

Artificially caused hepatopankreas's pathology of river crayfish

N.Yu. Koryagina, G.I. Pronina, A.O. Revyakin, O.I. Stepanova,
O.V. Baranova, G.D. Kapanadze, I.Yu. Menshikov

The injection of alloxan in a dose of 100 mg/kg in a ventral sine of river crayfish leads to violation of structure of R-cages of hepatopankreas. The increase of glucose content in a hemolymph is noted.

Key words: pathology modeling, river crayfish, hepatopankreas, alloxan ($C_4H_2N_2O_4$).

Влияние мелаксена на функциональную активность тромбоцитов в условиях экспериментальной гипо- и гиперагрегации

Е.Н. Лазарева, Х.М. Галимзянов, М.А. Самотруева

ГБОУ ВПО «Астраханская государственная медицинская академия» Минздравсоцразвития России

Контактная информация: Лазарева Елена Николаевна, elniklazareva@yandex.ru

В работе представлены данные, полученные при экспериментальном изучении регулирующего действия синтетического аналога мелатонина — мелаксена — на процессы функционирования тромбоцитов в условиях их гипо- и гиперагрегации. Гипоагрегационную модель нарушений функции тромбоцитов индуцировали введением ацетилсалициловой кислоты (регос в дозе 20 мг/кг). Гиперагрегация была вызвана внутрибрюшинным введением 0,1 мл 10% раствора кальция хлорида. Изучали активность мелаксена при применении в дозах 1 мг/кг и 10 мг/кг. Установлено, что мелаксен в дозе 1 мг/кг обладает корректирующей способностью, уменьшая формирующиеся в условиях экспериментальной гипо- и гиперагрегации нарушения функциональной активности тромбоцитов.

Ключевые слова: мелаксен, тромбоциты, нарушения гемостаза, ацетилсалициловая кислота, кальция хлорид.

Введение

Одним из ключевых механизмов гемостаза является сбалансированное функционирование тромбоцитов, где повышение их агрегационной способности может спровоцировать усиление тромбообразования, а снижение — развитие геморрагического синдрома [4].

Многочисленными экспериментальными и клиническими данными показано, что гиперагрегация тромбоцитов имеет причинно-следственную связь с развитием таких тяжелых патологических состояний как инфаркт миокарда, нарушения мозгового кровообращения, сахарный диабет, гипертоническая болезнь и др.,

при прогрессировании которых нарастает гиперкоагуляция крови и депрессия фибринолиза. В настоящее время профилактические и терапевтические подходы к вышеуказанным заболеваниям базируются на применении таких антиагрегантов как пентоксифиллин, тиклопедин, ацетилсалициловая кислота и др. Однако широко известно, что недостатком этих препаратов являются геморрагические осложнения, тромбоцитопения и лейкопения, агранулоцитоз, выраженные аллергические реакции, а также невозможность использования при выраженном склерозе коронарных сосудов и сосудов мозга, при обострении язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки, заболеваниях печени и др. [5]. Кроме того, важно отметить тот факт, что при длительном применении этих средств возможно развитие к ним толерантности с последующей активацией процессов тромбообразования [10, 11].

Причиной геморрагических осложнений является пониженная агрегационная способность тромбоцитов, формирующаяся нередко на фоне применения препаратов с антиагрегационной активностью. В практической медицине также существуют способы их устранения, применение которых оправдано при наличии выраженной клинической симптоматики геморрагического синдрома. Так, например, использование тромбоконцентрата направлено на восполнение тромбоцитов в кровяном русле; применение таких препаратов как адроксон и дицинон, обладающих антигиперфибринолитической активностью, сопровождается стимуляцией образования тромбопластина [8].

Принимая во внимание вышесказанное, становится очевидным, что большинство препаратов, влияющих на функциональную активность тромбоцитов, имеют

однонаправленное действие. В связи с чем, актуальными являются работы, направленные на расширение арсенала препаратов, обладающих способностью регулировать агрегационные свойства тромбоцитов в зависимости от направленности нарушений в системе гемостаза.

В последнее время в литературе стали появляться многочисленные данные о ведущей роли мелатонина как регулятора большинства биологических процессов в организме [1, 2]. Интерес вызывают работы, свидетельствующие о важной роли данного эпифизарного гормона в регуляции тромбоцитарного звена гемостаза как при физиологических, так и патологических состояниях организма. Так, Ю.И. Редькиным с соавт. (2004) в эксперименте на крысах-самцах был обнаружен дозозависимый эффект мелатонина в отношении тромбоцитарного звена гемостаза при травматической болезни. Однократное введение мелатонина в дозе 10 мг/кг вызывало увеличение количества тромбоцитов и повышение их агрегационной функции. При регулярном введении мелатонина из расчета 0,1 мг/кг наблюдалось снижение тромбоцитоза и усиление процессов дезагрегации [9]. В исследованиях М. Todisco и N. Rossi (2002) описано положительное влияние мелатонина у больных с идиопатической тромбоцитарной пурпурой. При ежедневном приеме физиологической дозы гормона в течение 3-х мес. у пациентов была достигнута ремиссия на 3 года [12].

В связи с вышесказанным, представляется целесообразным изучение влияния мелатонина на функциональное состояние кровяных пластинок при патологии системы гемостаза. **Целью** данного исследования являлось экспериментальное изучение регулирующего действия синтетического аналога мелатонина — мелак-

сена — на процессы функционирования тромбоцитов в условиях их гипо- и гиперагрегации.

Материалы и методы

Эксперимент проводили на 96 белых нелинейных крысах обоего пола в возрасте 5-7 мес. и массой 200 г, полученных из питомника ГБОУ ВПО «Астраханская государственная медицинская академия». В группах самцы и самки были распределены поровну. Исследование проводили в осенне-зимний период; животные содержались в стандартных условиях вивария и были синхронизированы по питанию при свободном доступе к воде. Следует подчеркнуть, что животные находились в условиях чередования естественного и искусственного освещения для блокирования синтеза эндогенного мелатонина и влияния его на гемостаз. На момент проведения исследования самки находились в стадии диэструса. Гипоагрегационную модель нарушений функции тромбоцитов индуцировали введением ацетилсалициловой кислоты (per os в дозе 20 мг/кг), которая способна необратимо блокировать циклооксигеназный путь синтеза тромбоксана, тем самым вызывая стойкую дезагрегацию тромбоцитов. Гиперагрегация была вызвана внутрибрюшинным введением 0,1 мл 10% раствора кальция хлорида. Мелаксен (ЮНИ-ФАРМ, США) вводили per os в течение 7 сут, однократно. Животные были разделены на группы (n=8): контрольная группа (эквивалентный объем 0,9% раствора натрия хлорида); группы «негативного» контроля (животные с моделью гипо- или гиперагрегации); группы «позитивного» контроля (мелаксен в дозах 1 и 10 мг/кг); опытные группы были сформированы из животных с моделью гипо- или гиперагрегации, получавших мелаксен в дозах

1 или 10 мг/кг. Особенности распределения животных по группам представлены в таблицах 1 и 2.

Особенности функционирования тромбоцитов изучали на основании показателей гемолизат-агрегационного теста (ГАТ): агрегационная активность одного тромбоцита (ААТ) в максимальной (-2) и минимальной (-6) дозе гемолизата как индуктора АДФ-агрегации тромбоцитов; индекс активации тромбоцитов (ИАТ) [3].

Исследование проводили в соответствии с существующими международными этическими и научными стандартами качества планирования и проведения исследований на животных [7]. Статистическую обработку результатов исследования осуществляли с помощью пакетов программ: Microsoft Office Excel 2007, BIOSTAT 2008 Professional 5.1.3.1; с использованием t-критерия Стьюдента с поправкой Бонферрони [6]. Статистически значимыми считали результаты при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

При анализе параметров гемолизат-агрегационного теста в группе животных, получавших мелаксен, было выявлено, что на фоне введения препарата в дозах 1 и 10 мг/кг происходило незначительное снижение количества тромбоцитов относительно контроля, однако уровень активных тромбоцитов не изменялся (см. табл. 1 и 2), что свидетельствует об отсутствии влияния препарата при неизменной активности системы гемостаза. Хотелось бы отметить результаты, которые мы получили в условиях экспериментальной индукции патологии системы гемостаза.

Как видно из данных, представленных в табл. 1, введение ацетилсалициловой кислоты не сопровождалось снижением количества тромбоцитов, однако их агре-

гационная активность была полностью «заблокирована», что проявлялось выраженным снижением показателей, отражающих агрегационную активность одного тромбоцита, а также индекса активации тромбоцитов. На фоне введения мелаксена животным с явлениями «аспириновой» гипоагрегации отмечалась активация функционирования тромбоцитов, при этом значимых изменений в количестве тромбоцитов не наблюдали. Под влиянием мелаксена в дозе 1 мг/кг дезагрегационное действие ацетилсалициловой кислоты уменьшалось: агрегация тромбоцитов была восстановлена на фоне введения как высоких, так и низких доз АДФ, при этом в условиях применения ААТ(-6) агрегационная активность практически достигала параметров «нормы» у контрольной группы животных (см. табл. 1).

Применение мелаксена в дозе 10 мг/кг также не сопровождалось значимыми изменениями количества тромбоцитов, но при этом их агрегационная способность, несмотря на введение ацетилсалициловой кислоты, сохранялась. Показатели функциональной активности тромбоцитов в опытной группе достоверно приближались к значениям контрольной группы (см. табл. 1).

Уровень активных тромбоцитов у животных, получавших мелатонин в исследуемых дозах на фоне ацетилсалициловой кислоты, возрастал практически в 1,5 раза, отмечено увеличение показателей не только относительно группы животных с экспериментальной патологией, но и по сравнению с контрольными значениями (табл. 1).

Таблица 1

Влияние мелаксена на функциональную активность тромбоцитов
в условиях экспериментальной гипоагрегации

Показатели ГАТ Группы животных	Количество тромбоцитов ($M \pm m$, $\times 10^{12}/л$)	ААТ(-2) ($M \pm m$, %)	ААТ (-6) ($M \pm m$, %)	ИАТ ($M \pm m$)
Контроль: физ.раствор ($n = 8$)	$852,0 \pm 53,1$	$150,6 \pm 18,2$	$308,0 \pm 22,7$	$2,6 \pm 0,31$
Ацетилсалициловая кислота (20 мг/кг) ($n = 8$)	$766,0 \pm 49,5$	0***	0***	0***
Мелаксен (1 мг/кг) ($n = 8$)	$720 \pm 21,8^*$	$171,0 \pm 28,1$	$294,5 \pm 30,5$	$2,3 \pm 0,31$
Ацетилсалициловая кислота (20 мг/кг) + Мелаксен (1 мг/кг) ($n = 8$)	$1007,2 \pm 7,1^{\diamond\diamond\#}$	$72,0 \pm 12,0^{***}$	$275,9 \pm 36,7^{***}$	$4,6 \pm 0,62^{**\#\#\diamond}$
Мелаксен (10 мг/кг) ($n = 8$)	$810,0 \pm 45,6$	$179,4 \pm 26,4$	$298,2 \pm 24,9$	$2,5 \pm 0,27$
Ацетилсалициловая кислота (20 мг/кг) + Мелаксен (10 мг/кг) ($n = 8$)	$978,6 \pm 61,6$	$159,5 \pm 19,2^{***}$	$351,0 \pm 24,1^{***}$	$4,0 \pm 0,16^{****\#\diamond}$

Примечание: ГАТ — гемолизат-агрегационный тест; ААТ(-2) — агрегационная активность тромбоцита при максимальной дозе АДФ; ААТ(-6) — агрегационная активность тромбоцита при минимальной дозе АДФ; ИАТ — индекс активации тромбоцитов.

* — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$; *** — $p < 0,001$ степень достоверности относительно контроля;

— $p < 0,05$; ## — $p < 0,01$; ### — $p < 0,001$ степень достоверности относительно животных, получавших ацетилсалициловую кислоту;

◇ — $p < 0,05$; ◇◇ — $p < 0,01$; ◇◇◇ — $p < 0,001$ степень достоверности относительно животных, получавших мелаксен.

Анализ результатов гемолизат-агрегационного теста в группе животных, получавших кальция хлорид, подтвердил формирование экспериментальной модели гиперагрегации, проявляющейся выраженным увеличением агрегационной активности тромбоцитов независимо от дозы индуктора. Данные изменения, вероятно, обусловлены увеличением притока Ca^{2+} в тромбоциты, при этом количество их активных форм не изменялось (ИАТ). У животных опытной группы под влиянием мелаксена, применяемого в дозе 1 мг/кг, на фоне достоверного повышения количества тромбоцитов и увеличения

активных форм, их агрегационная способность под влиянием высоких доз АДФ достоверно снижалась, практически достигая контрольных значений (табл. 2).

Под влиянием мелаксена, применяемого в дозе 10 мг/кг, у животных с гиперагрегационной моделью нарушения гемостаза активность тромбоцитов не восстанавливалась. Следует отметить, что на фоне применения минимальных доз АДФ мелаксен в дозе 10 мг/кг еще в большей степени «простимулировал» агрегационную активность тромбоцитов. Индекс активации тромбоцитов во всех группах практически не изменялся (табл. 2).

Таблица 2

Влияние мелаксена на функциональную активность тромбоцитов в условиях экспериментальной гиперагрегации

Показатели ГАТ Группы животных	Количество тромбоцитов ($M \pm m$, $\times 10^{12}/л$)	ААТ(-2) ($M \pm m$, %)	ААТ (-6) ($M \pm m$, %)	ИАТ ($M \pm m$)
Контроль: физ.раствор ($n = 8$)	852,0 $\pm$ 53,1	150,6 $\pm$ 18,2	308,0 $\pm$ 22,7	2,6 $\pm$ 0,31
Кальция хлорид (0,1 мл 10% раствор) ($n = 8$)	904,6 $\pm$ 67,3	236,3 $\pm$ 24,1**	421,6 $\pm$ 19,9**	2,3 $\pm$ 0,12
Мелаксен (1 мг/кг) ($n = 8$)	720,0 $\pm$ 21,8	171,0 $\pm$ 28,1	294,5 $\pm$ 30,5	2,3 $\pm$ 0,31
Кальция хлорид (0,1 мл 10% раствор) + Мелаксен (1 мг/кг) $n = 8$	1091,0 $\pm$ 13,6	170,1 $\pm$ 19,0 #	385,7 $\pm$ 14,8	3,1 $\pm$ 0,17***
Мелаксен (10 мг/кг) ($n = 8$)	810,0 $\pm$ 45,6	179,4 $\pm$ 26,4	298,2 $\pm$ 24,9	2,5 $\pm$ 0,27
Кальция хлорид (0,1 мл 10% раствор) + Мелаксен (10 мг/кг) ($n = 8$)	888,0 $\pm$ 55,2	238,1 $\pm$ 17,3**	487,3 $\pm$ 16,4* #	2,1 $\pm$ 0,19

Примечание: ГАТ — гемолизат-агрегационный тест; ААТ(-2) — агрегационная активность тромбоцита при максимальной дозе АДФ; ААТ(-6) — агрегационная активность тромбоцита при минимальной дозе АДФ; ИАТ — индекс активации тромбоцитов.

* — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$; *** — $p < 0,001$ степень достоверности относительно контроля;
— $p < 0,05$; ## — $p < 0,01$; ### — $p < 0,001$ степень достоверности относительно животных, получавших кальция хлорид;
◇ — $p < 0,05$; ◇◇ — $p < 0,01$; ◇◇◇ — $p < 0,001$ степень достоверности относительно животных, получавших мелаксен.

Таким образом, анализ результатов гемолизат-агрегационного теста, полученных при изучении дозозависимого влияния мелаксена на функциональную активность тромбоцитов, показал, что мелаксен в дозе 1 мг/кг обладает корректирующей способностью, уменьшая формирующиеся в условиях экспериментальной гипо- и гиперагрегации нарушения гемостаза. Так, при введении препарата в указанной дозе на фоне «аспириновой» гипоагрегации уменьшается дезагрегационный эффект ацетилсалициловой кислоты; в условиях «кальциевой» гиперагрегации мелаксен, напротив, снижает агрегационную активность тромбоцитов. Данное исследование после проведения работ по изучению клинической эффективности мелаксена в указанных условиях позволит оптимизировать фармакотерапию состояний, сопровождающихся нарушениями со стороны системы гемостаза.

Список литературы

1. **Арушанян Э.Б., Бейер Э.В.** Мелатонин и система крови // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2006. № 3. С. 74-79.
2. **Арушанян Э.Б., Бейер Э.В., Масягина О.А., Масягин С.С., Сидоренко Ж.И.** Влияние мелатонина на некоторые гематологические показатели у здоровых людей // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2006. № 5. С. 36-38.
3. **Баркаган Л.З., Архипова Б.Ф., Куческого В.М.** Медицинские лабораторные технологии // Рук-во по клинической лабораторной диагностике / Под ред. А.И. Карпищенко. СПб.: Интермедика. 1999. 656 с.
4. **Баркаган З.С., Момонт А.П.** Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. Издание 2-е дополненное. М.: Ньюдиамед. 2001. 296 с.
5. **Белоусов Ю.Б., Леонова М.В., Белоусов Д.Ю.** Основы клинической фармакологии и рациональной фармакотерапии / Рук-во для практикующих врачей // Под ред. Ю.Б. Белоусова, М.В. Леоновой. М.: Бионика. 2002. 368 с.
6. **Гланц С.** Медико-биологическая статистика. М.: Практика. 1999. 459 с.
7. **Курзанов А.Н.** Экспериментальные исследования в ракурсе биоэтики // Вестник Международной академии наук. 2007. № 1. С. 7-13.
8. **Михайлов И.Б.** Настольная книга врача по клинической фармакологии / Рук-во для врачей. СПб: Фолиант. 2001. 736 с.
9. **Редькин Ю.В., Лысенко А.С., Голевцова З.Ш., Лобов В.В.** Влияние мелатонина на тромбоцитарный гемостаз при травматической болезни // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2004. № 4. С. 41-43.
10. **Chen W., Lee P., Ng W.** Aspirin resistance is associated with a high incidence of myonecrosis after non-urgent percutaneous coronary intervention despite clopidogrel pretreatment // J. Am. Coll. Cardiol. 2004. Vol. 43. P. 1122-1126.
11. **Dalen J.E.** Aspirin Resistance: Is it Real? Is it Clinically Significant? // Am. J. Med. 2007. Vol. 120. № 1. P. 1-4.
12. **Todisco M., Rossi N.** Melatonin for refractory idiopathic thrombocytopenic purpura: a report of 3 cases // Am. J. Ther. 2002. Vol. 9. P. 524-526.

The influence of melaxen on the function of thrombocytes in the experimental hypo- and hyperaggregation

E.N. Lazareva, Kh.M. Galimzyaynov, M.A. Samotrueva

The work presents the data which were obtained in the experimental study of the regulatory action of the synthetic analog of melatonin – melaxen – on the functioning of the thrombocytes under conditions of hypo- and hyperaggregation. Hypoaggregation's model of the thrombocytes dysfunction induced by introduction of acetylsalicylic acid (per os in dose of 20 mg/kg). Hyperaggregation was caused by the intraperitoneal injection of 0.1 ml of a 10% solution of calcium chloride. We studied the activity of melaxen in doses of 1 mg/kg and 10 mg/kg. In our experimental work was found that melaxen in dose 1 mg/kg has correcting capability, reducing dysfunction of the thrombocytes which formed in experimental hypo- and hyperaggregation.

Key words: melaxen, thrombocytes, disruption of homeostasis, acetylsalicylic acid, calcium chloride.

Особенности организменного ответа мышей разных линий на острое гамма-облучение

Ю.С. Медведева¹, Е.Н. Архипова¹, И.Б. Алчинова¹, М.А. Озерова²,
А.С. Бобе¹, Ц.Ц. Содбоев², А.А. Антипов², М.Ю. Карганов¹

¹ – ФГБУ «НИИ Общей патологии и патофизиологии» РАМН, Москва

² – ФГОУ ВПО Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии им. К.И. Скрябина, Москва

Контактная информация: д.б.н., проф. Карганов Михаил Юрьевич, mkarganov@mail.ru

Действие ионизирующего излучения приводит к истощению пула стволовых клеток, увеличивает нагрузку на дифференцированные клетки, в результате усиливаются процессы репарации и апоптоза. Наряду с хорошо документированными острыми эффектами, радиотерапия приводит и к отсроченным, проявляющимся спустя годы после успешного лечения. Целью нашей работы было формирование и апробация комплекса тестов для определения последствий облучения с учетом различной радиочувствительности организма. Наблюдали общий сдвиг вклада в светорассеяния в сторону более мелких частиц у линий 101/Hf и C3H/Sn, тогда как у мышей линии C57BL отмечали увеличение доли частиц большого диаметра. Гистологическое исследование показало, что в печени мышей линии C57BL, в отличие от других линий, отмечается уменьшение частоты встречаемости тяжелых повреждений к окончанию эксперимента. Такая же тенденция у этой линии обнаружена в ткани поджелудочной железы, а противоположная – в ткани селезенки. Таким образом, мыши линии C57BL реагируют на облучение намного позже, чем линии 101/Hf и C3H/Sn, при этом их адаптивность достаточно высока. Животные линии C3H/Sn лучше всех выходят из радиационного кризиса.

Ключевые слова: облучение, межлинейные различия, лазерная корреляционная спектроскопия.

Современный уровень развития технологий заставляет все чаще рассматривать индивидуальные особенности реакций организма на воздействие экстремаль-

ных факторов. Ответом на любое экстремальное воздействие является активация общих систем адаптации, однако скорость их развития, степень экспрессии,