбоцитов, определение в моче суммарного, свободного и связанного оксипролина, проведение морфологической верификации изменений в костной ткани пародонта крыс.*
Результаты. *Агрегационная активность тромбоцитов при низкой концентрации индуктора АДФ при альвеолите повышает степень и скорость агрегации. Высокие концентрации АДФ изменений агрегации тромбоцитов не вызывают. Изменения всех уровней оксипролина в моче крыс свидетельствует о распаде коллагена в различной степени, в зависимости от патологии.*
Выводы. *Низкие концентрации (2,5 мкмоль/л) аденозиндифосфата повышают функциональную активность тромбоцитов. Высокие концентрации (5,0 и 10,0 мкмоль/л) аденозиндифосфата не влияют на функциональную активность тромбоцитов у животных с альвеолитом. Изменения всех уровней оксипролина в моче крыс, обнаруженные у крыс с гингивитом и снижение свободного оксипролина у крыс с альвеолитом свидетельствуют о выраженное замедление распада коллагена при гингивите и начало этого процесса у животных с альвеолитом.*

Key words: *platelets, aggregation, gingivitis, alveolitis, hydroxyproline.*

FUNCTIONAL ACTIVITY OF THROMBOCYTOSIS HEMOSTASIS SECTION IN EXPERIMENTAL MODELING OF GINGIVITE AND ALVEOLITES

V.F. Cheremisina, A.I. Bereznyakova

Abstract. *The aim of the study was to study the functional activity of platelet hemostasis in the experimental modeling of gingivitis and alveolitis.*
Materials and methods. *The study was carried out on non-linear laboratory white male*

rats weighing 240.0 ± 30.0 g divided into four groups: experimental gingivitis, alveolitis and two groups of intact control by examination of platelet aggregation, determination of total, free and bound hydroxyproline in the urine, morphological verification of changes in the bone tissue of periodontal rats. ***Results.*** *Aggregation activity of platelets with a low concentration of inducer ADP in the alveolitis increases the degree and rate of aggregation. High concentrations of ADP do not cause changes in platelet aggregation. Changes in all levels of hydroxyproline in the urine of rats indicate the breakdown of collagen to varying degrees, depending on the pathology.*
Conclusions. *Low concentrations (2.5 μmol / L) of adenosine diphosphate increase the functional activity of platelets. High concentrations (5.0 and 10.0 μmol / L) of adenosine diphosphate do not affect the functional activity of thrombocytes in animals with alveolitis. Changes in all levels of hydroxyproline in urine in rats, found in rats with gingivitis, and a decrease in free hydroxyproline in rats with alveolitis suggest a pronounced deceleration of collagen degradation in gingivitis and the onset of this process in animals with alveolitis.*

Clinical and experimental pathology. Vol.16, №4 (62). P.97-101.

Вступ

Реакція тромбоцитарної ланки системи гемостазу на гострі процеси в організмі достатньо повністю та давно вивчена [1]. Однак в літературі мало даних про функціональну активність тромбоцитів при порушеннях стану кісткової тканини взагалі чи при змінах в ній, викликаних дією різних агентів, наприклад, кортикостероїдами, бичачою жовчю, стресом чи запаленням [2]. Рідко розглядаються питання стимуляції чи пригнічення кісткової резорбції [3]. Даних про функціональну активність тромбоцитів при захворюваннях пародонта в доступній нам літературі ми не виявили.

Мета роботи

Вивчити функціональну активність тромбоцитарної ланки гемостазу при експериментальному моделюванні гінгівіту та альвеоліту.

Матеріал і методи дослідження

Дослідження проведено на нелінійних лабораторних білих щурах-самцях масою 240,0±30,0 г, які були розподілені на 4 групи: 1 група - інтактний контроль для гінгівіту; 2 група - щури з експериментальним гінгівітом, який моделювали за методом [4]; 3 група - інтактний контроль для альвеоліту; 4 група - тварини з експериментальним альвеолітом [5]. Кров для дослідження агрегації тромбоцитів брали шприцом із серця тварин під етамінал-натрієвим наркозом [6]. Індуковану агрегацію тромбоцитів вивчали із застосуванням комп'ютеризованого аналізатора агрегації тромбоцитів "SOLAR 2110" (Білорусь) за методикою [7]. Як індуктор використовували аденозиндифосфат (АДФ) в концентрації 2,5, 5,0 та 10,0 мкмоль/л. Кожна концентрація індуктора мала свою контрольну групу щурів. У сечі тварин визначали сумарний, вільний та зв'язаний оксипролін [8] та паралельно проводили морфологічну верифікацію змін у кістковій тканині пародонта щурів.

Результати експериментів піддавали статичній обробці непараметричним методом за допомогою U-критерія Манна-Уітні та використанням Excel [9]. Достовірними вважали результати при $p<0,05$.

Експерименти проводили у відповідності з принципами "Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовуються з експериментальними та іншими науковими цілями" (Страсбург, 1986) та "Загальними принципами експериментів на тваринах", схваленими 1 Національним конгресом з біоетики [10].

Результати та їх обговорення

Перш за все, ми провели аналіз кривих агрегаційної активності тромбоцитів у щурів з гінгівітом та альвеолітом та виявили різнонаправлені зміни функціональної активності тромбоцитів. Разом з тим, усі криві мали однохвильовий характер (рис. 1, 2).

У тварин з гінгівітом при концентрації індуктора агрегації 2,5 мкмоль/л ступінь агрегації тромбоцитів, час досягнення максимальної швидкості агрегації та швидкість агрегації практично не відрізнялись від показників контрольної групи тварин ($p=0,05$) (табл. 1).

При концентрації індуктора агрегації 5,0 мкмоль/л

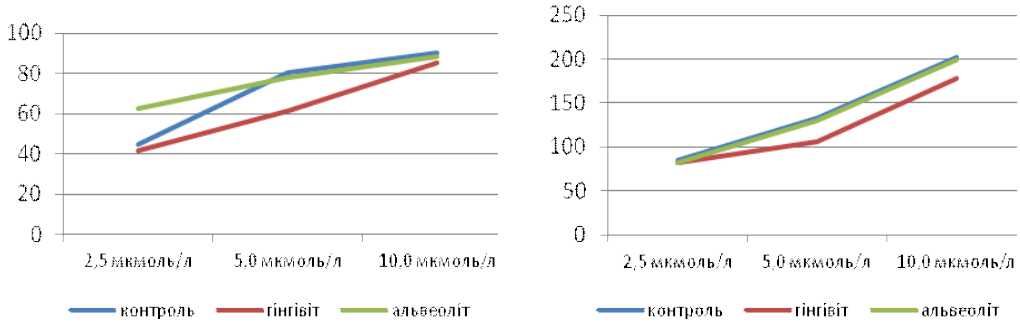

Рисунок 1. Ступінь агрегації та час досягнення максимальної швидкості агрегації у експериментальних тварин

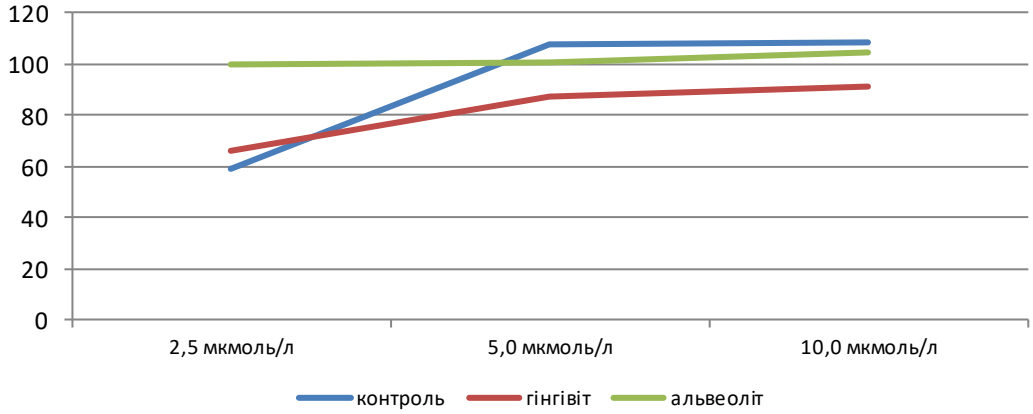

Рисунок 2. Швидкість агрегації тромбоцитів у експериментальних тварин

та 10,0 мкмоль/л у тварин цієї ж серії всі показники агрегації знижувалися порівняно з аналогічними у контрольних щурів (табл. 1).

Аналіз показників агрегації тромбоцитів у щурів з альвеолітом при концентрації індуктора АДФ 2,5 мкмоль/л виявив тенденцію до підвищення функціональної активності тромбоцитів, яка характеризує ступінь і швидкість агрегації (табл. 2). Показники агрегації у тварин з альвеолітом при концентрації АДФ 5,0 мкмоль/л та 10 мкмоль/л практично не відрізнялись від показників контрольної групи щурів (табл. 2).

При дослідженні рівнів оксипроліну в сечі щурів з гінгівітом виявлене зниження всіх трьох фракцій оксипроліну - сумарного, вільного та зв'язаного порівняно з контрольною групою тварин ($p<0,05$, рис. 3).

У щурів з альвеолітом усі три рівні оксипроліну не змінювалися. При морфологічній верифікації тканин пародонта виявлені деструктивні зміни кісткової тканини у щурів з гінгівітом. У групі тварин з експериментальним альвеолітом зміни в кістковій тканині пародонта невиражені.

У механізмах розвитку гінгівіту та альвеоліту важливе значення відіграє стрес. Це пов'язано з ін'єкціями, годуванням тварин, екстракцією зубів та ін. У результаті в крові тварин підвищується рівень глюкокортикоїдів. У зв'язку з цим зниження оксипроліну в сечі

Таблиця 1

Показники агрегації тромбоцитів у щурів з експериментальним гінгівітом при концентрації АДФ 2,5, 5,0 та 10,0 мкмоль/л (X±SX, n=10)

Концентрація АДФ, кмоль/л	Групи тварин	Показники агрегації		
		Ступінь агрегації, %	Час досягнення максимальної швидкості агрегації, с	Швидкість агрегації, %/хв
2,5	контроль	45,0±10,6	85,1±7,8	59,1±21,5
2,5	гінгівіт	41,6±8,7	82,0±9,3	66,2±9,4
5,0	контроль	80,4±9,3	132,7±8,1	107,4±10,4
5,0	гінгівіт	61,6±7,7*	105,6±10,7*	87,1±7,6*
10,0	контроль	90,5±6,2	202,5±4,7	108,5±11,3
10,0	гінгівіт	85,4±9,0*	178,4±8,6*	91,4±9,8*

Примітка. * - $p<0,05$ порівняно з контрольною групою тварин.

Таблиця 2

Показники агрегації тромбоцитів у щурів з експериментальним альвеолітом при концентрації АДФ 2,5, 5,0 та 10,0 мкмоль/л (X±SX, n=10)

Концентрація АДФ, кмоль/л	Групи тварин	Показники агрегації		
		Ступінь агрегації, %	Час досягнення максимальної швидкості агрегації, с	Швидкість агрегації, %/хв
2,5	контроль	45,0±10,6	85,1±7,8	59,1±21,5
2,5	альвеоліт	62,5±6,2*	82,2±6,7*	99,6±9,9*
5,0	контроль	80,4±9,3	132,7±8,1	107,4±10,4
5,0	альвеоліт	77,8±4,4	130,6±6,7	100,8±7,3
10,0	контроль	90,5±6,2	202,5±4,7	108,5±11,3
10,0	альвеоліт	88,4±6,1	200,0±10,0	104,8±10,2

Примітка. * - $p<0,05$ порівняно з контрольною групою тварин.

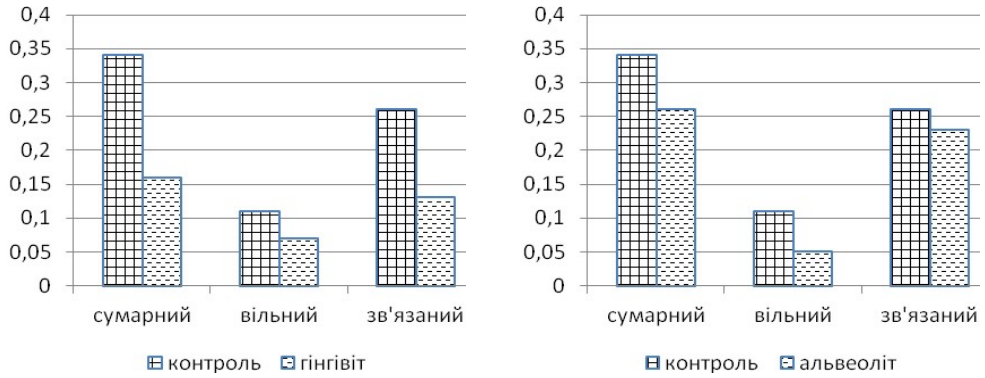

Рисунок 3. Рівні фракцій оксипроліну у тварин з експериментальною патологією

щурів з гінгівітом може засвідчити про уповільнення синтезу та розпаду сполучної тканини в цілому і кісткової тканини пародонта зокрема. Це зумовлено, скоріш за все, тим, що підвищення глюкокортикоїдів у крові пригнічує активність клітин, які синтезують колаген. У результаті у щурів з гінгівітом адаптаційні резерви організму виявляються вичерпаними, і пошкодження починає проявлятися на системному рівні.

При альвеоліті ми спостерігали не настільки глибокі зміни, і механізми адаптивних реакцій організму, мабуть, справляються з дією стресу (його дія значно коротша порівняно зі стресовими реакціями у щурів з гінгівітом). З цим пов'язано зменшення рівня тільки вільного оксипроліну, який також може засвідчити про уповільнення розпаду колагену. Морфологічна верифікація тканин пародонта після екстракції зубів не виявила значних змін.

Висновки

1. Низькі концентрації (2,5 мкмоль/л) аденозиндифосфата підвищують функціональну активність тромбоцитів, що характеризує ступінь та швидкість агрегації у щурів з альвеолітом, і не змінюють ці показники у тварин з гінгівітом.

2. Високі концентрації (5,0 та 10,0 мкмоль/л) аденозиндифосфата не впливають на функціональну активність тромбоцитів у тварин з альвеолітом; у щурів з гінгівітом призводять до зниження швидкості агрегації та часу максимальної швидкості та ступеня агрегації.

3. Зміни всіх рівнів оксипроліну в сечі щурів, виявлені у щурів з гінгівітом, та зниження вільного оксипроліну у щурів з альвеолітом вказують на виражене уповільнення розпаду колагену при гінгівіті та початок цього процесу у тварин з альвеолітом.

Список літератури

1.Аранович АМ, Трофимова ЕВ, Сашенков СЛ. Тромбоцитарный гемостаз при дистракционном остеосинтезе. Известия Челябинского научного центра. 2005;4(30):209-12.

2.Павлов СБ, Гончарова АВ, Литвинова ОБ, Семко НГ, Блажко ТА. Морфофункциональные изменения соединительной ткани у крыс с экспериментальной патологией пакреатодуоденальной области. Проблеми безперервної медичної освіти та науки. 2011;2:62-5.

3.Подковкин ВГ, Иванов ДГ, заявители; Способ стимуляции костной резорбции у лабораторных животных. Подковин ВГ, патентообладатель. Патент Российской Федерации № 2384891. 2009 Нояб 20.

4.Левицький АП, Селиванська ІО, Макаренко ОА, винахідники; Інститут стоматології АМН України, патентовласник. Спосіб моделювання гінгівіту. Патент України № 31011. 2008 Бер 25.

5.Гаврилов ВО, Лузін ВІ, Гайдаш ДІ, Копельян ЄВ, винахідники; Гаврилов ВО, Лузін ВІ, Гайдаш ДІ, Копельян ЄВ, патентовласники. Спосіб моделювання альвеоліту нижньої щелепи у лабораторних тварин (щурів). Патент України № 61486. 2011 Лип 25.

6.Резніков ОГ, Соловйов АІ, Добреля НВ, Стефанов ОВ. Біотична експертиза доклінічних та інших наукових досліджень, що виконуються на тваринах: метод. реком. Вісник фармакології та фармації. 2006;7:47-61.

7.Павлов СБ, Бабенко НМ, Кумечко МВ, Черних ЛВ, винахідники; Харківська медична академія післядипломної освіти, патентовласник. Спосіб оцінки агрегаційної активності тромбоцитів. Патент України № 77372. 2013 Лют 11.

8.Шараев ПН, Ботинкова ЕА, Иванова ВМ. Определение свободного и связанного оксипролина в моче. Лабораторное дело. 1990;12:23-5.

9.Лапач СН, Чубенко АВ, Бабич ПН. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. Киев: Морион; 2000. 320 с.

10.Материалы I Национального конгресса по биоэтике Общие этические принципы экспериментов на животных; 17-20 Сент Киев; Киев: НАНУ; 2001. 16 с.

References

1.Aranovich AM, Trofimova EV, Sashenkov SL. Trombocitarnyj gemostaz pri distrakcionnom osteosinteze [Thrombocytic hemostasis with distraction osteosynthesis]. Izvestija Cheljabinskogo nauchnogo centra. 2005;4(30):209-12. (in Russian).

2.Pavlov SB, Goncharova AV, Litvinova OB, Semko NG, Blazhko TA. Morfofunkcional'nye izmenenija soedinitel'noj tkani u krys s jeksperimental'noj patologiej pakreatoduodenal'noj oblasti [Morphofunctional changes in connective tissue in rats with experimental pathology of the pancreatoduodenal region]. Problemy bezperervnoi medychnoi osvity ta nauky. 2011;2:62-5. (in Russian).

3.Podkovkin VG, Ivanov DG, zajaviteli; Sposob stimuljacii kostnoj rezorbcii u laboratornyh zhivotnyh [Method of stimulation of bone resorption in laboratory animals]. Podkovin VG, patentoobladatel'. Patent Rossijskoj Federacii № 2384891. 2009 Nojab 20. (in Russian).

4.Levyts'kyi AP, Selyvans'ka IO, Makarenko OA, vynakhidnyky; Instytut stomatolohii AMN Ukrainy, patentovlasnyk. Sposib modeliuvannia hinhivitu [Method of modeling gingivitis]. Patent Ukrainy № 31011. 2008 Ber 25. (in Ukrainian).

5.Havrylov VO, Luzin VI, Haidash DI, Kopel'ian YeV, vynakhidnyky; Havrylov VO, Luzin VI, Haidash DI, Kopel'ian YeV, patentovlasnyky. Sposib modeliuvannia al'veolitu nyzhn'oi schelepy u laboratornykh tvaryn (schuriv) [Method of modeling of

mandibular alveolitis in laboratory animals (rats)]. Patent Ukrainy № 61486. 2011 Lyp 25. (in Ukrainian).

6.Reznikov OH, Soloviov AI, Dobrelia NV, Stefanov OV. Biotychna ekspertyza doklinichnykh ta inshykh naukovykh doslidzhen', scho vykonuiut'sia na tvarynakh [Biotic examination of preclinical and other scientific researches carried out on animals]: metod. rekom. Visnyk farmakolohii ta farmatsii. 2006;7:47-61. (in Ukrainian).

7.Pavlov SB, Babenko NM, Kumechko MV, Chernykh LV, vynakhidnyky; Kharkivs'ka medychna akademiia pisliadyplomnoi osvity, patentovlasnyk. Sposib otsinky ahrehatsiinoi aktyvnosti trombotsytiv [Method of evaluation of platelet aggregation activity]. Patent Ukrainy № 77372. 2013 Liut 11. (in Ukrainian).

8.Sharaev PN, Botinkova EA, Ivanova VM. Opredelenie svobodnogo i svjazannogo oksiprolina v moche [Determination of free and bound hydroxyproline in the urine]. Laboratornoe delo. 1990;12:23-5. (in Russian).

9.Lapach SN, Chubenko AV, Babich PN. Statisticheskie metody v mediko-biologicheskih issledovanijah s ispol'zovaniem Excel [Statistical methods in biomedical research using Excel]. Kiev: Morion; 2000. 320 s. (in Russian).

10. Materialy I Nacional'nogo kongressa po biojetike Obshhie jeticheskie principy jeksperimentov na zhivotnyh [General ethical principles of animal experiments]; 17-20 Sent Kiev; Kiev: NANU; 2001. 16 s. (in Russian).

Відомості про авторів:
Черемісіна В. Ф., кандидат медичних наук, доцент кафедри косметології та аромології Національного фармацевтичного університету, м. Харків (Україна)
Березнякова А. І., доктор медичних наук, професор кафедри патологічної фізіології Національного фармацевтичного університету, м. Харків (Україна)

Сведения об авторах:
Черемисина В. Ф., кандидат медицинских наук, доцент кафедры косметологии и аромологии Национального фармацевтического университета, г. Харьков (Украина)
Березнякова А. И., доктор медицинских наук, профессор кафедры патологической физиологии Национального фармацевтического университета, г. Харьков (Украина)

Information about author:
Cheremisina V. F., PhD, Assistant professor of the Department of Cosmetology and Aromology, National Pharmaceutical University, Kharkov (Ukraine)
Bereznyakova A. I., MD, Professor of the Department of Pathological Physiology, National Pharmaceutical University, Kharkov (Ukraine)

Стаття надійшла до редакції 20.10.2017
Рецензент – доц. Н.Б.Кузняк
© В. Ф. Черемісіна, А. І. Березнякова, 2017