

Оригінальні дослідження

УДК: 616.71-007.234-06.61-03676:61

ОСОБЛИВОСТІ ФУНКЦІОНУВАННЯ ТРОМБОЦИТАРНОЇ ЛАНКИ ГЕМОСТАЗУ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ МОДЕЛЮВАННІ ПАРОДОНТИТУ**В.Ф. Черемісіна, А.І. Березнякова**

Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна

Ключові слова:*пародонтит,
тромбоцити,
оксипролін.**Буковинський медичний вісник. Т.21, № 4 (84). С. 160-164***DOI:***10.24061/2413-0737.
XXI.4.84.2017.137***E-mail:***cheremishav@gmail.com***Мета дослідження** — виявити особливості функціонування судинно-тромбоцитарної ланки гемостазу при експериментальному пародонтиті.**Матеріал і методи.** Експериментальні маніпуляції проведено на білих нелінійних щурах-самцях масою $260,0 \pm 30,0$ г, у яких було викликано експериментальний пародонтит. Визначення сумарного, вільного та зв'язаного оксипроліну в сечі проводили за методикою П. Н. Шараєва. Аналіз агрегаційної кривої включає визначення таких показників: 1) ступеня агрегації — максимального % світлопропускання плазми; 2) часу досягнення максимальної швидкості агрегації — часу досягнення максимального % світлопропускання; 3) швидкості агрегації, яку розраховували через 30 с після початку агрегації тромбоцитів.**Результати.** Вивчення функціональної активності тромбоцитів у щурів з експериментальним пародонтитом виявило ознаки початку змін функцій тромбоцитарної ланки гемостазу. При пародонтиті в сполучній тканині пародонта і тромбоцитарній ланці гемостазу виявлені порушення метаболізму сполучної тканини, показником якого є рівень оксипроліну в сечі тварин.**Висновки.** При експериментальному пародонтиті виявлені чіткі зміни функціональної активності тромбоцитів. Паралельно зі зниженням функціональної активності тромбоцитів при пародонтиті знижується рівень у сечі всіх трьох фракцій оксипроліну. Одержані результати свідчать про спільність процесів, що відбуваються в крові та сполучній тканині та пов'язані із порушеннями метаболізму в ній, зниження синтезу та розпаду колагену.**Ключевые слова:***пародонтит,
тромбоциты,
оксипролин.**Буковинский медицинский вестник. Т.21, № 4 (84). С. 160-164***ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ТРОМБОЦИТАРНОГО ЗВЕНА ГЕМОСТАЗА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ МОДЕЛИРОВАНИИ ПАРОДОНТИТА****В. Ф. Черемисина, А. И. Березнякова****Цель исследования** — выявить особенности функционирования сосудисто-тромбоцитарного звена гемостаза при экспериментальном пародонтите.**Материал и методы.** Экспериментальные манипуляции проведены на белых нелинейных крысах-самцах массой $260,0 \pm 30,0$ г, в которых было вызвано экспериментальный пародонтит. Определение суммарного, свободного и связанного оксипролина в моче проводили по методике П. Н. Шараева. Анализ агрегационной кривой включал в себя определение следующих показателей: 1)

степени агрегации — максимального % светопропускания плазмы; 2) времени достижения максимальной скорости агрегации — времени достижения максимального % светопропускания; 3) скорости агрегации, которую рассчитывали через 30 с после начала агрегации тромбоцитов.

Результаты. Изучение функциональной активности тромбоцитов у крыс с экспериментальным пародонтитом выявило признаки начала изменений функций тромбоцитарного звена гемостаза. При пародонтите в соединительной ткани пародонта и тромбоцитарном звене гемостаза выявлены нарушения метаболизма соединительной ткани, показателем которого является уровень оксипролина в моче животных.

Выводы. При экспериментальном пародонтите обнаружены четкие изменения функциональной активности тромбоцитов. Параллельно со снижением функциональной активности тромбоцитов при пародонтите снижается уровень в моче всех трех фракций оксипролина. Полученные результаты свидетельствуют об общности процессов, происходящих в крови и соединительной ткани и связанные с нарушениями метаболизма в ней, снижение синтеза и распада коллагена.

Key words: periodontitis, platelets, oxyproline.

Bukovinian Medical Herald. V.21, № 4 (84). 135. P. 160-164

FEATURES OF FUNCTIONING OF TROMBOCYTIC LAYER OF HEMOSTASIS IN EXPERIMENTAL PARODONTITIS MODELING

V.F. Cheremisina, A.I. Berezniakova

The purpose of the study is to identify the peculiarities of the functioning of the vascular-thrombocyte linkage of hemostasis in the experimental periodontitis.

Material and methods. Experimental manipulations were performed on white nonlinear male rats weighing 260.0 ± 30.0 g, in which experimental periodontitis was induced. Determination of total, free and bound oxyproline in urine was carried out using the method of P.N. Sharaev. Analysis of the aggregation curve included the definition of such indicators: 1) the degree of aggregation — the maximum% of light transmission of the plasma; 2) time to achieve maximum aggregation rate — time to achieve maximum% light transmission; 3) the rate of aggregation, which was calculated 30 seconds after the beginning of platelet aggregation.

Results. Studying the functional activity of platelets in rats with experimental periodontitis revealed signs of changes in the functions of the platelet linkage hemostasis. In periodontitis in connective tissue periodontium and thrombocyte hemostasis, metabolic disorders of the connective tissue were revealed, which is the level of oxyproline in the urine of animals.

Conclusions. In the experimental periodontitis, clear changes in the functional activity of the platelets were detected. In parallel with the decrease in the functional activity of platelets in the periodontitis, the level of urine in all three oxyproline fractions is reduced. The obtained results testify to the commonality of processes occurring in the blood and connective tissue and associated with metabolic disorders in it, decrease in the synthesis and collagen collapse.

Оригінальні дослідження

Вступ. На теперішній час у науковій літературі широко обговорюється проблема загальних патогенетичних механізмів різних захворювань організму та порушень у кістковій системі. З'явилися дослідження з вивчення особливостей коморбідного перебігу атеросклерозу та інволютивного остеопорозу [1, 2]. Виявлено взаємозв'язок змін кальцієвого гомеостазу, функціональної активності тромбоцитів і ліпідного обміну, зумовлені віковими втратами кісткової маси [3]. Важливим фактором ризику стає несприятливий перебіг ішемічної хвороби серця при підвищенні агрегаційної здатності тромбоцитів та суттєвому зниженні мінеральної щільності кісткової тканини [4]. У зв'язку з цим АДФ-індукована агрегація розглядається дослідниками як показник найбільш залежний від рівня мінеральної щільності кісткової тканини та рекомендується для оцінки стану судинно-тромбоцитарної ланки гемостазу при ішемічній хворобі серця [4].

Мета дослідження. Виявити особливості функціонування судинно-тромбоцитарної ланки гемостазу при експериментальному пародонтиті.

Матеріал і методи. Експерименти проведено на двох групах білих нелінійних щурах-самцях масою $260,0 \pm 30,0$ г. Експериментальний пародонтит викликали за методом [5].

Визначення сумарного, вільного та зв'язаного оксипроліну в сечі проводили за методикою П. Н. Шараєва [6].

Кров для дослідження агрегації тромбоцитів брали шприцом із серця.

Індуковану агрегацію тромбоцитів досліджували з використанням комп'ютеризованого аналізатора агрегації тромбоцитів «SOLAR2110» (Білорусь). Як індуктор використовували аденозиндифосфат (АДФ) у концентрації 2,5, 5,0 та

10,0 мкмоль/л. Запис агрегатограм проводили при 37°C протягом 10 хв. Наступний аналіз агрегаційної кривої включав визначення таких показників: 1) ступеня агрегації — максимального % світлопропускання плазми; 2) часу досягнення максимальної швидкості агрегації — часу досягнення максимального % світлопропускання; 3) швидкості агрегації, яку розраховували через 30 секунд після початку агрегації тромбоцитів.

Оцінку агрегаційної активності тромбоцитів здійснювали за методом С. Б. Павлова [7].

Експериментальні маніпуляції проводили відповідно до принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин (Страсбург, 1986), «Загальними принципами експериментів на тваринах», схваленими I Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001) [8] та вимогами «Порядку проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах» (2012).

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

Результати дослідження та їх обговорення. Вивчення функціональної активності тромбоцитів у щурів з експериментальним пародонтитом виявило ознаки початку змін функцій тромбоцитарної ланки гемостазу. При концентрації індуктора агрегації 2,5 мкмоль/л ступінь агрегації тромбоцитів, час досягнення максимальної швидкості агрегації та швидкість агрегації у тварин практично не відрізнялись від параметрів контрольної групи тварин (табл. 1). При концентрації індуктора агрегації 5 мкмоль/л у щурів із пародонтитом всі параметри агрегації мали тенденцію до зниження, порівняно з такими у контрольних тварин (табл. 2). Вивчення параметрів функціональної актив-

Таблиця 1

Показники агрегації тромбоцитів у щурів з експериментальним пародонтитом при концентрації АДФ 2,5 мкмоль/л ($X \pm SX$, $n=20$)

Групи тварин	Показники агрегації		
	Ступінь агрегації, %	Час досягнення максимальної швидкості агрегації, с	Швидкість агрегації, %/хв
Контроль	$45,1 \pm 10,55$	$85,2 \pm 7,78$	$59,2 \pm 21,51$
Щури з пародонтитом	$41,6 \pm 8,73$	$81,9 \pm 9,31$	$66,2 \pm 9,44$

ності тромбоцитів при концентрації індуктора агрегації 10,0 мкмоль/л у тварин з пародонтитом показало, що всі параметри агрегації також знижувалися порівняно з показниками контрольної групи (табл. 3).

Дослідження рівня оксипроліну в сечі щурів при пародонтиті виявило зниження всіх трьох фракцій оксипроліну – сумарного, вільного та зв'язаного ($p < 0,05$) (рис.).

Таким чином, при пародонтиті в сполучній

Таблиця 2

Показники агрегації тромбоцитів у щурів з експериментальним пародонтитом при концентрації АДФ 5,0 мкмоль/л ($X \pm SX$, n=20)

Групи тварин	Показники агрегації		
	Ступінь агрегації, %	Час досягнення максимальної швидкості агрегації, с	Швидкість агрегації, %/хв
Контроль	80,4±9,26	132,7±8,08	107,4±10,41
Щури з пародонтитом	61,6±7,65	105,6±10,61	87,1±7,54

тканині пародонта і тромбоцитарній ланці гемостазу виявлені порушення метаболізму сполучної тканини, показником якого є рівень оксипроліну в сечі тварин [10]. Можливо, зниження рівня всіх фракцій оксипроліну свідчить про уповільнення в ній обмінних процесів. Найбільше зниження концентрації спостерігали у білковозв'язаного оксипроліну, що вказує на зниження процесів синтезу. А зменшення показників вільного окси-

проліну означало уповільнення і процесів розпаду колагену сполучної тканини. Вірогідно, це пов'язано з виснаженням його кількості. Морфологічна верифікація кісткової тканини пародонта підтверджує це припущення. Зниження функціональної активності тромбоцитів при пародонтиті зумовлене спільністю та взаємозв'язком процесів, які відбуваються в крові та сполучній тканині.

Таблиця 3

Показники агрегації тромбоцитів у щурів з експериментальним пародонтитом при концентрації АДФ 10,0 мкмоль/л ($X \pm SX$, n=20)

Групи тварин	Показники агрегації		
	Ступінь агрегації, %	Час досягнення максимальної швидкості агрегації, с	Швидкість агрегації, %/хв
Контроль	90,5±6,22	202,5±4,64	108,5±11,24
Щури з пародонтитом	85,4±8,91	178,4±18,62	91,4±9,73

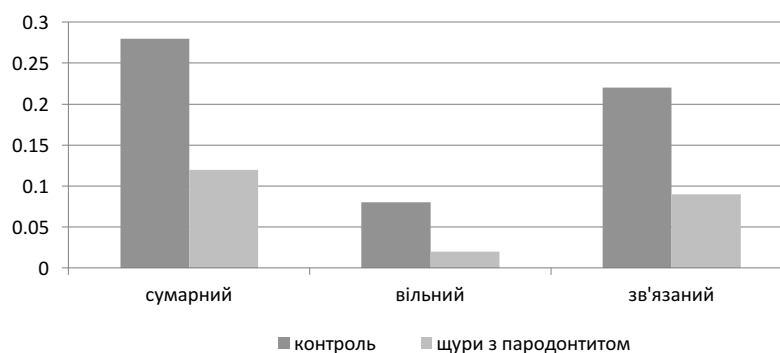


Рис. Рівень фракцій оксипроліну у щурів з пародонтитом (мг/л)

Висновки

1. При експериментальному пародонтиті виявлені чіткі зміни функціональної активності тромбоцитів: при всіх концентраціях індуктора агрегації (АДФ у дозі 2,5 мкмоль/л, 5,0 та 10,0 мкмоль/л) знижується ступінь та швидкість агрегації, а також час досягнення максимальної

швидкості агрегації.

2. Паралельно зі зниженням функціональної активності тромбоцитів при пародонтиті знижується рівень у сечі всіх трьох фракцій оксипроліну: сумарного, вільного та зв'язаного.

3. Одержані результати свідчать про спільність процесів, що відбуваються в крові та сполучній

Оригінальні дослідження

тканині та пов'язані з порушеннями метаболізму в ній, зниження синтезу та розпаду колагену.

Список літератури

1. Майчук ЕЮ, Юрєнева СВ, Митрохіна ТВ. Развитие атеросклероза и остеопороза у женщин. Проблемы женского здоровья. 2010;5(3):51-5.
2. Marini F, Brandi ML. Genetic determinants of osteoporosis: common bases to cardiovascular diseases. Int. J. Hypertens. 2010;25:210-5.
3. Шехтман АГ, Брылякова СН. Изменения некоторых показателей системы гемостаза в зависимости от выраженности потери костной массы у пожилых пациентов. Геронтология и гериатрия. 2004;3:167-9.
4. Захарова НО, Яковлев ОГ, Брыляков СН. Агрегационная функция тромбоцитов у лиц старших возрастных групп с ишемической болезнью сердца на фоне старческого остеопороза. Клиническая геронтология. 2003;9(4):23-5.
5. Пешкова ЛВ. Спонтанное поражение тканей пародонта у крыс в условиях вивария, как модель пародонтита. Вісник стоматології. 1997;2:163-8.
6. Шараев ПН, Ботинкова ЕА, Иванова ВМ. Определение свободного и связанного оксипролина в моче. Лаб. дело. 1990;12:23-5.
7. Павлов СБ, Бабенко НМ, Кумечко МВ, Черних ЛВ. Спосіб оцінки агрегаційної активності тромбоцитів. Пат. 77372 Україна, МПК 601N33/86 (2006.01). 11.02.2013;3:3-4.
8. Общие этические принципы экспериментов на животных: материалы I Национального конгресса по биоэтике. К: НАНУ. 2001; 16.
9. Гублер ЕВ, Генкин АА. Применение непараметрических критериев статистики в медико-биологических исследованиях. Л: Медицина. 1973; 141.
10. Мазуров ВИ. Биохимия коллагеновых белков. Москва. 1974; 220.

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 the authors:

Cheremisina V. F. — PhD, Assistant Professor of the Department of Cosmetology and Aromology, National Pharmaceutical University, Kharkiv (Ukraine).

Berezniakova A. I. — MD, Professor of the Department of Pathological Physiology, National Pharmaceutical University, Kharkiv (Ukraine).

References

1. Maychuk EYu, Yureneva SV, Mitrokhina TV. Razvitiye ateroskleroza i osteoporozu u zhenshchin. Problemy zhenskogo zdorov'ya. 2010;5(3):51-5. (in Russian).
2. Marini F, Brandi ML. Genetic determinants of osteoporosis: common bases to cardiovascular diseases. Int. J. Hypertens. 2010;25:210-5.
3. Shekhtman AG, Brylyakova SN. Izmeneniya nekotorykh pokazateley sistemy gemostaza v zavisimosti ot vyrashennosti poteri kostnoy massy u pozhilykh patsientov. Gerontologiya i geriatriya. 2004;3:167-9. (in Russian).
4. Zakharova NO, Yakovlev OG, Brylyakov SN. Agregatsionnaya funktsiya trombotsitov u lits starshikh vozrastnykh grupp s ishemicheskoy bolezn'yu serdtsa na fone starcheskogo osteoporozu. Klinicheskaya gerontologiya. 2003;9(4):23-5. (in Russian).
5. Peshkova LV. Spontannoe porazhenie tkaney parodontu u kryс v usloviyakh vivariya, kak model' parodontita. Visnik stomatologii. 1997;2:163-8. (in Russian).
6. Sharaev PN, Botinkova EA, Ivanova VM. Opredelenie svobodnogo i svyazannogo oksiprolina v moche. Lab. delo. 1990;12:23-5. (in Russian).
7. Pavlov SB, Babenko NM, Kumechko MV, Chernykh LV. Sposib otsinky ahrehatsiinoi aktyvnosti trombotsytiv. Pat. 77372 Ukraina, MPK 601N33/86 (2006.01). 11.02.2013;3:3-4. (in Ukrainian).
8. Obshchie eticheskie printsipy eksperimentov na zhivotnykh: materialy I Natsional'nogo kongressa po bioetike. K: NANU. 2001;16. (in Russian).
9. Gubler EV, Genkin AA. Primeneniye neparametricheskikh kriteriev statistiki v mediko-biologicheskikh issledovaniyakh. L.: Meditsina. 1973; 141. (in Russian).
10. Mazurov VI. Biokhimiya kollagenovykh belkov. Moskva. 1974; 220. (in Russian).

Надійшла до редакції 31.10.2017

Рецензент – проф. Давиденко І.С.

© В.Ф. Черемісіна, А.І. Березнякова, 2017