

В.І. Швець, Р.І.Янчій

Вплив тканин судинної стінки на функціональну активність тромбоцитів щурів при водно-сольовому навантаженні

За умов in vitro показано, що тромбоцити щурів, які отримували сольове (3%-й розчин натрію хлориду) навантаження, володіють, порівняно з інтактними щурами і щурами, котрим проводили водне навантаження, найменшою функціональною активністю, особливо на фоні додавання до інкубаційного середовища тканини судинної стінки.

ВСТУП

Роль ендотелію в регуляції тонуусу судинної стінки добре відома [7, 8]. Ендотеліальні клітини, що вистилають кровоносні судини, формують функціонально активний бар'єр між кров'ю і тканинами та беруть безпосередню участь у процесах запалення, ангиогенезу, атеросклерозу тромбогенезу тощо [2]. Дещо менше з'ясоване питання щодо ролі факторів судинного ендотелію в регуляції агрегатного стану крові при змінах водно-сольового гомеостазу. Відомо, що тривале застосування високосольової дієти супроводжується зменшенням продукції ендотелієм оксиду азоту [12] та пригніченням ендотеліозалежного розслаблення судин [10]. Зазначені зміни, як недавно показано [1], зумовлені значними порушеннями електрофізіологічних властивостей ендотеліоцитів і істотним пригніченням амплітуди та тривалості їх гіперполяризації у відповідь на дію активаторів даного процесу. До того ж сольове навантаження супроводжується підвищенням адгезивних якостей клітин крові. Водночас навіть фізіологічна водна депривація здатна суттєво впливати на реологічні властивості крові, що потребує відповідних адаптаційних

змін з боку систем як первинного, так і вторинного гемостазу.

Метою нашої роботи було дослідити in vitro вплив ендотеліально-гладеньком'язового комплексу судинної стінки щурів, які отримували короткочасне водне або сольове навантаження, на адгезивно-агрегаційні властивості тромбоцитів.

МЕТОДИКА

Водне (водогінна вода) та сольове (3%-й розчин натрію хлориду) навантаження статевозрілим самцям білих щурів (по 10 тварин у кожній групі) масою 0,14–0,16 кг проводили в об'ємі 5 % від маси тіла металевим зондом у шлунок. Через 2 год під нембуталовим наркозом (40 мг/кг маси тіла) у щурів забирали кров з черевної аорти силіконованим шприцом, який містив 3,8%-й розчин натрію цитрату. Збагачену тромбоцитами плазму крові отримували центрифугуванням при 1000 хв⁻¹ упродовж 5 хв. По 0,5 мл плазми від кожної тварини переливали в дві комірочки планшета. В одну з них додавали три кільця (товщиною 1 мм) черевної аорти тієї самої тварини. Планшет струшували на приладі марки "Vortex" (Франція) впродовж 30 с з частотою 100 Гц.

© В.І. Швець, Р.І.Янчій

Контрольну групу склали 10 статевозрілих інтактних щурів, які отримували стандартний раціон харчування при вільному доступі до води.

Функціональну активність тромбоцитів визначали за відсотком адгезивних тромбоцитів [5] та за індексом їх спонтанної агрегації [11].

Статистичну обробку отриманих результатів проводили з визначенням критерію *t* Стьюдента за допомогою програми "BioStat" [2].

У роботі з дослідними тваринами були дотримані Міжнародні принципи Європейської конвенції з біоетики (Страсбург, 1985 р.).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Результати дослідження наведено у таблиці. У контрольній групі тварин помітного впливу тканини судинної стінки на функціональну активність тромбоцитів встановлено не було: відсоток адгезивних тромбоцитів та індекс їх спонтанної агрегації після інкубації плазми при наявності кілець

черевної аорти не змінювався.

Тромбоцити щурів, які отримували водне навантаження, характеризувалися більш високою агрегаційною здатністю: індекс їх спонтанної агрегації перевищував контроль на 39,8 % ($P < 0,01$), що не змінювалось у разі додавання до системи тканини судинної стінки. Більше того, при наявності останньої достовірно підвищувався відсоток адгезивних тромбоцитів, який перевищував контрольні значення на 62,3 % ($P < 0,05$).

Функціональна активність тромбоцитів щурів, які отримували сольове навантаження, достовірно не відрізнялася від контролю. Проте при наявності судинної стінки спостерігалось різке зниження відносно контролю як відсотка адгезивних тромбоцитів (у 2,4 раза), так й індексу їх спонтанної агрегації (на 44,7 %, $P < 0,01$). Відповідно відмічено зменшення зазначених показників у порівнянні з такими при інкубації без додавання тканини судинної стінки в 2,1 раза ($P < 0,001$) та на 35,2 % ($P < 0,02$). При порівняльному аналізі функціональної активності тромбоцитів щурів, які отримували

Вплив тканин судинної стінки щурів, які отримували водне та сольове навантаження, на функціональну активність тромбоцитів у системі *in vitro* ($\bar{x} \pm Sx$; $n = 10$)

Показник	Контроль, $n=10$		Водне навантаження, $n=10$		Сольове навантаження, $n=10$	
	Без тканини судинної стінки	З додаванням тканини судинної стінки	Без тканини судинної стінки	З додаванням тканини судинної стінки	Без тканини судинної стінки	З додаванням тканини судинної стінки
Відсоток адгезивних тромбоцитів, %	$3,78 \pm 0,40$	$3,34 \pm 0,38$	$4,83 \pm 0,68$	$5,42 \pm 0,77$	$2,92 \pm 0,49$	$1,37 \pm 0,18$
				$P < 0,05$	$P_2 < 0,05$	$P < 0,001$
						$P_1 < 0,01$
						$P_2 < 0,001$
Індекс спонтанної агрегації тромбоцитів, %	$35,78 \pm 3,29$	$34,55 \pm 3,50$	$50,01 \pm 4,28$	$54,76 \pm 4,63$	$29,47 \pm 2,80$	$19,11 \pm 2,52$
			$P < 0,02$	$P < 0,01$	$P_2 < 0,001$	$P < 0,01$
						$P_1 < 0,02$
						$P_2 < 0,001$

Примітки: P – ступінь достовірності різниць показників відносно контролю; P_1 – ступінь достовірності показників у системах без судин і з додаванням судинної тканини; P_2 – ступінь достовірності різниць показників при водному і сольовому навантаженні

вали водне та сольове навантаження, виявилось, що відсоток адгезивних тромбоцитів та індекс їх спонтанної агрегації на 39,5 % ($P < 0,05$) та 41,1 % ($P < 0,001$) відповідно менші в разі введення щурям 3%-го розчину натрію хлориду навіть без наявності в інкубаційній системі кілець черевної аорти. У разі наявності тканини судинної стінки адгезивна й агрегаційна здатність тромбоцитів при сольовому навантаженні була в 4,0 ($P < 0,001$) і 2,9 ($P < 0,001$) рази відповідно нижчою, ніж у щурів, яким проводили навантаження водогінною водою.

Відомо, що реакція гормональних систем регуляції водно-сольового обміну при водному та сольовому навантаженні відрізняється тим, що в разі введення тваринам 3%-го розчину натрію хлориду в плазмі крові одночасно збільшується вміст вазопресину та α -передсердного натрійуретичного пептиду (α -ПНП), тоді як за водного навантаження у крові збільшується концентрація α -ПНП, але при цьому зменшується вміст антидіуретичного гормону (АДГ) [4]. Отже, частково зміни функціональної активності тромбоцитів можна пояснити наявністю в плазмі крові щурів, що отримували сольове навантаження, підвищеної кількості АДГ і α -ПНП [6]. Однак той факт, що після додавання до інкубаційної системи судинної стінки функціональна активність тромбоцитів зазнає додаткового різкого пригнічення, свідчить на користь наявності локального фактора, який здатний прямо впливати на тромбоцити. Цілком імовірно, що таким фактором можуть виступати ендотеліальні чинники, зокрема окис азоту. Таке припущення базується на тому, що подібні зміни в сольовій дієті викликають пригнічення продукції NO [1]. Крім того відомо [9], що NO властива антитромботична дія, яка реалізується через пригнічення процесів адгезії й агрегації тромбоцитів [9]. Отже, не виключено, що процеси інтегративної

регуляції агрегатного стану крові при водно-сольовому навантаженні замикаються на рівні ендотелію кровоносних судин.

ВИСНОВКИ

1. Агрегаційна здатність тромбоцитів щурів підвищується після водного навантаження, а при наявності судинної стінки тих самих тварин функціональна активність тромбоцитів різко підвищується.

2. Сольове навантаження (3%-й розчин натрію хлориду в об'ємі 5 % від маси тіла) не змінює функціональну активність тромбоцитів.

3. Інкубація тромбоцитів щурів, які отримували сольове навантаження, з аутологічною судинною стінкою вірогідно зменшує відсоток адгезивних тромбоцитів та індекс їх спонтанної агрегації.

V.I. Schvets, R. I. Yanchyi

THE INFLUENCE OF VASCULAR TISSUE ON RATS PLATTELET FUNCTIONAL ACTIVITY IN CASE OF WATER AND SALT LOADING

It was shown in vitro that platelets of rats which were exposed to high-salt diet (3 % NaCl solution) possess the least functional activity, especially after addition of the vascular wall tissue to the incubating medium compared to intact rats, which had water load.

*Bukovinian State Medical Academy, Tchernivtsi;
O.O. Bohomoletz Institute of Physiology National Academy
of Sciences of Ukraine, Kyiv*

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Бондаренко О.І., Сагач В.Ф. Пригнічення ацетилхолін індукованої гіперполяризації ендотеліальних клітин аорти щурів під впливом сольової дієти та її відновлення при дії еналаприлу // *Фізіол. журн.* – 2005. – 51, № 1. – С. 13–18.
2. Гланц С. Медико-биологическая статистика. – М.: Практика, 1999. – 459 с.
3. Ковальчук Н.В., Петриченко И.Е., Олферьев А.М. и др. Разработка модельной системы для оценки пролиферации эндотелиальных клеток человека in vitro: возможность применения в клинической практике // *Бюл. эксперим. биологии и медицины.* – 2000. – 129, № 4. – С.404–407.
4. Кухарчук О.Л. Патогенетична роль та методи корекції

- інтегративних порушень гормонально-месенджерних систем регуляції гомеостазу натрію при патології нирок: Автореф. дис... д-ра мед. наук. – Одеса, 1996. – 37 с.
5. Мищенко В.П., Крохмаль Н.В., Надутый К.А. Простой метод определения адгезивно-агрегационных свойств тромбоцитов // Физиол. журн. – 1980. – 26, № 2. – С.282–283.
 6. Наточин Ю.В. Вазопрессин: механизм действия и клиническая физиология // Пробл. эндокринологии. – 2003. – 49, № 2. – С.43–50.
 7. Сагач В.Ф. Ендотелін і серцево-судинна система // Физиол. журн. – 1998. – 44, № 1–2. – С.103–111.
 8. Сагач В.Ф., Ткаченко М.М., Присяжна О.Д. та ін. Зміни вазодилататорних реакцій судинних гладеньких м'язів та системи оксиду азоту за умов експериментального цукрового діабету // Там само. – 2003. – 49, № 4. – С.24–32.
 9. Сидоренко Б.А., Преображенский Д.В. Невибол – суперселективный b-адреноблокатор и индуктор синтеза NO в эндотелии сосудов (круглый стол) // Кардиология. – 2001. – № 7. – С.96–105.
 10. Lombard J.H., Sylvester F.A., Phillips S.A., Frisbee J.C. High-salt diet impairs vascular relaxation mechanisms in rats middle cerebral arteries // *Rass. Med. Sper.* – 2003. – 284. – H1124–1133.
 11. Taccola A., Gotti G.B., Baruffini A., Cipolli P.L. Su un metodo di determinazione quantitativa della aggregabilità plastrinica spontanea // *Ibid.* – 1980. – 27, № 12. – P.795–804.
 12. Zhu J., Mori T., Tianjian H., Lombard J.H. Effect of high salt diet on NO release and superoxide production in rat aorta // *Amer. J. Physiol.* – 2004. – 286. – H575–583.

*Ин-т фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України,
Київ*

*Матеріал надійшов до
редакції 07.04.2005*