

УДК 612.115 :547.587.1

В. М. Соколенко, О. Р. Пуденко, Т. С. Новосьолова, М. Ю. Жукова, К. Є. Юдина
В ДНЗ України «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава

ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ ВПЛИВУ АЦЕТИЛСАЛІЦИЛОВОЇ КИСЛОТИ ТА САЛІЦИЛАТІВ РОСЛИННОГО ПОХОДЖЕННЯ НА СУДИННО-ТРОМБОЦИТАРНИЙ ГЕМОСТАЗ

На сьогодні серцево-судинні захворювання, а саме тромбоз та емболія, посідають перше місце серед причин інвалідизації, смертності та скорочення середньої тривалості життя населення в Україні. Існує велика кількість рослин, що містять так звані саліцилати, тобто хімічні речовини, що становлять основу аспірину, аналогічні за дією на організм, але без негативних побічних впливів на здоров'я людини. Можливість заміни штучного препарату доступною рослинною сировиною і надає актуальності обраній нами темі.

Мета роботи – визначити можливість використання рослин-саліцилатів як природних замінників ацетилсаліцилової кислоти з метою профілактики тромбозу.

В результаті проведених досліджень було встановлено, що природні саліцилати значно менше впливають на активацію тромбоцитів та на швидкість зсідання крові., ніж аспірин. Враховуючи той факт, що концентрації природних саліцилатів в плазмі крові розщеплюються повільніше, ніж аспірин, а виводяться із організму швидше, розглядати рослинні екстракти як профілактичні протитромбозні засоби неможливо.

Слід також звернути увагу на те, що саліцилати – це лише частина біологічно активних речовин, що входять до складу рослинної сировини. Вплив рослинних екстрактів на організм обумовлений сукупною дією всіх речовин, що входять до його складу. Не виключена також можливість підсилення процесів зсідання крові. Про це свідчать результати досліджень крові окремих тварин, де спостерігалось не підвищення, а, навпаки, зменшення часу капілярної кровотечі та часу згортання крові до найнижчих показників в межах норми.

Висновки. Враховуючи відсутність змін показників судинно-тромбоцитарного гемостазу у тварин, що приймали саліцилати рослинного походження можна зробити висновок, що саліцилати рослинного походження мають незначний різнонаправлений вплив на судинно-тромбоцитарний гемостаз і не можуть бути використані як повноцінні природні замінники ацетилсаліцилової кислоти з метою профілактики тромбозу у людини.

Перспективи подальших досліджень полягають у пошуку інших природних замінників ацетилсаліцилової кислоти з метою профілактики тромбозу.

Ключові слова: ацетилсаліцилова кислота, саліцилатів, судинно-тромбо-цитарний гемостаз.

Робота є фрагментом НДР «Розробка стратегії використання епігенетичних механізмів для профілактики та лікування хвороб, пов'язаних із системним запаленням», № держреєстрації 0114U000784.

На сьогодні серцево-судинні захворювання, а саме тромбоз та емболія, посідають перше місце серед причин інвалідизації, смертності та скорочення середньої тривалості життя населення в Україні. Тож питання профілактики тромбозу є однією з найактуальніших проблем сучасності. Незважаючи на інтенсивний розвиток сучасної фармакології, найпоширенішим медичним засобом, що дозволяє запобігти виникненню тромбів у людини, є ацетилсаліцилова кислота [1, 3, 4]. Основним компонентом даного препарату є саліцилова кислота – фенольний фітогормон природного походження, вперше в історії добутий з рослинної сировини Гадючника в'язолистого. Широкий спектр застосувань та дешевизна зробили аспірин основним засобом профілактики судинних захворювань. Однак, як і будь-який інший фармацевтичний препарат, він має ряд протипоказань до застосування. Саме цей факт є головним приводом для відмови від систематичного застосування аспірину. Сучасні науково-популярні публікації та електронні видання все частіше рекомендують замінити фармацевтичний препарат синтетичного походження на природні ліки. Згідно з цими матеріалами, існує велика кількість рослин, що містять так звані саліцилати, тобто хімічні речовини, що становлять основу аспірину, аналогічні за дією на організм, але без негативних побічних впливів на здоров'я людини [8]. Можливість заміни штучного препарату доступною рослинною сировиною і надає актуальності обраній нами темі.

Метою роботи було визначити можливість використання рослин-саліцилатів як природних замінників ацетилсаліцилової кислоти з метою профілактики тромбозу.

Матеріал та методи досліджень. Порівняльний аналіз впливу саліцилатів рослинного походження та хімічно синтезованих на судинно-тромбоцитарний гемостаз проведено шляхом постановки контрольних дослідів на Кролях домашніх породи Сріблястий.

Для досліду було відібрано 15 голів кроликів у віці 105 днів, з яких за принципом аналогів було сформовано три дослідних групи – по 5 тварин у кожній. Із метою встановлення впливу препаратів на первинний гемостаз було змінено харчовий раціон тварин з урахуванням їх фізіологічних потреб: віку, живої маси, фізіологічного стану, норм повноцінного харчування тварин даної групи та умов експерименту. Перша контрольна група мала стандартний кормовий раціон, розрахований на осінньо-зимовий період для тварин масою 2 кг. У тварин другої дослідної

групи всі соковиті корми представлені картоплею, так як у ній саліцилати рослинного походження майже відсутні, щоденно в поїлки налився свіжий розчин ацетилсаліцилової кислоти в розрахунку 5 мг на 1 кг. Раціон тварин третьої дослідної групи: соковиті корми представлені овочами та коренеплодами, що містять природні саліцилати – морква, капуста, буряк. Як основне джерело природних саліцилатів було введено в раціон свіжі гілки Верби Білої.

Визначали тривалість капілярної кровотечі за методом Дюке [5] та час згортання цільної крові та утворення фібринової нитки за методом Бюркера [6]. Підрахунок кількості тромбоцитів за допомогою аналізатора гематологічного автоматичного ВС -3000plus методом електричного імпедансу проводився в умовах ветеринарної клініки.

Результати досліджень та їх обговорення. В результаті проведених досліджень було встановлено що на початку дослідження показники, що вивчались у всіх тварин відповідали нормі [5, 6] (Таблиця 1).

Таблиця 1

Дослідження судинно-тромбоцитарного гемостазу кролів перед початком експерименту

№ групи	Вага	Вік	Кількість тромбоцитів/л крові	Проба Бюркера (в хвиликах)	Проба Дюке (в хвиликах)
1	1,93 кг	14,6 міс.	187x109/л	4,4 хв.	1,9 хв.
2	1,9 кг	14,6 міс.	194x109/л	4,2 хв.	1,8 хв.
3	1,95 кг	14,4 міс.	194x109/л	4,2 хв.	1,8 хв.
Норма:	-	-	125-250x109/л	4-5 хв.	1,5-2 хв.

Кров брали у кролів кожного тижня. Порівняльний період досліду тривав 28 діб. Через тиждень показники судинно-тромбоцитарного гемостазу кролів першої (контрольної) групи, що харчувалась за стандартним раціоном, не змінились. Так само не змінились показники кількості тромбоцитів інших двох груп тварин. Спостерігаємо зміни часу капілярної кровотечі та утворення фібринової нитки у тварин другої та третьої груп (Таблиця 2).

Таблиця 2

Дослідження судинно-тромбоцитарного гемостазу кролів після першого тижня експерименту

№ групи	Вага	Вік	Кількість тромбоцитів/л крові	Проба Бюркера (в хвиликах)	Проба Дюке (в хвиликах)
1	1,99кг	15,6тиж.	187*109/л	4,4 хв.	1,9 хв.
2	1,97кг	15,6тиж.	193*109/л	5,1 хв.	2,4 хв.
3	2кг	15,4тиж.	193*109/л	3,8 хв.	1,6 хв.

Усі показники свідчать, що у тварин другої дослідної групи, що вживали розчин ацетилсаліцилової кислоти, збільшився час згортання крові та час утворення нерозчинної форми фібриногену – фібрину. Ефект дії аспірину помітний вже через тиждень прийому.

У тварин третьої дослідної групи середньостатистичні показники лишилися стабільними у межах норми, але можна спостерігати зміни від найнижчих показників до найвищих показників. Так, у деяких тварин час утворення фібринової нитки та час капілярної кровотечі збільшився, а в деяких, навпаки, зменшився на 0,5хв. Тож антитромбозна дія саліцилатів рослинного походження після першого тижня прийому є неоднозначною.

Третій забір дослідних зразків крові проводиться після двох тижнів харчування кролів.

Спостерігається сталість показників контрольної групи та сталість кількості тромбоцитів в усіх групах тварин. У тварин другої дослідної групи тривалість капілярної кровотечі та час утворення фібринової нитки збільшився на 0,5 хв. майже в усіх тварин. Отримані показники перевищують норму. У тварин третьої групи середні показники стабільні, а показники окремо взятих тварин становлять від 3,5 до 4,5 хвилин – це час утворення фібринової нитки. Тривалість капілярної кровотечі – від 1,5 до 2 хвилин (таблиця 3).

Таблиця 3

Дослідження судинно-тромбоцитарного гемостазу кролів після другого тижня експерименту

№ групи	Вага	Вік	Кількість тромбоцитів/л крові	Проба Бюркера (в хвиликах)	Проба Дюке (в хвиликах)
1	2 кг	16,6тиж.	187*109/л	4,4 хв.	1,9 хв.
2	2,04 кг	16,6тиж.	193*109/л	5,6 хв.	2,7 хв.
3	2,07 кг	16,4тиж.	193*109/л	4,1 хв.	1,84 хв.

До кінця третього тижня експерименту кролі набрали в середньому 200 г ваги. У тварин другої дослідної групи показники перевищували норму: 6 хвилин – це час утворення фібринової нитки за методом Бюркера та 2,9 хвилини – тривалість капілярної кровотечі за методом Дюке. У тварин третьої групи середні показники в межах норми (Таблиця 4). До кінця четвертого тижня показники залишились сталими. Кількість тромбоцитів незмінна, як і показники контрольної групи протягом всього експерименту. Показники другої дослідної групи не змінились і перевищують норму. Показники третьої групи також стали (Таблиця 5).

Таблиця 4

**Дослідження судинно-тромбоцитарного гемостазу кролів
після третього тижня експерименту**

№ групи	Вага	Вік	Кількість тромбоцитів/л крові	Проба Бюркера (в хвилинали)	Проба Дюке (в хвилинали)
1	2,1кг	17,6тиж.	187*109/л	4,4 хв.	1,9 хв.
2	2,1кг	17,6тиж.	193*109/л	6 хв.	2,9 хв.
3	2,1кг	17,4тиж.	193*109/л	4,1 хв.	2 хв.

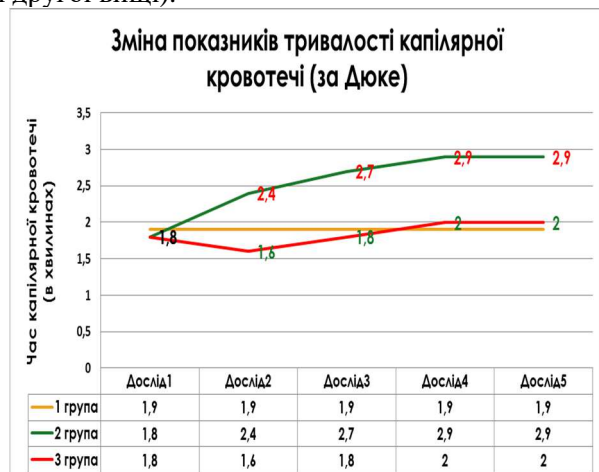
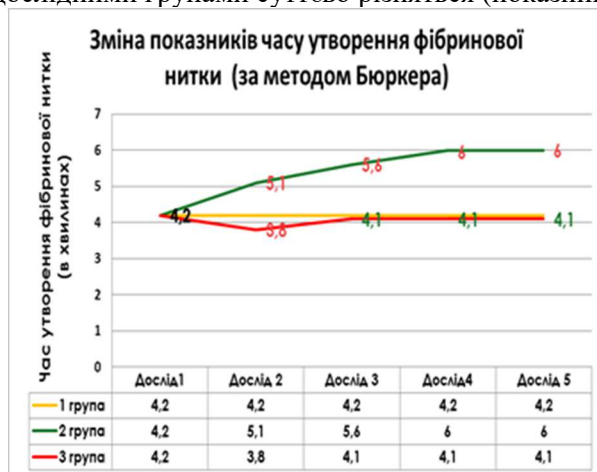
Таблиця 5

**Дослідження судинно-тромбоцитарного гемостазу кролів
після четвертого тижня експерименту**

№ групи	Вага	Вік	Кількість тромбоцитів/л крові	Проба Бюркера (в хвилинали)	Проба Дюке (в хвилинали)
1	2,2кг	18,6тиж.	187*109/л	4,4 хв.	1,9 хв.
2	2,2кг	18,6тиж.	193*109/л	6 хв.	3 хв.
3	2,2кг	18,4тиж.	193*109/л	4,1 хв.	2 хв.

Задля достовірної оцінки різниці між показниками двох груп піддослідних кролів, що приймали ацетилсаліцилову кислоту та саліцилати рослинного походження використовуємо непараметричний статистичний критерій Манна-Уїтні [7].

Оцінивши різницю між показниками двох груп піддослідних кролів, що приймали ацетилсаліцилову кислоту та саліцилати рослинного походження за допомогою непараметричного статистичного критерію Манна-Уїтні, можна зробити висновок, що відмінність між показниками часу тривалості капілярної кровотечі та часу утворення фібринової нитки у кролів другої та третьої дослідних груп є значущою на рівні достовірності $p=0,05$ (вірогідність неправильних результатів дорівнює 5%). Тому з упевненістю можна стверджувати, що кінцеві показники часу тривалості капілярної кровотечі та часу утворення фібринової нитки між другою та третьою дослідними групами суттєво різняться (показники другої вищі).



Результати дослідження підрахунку кількості тромбоцитів, які залишились сталими у трьох дослідних групах протягом 4 тижнів, демонструють, що а ні ацетилсаліцилова кислота, а ні саліцилати рослинного походження не впливають на кількість тромбоцитів у крові. Тому цей фактор не використовувався при порівнянні впливу синтетичних та природних саліцилатів на судинно-тромбоцитарний гемостаз.

Результати часу утворення фібрину за методом Бюркера та часу тривалості капілярної кровотечі протягом місяця свідчить, що для саліцилатів природнього походження не характерні ті фармакологічні властивості, що має ацетилсаліцилова кислота. Як видно із результатів дослідів,

середній показник часу капілярної кровотечі за пробою Дюке у кролів, що вживали гілки Верби білої, майже не змінився, так само, як і час зсідання цільної крові за пробою Бюркера.

Можна із впевненістю сказати, що природні саліцилати значно менше впливають на активацію тромбоцитів та на швидкість зсідання крові. Враховуючи той факт, що концентрації природних саліцилатів в плазмі крові розщеплюються повільніше, ніж аспірин, а виводяться із організму швидше, розглядати рослинні екстракти як профілактичні протитромбозні засоби неможливо. Слід також звернути увагу на те, що саліцилати – це лише частина біологічно активних речовин, що входять до складу рослинної сировини. Вплив рослинних екстрактів на організм обумовлений сукупною дією всіх речовин, що входять до його складу. Не виключена також можливість підсилення процесів зсідання крові. Про це свідчать результати досліджень крові окремих тварин у третій дослідній групі, де спостерігалось не підвищення, а, навпаки, зменшення часу капілярної кровотечі та часу згортання крові до найнижчих показників в межах норми. Отже прийом ліків, штучно синтезованих чи природних, повинен відбуватися під наглядом лікаря, адже застосування фармакологічних препаратів будь-якого походження може мати побічні ефекти. Слід пам'ятати, що природні ліки не дають жодної гарантії потрібного результату, тому думки про повноцінну заміну ними штучних медичних препаратів є хибними.

Висновок

Враховуючи відсутність змін показників судинно-тромбоцитарного гемостазу у тварин, що приймали саліцилати рослинного походження, а також те, що концентрації природних саліцилатів в плазмі крові розщеплюються повільніше, ніж аспірин, а виводяться із організму швидше, можна зробити висновок, що саліцилати рослинного походження мають незначний різнонаправлений вплив на судинно-тромбоцитарний гемостаз і не можуть бути використані як повноцінні природні замінники ацетилсаліцилової кислоти з метою профілактики тромбозу у людини.

Перспективи подальших досліджень полягають у пошуку інших природних замінників ацетилсаліцилової кислоти з метою профілактики тромбозу.

Список літератури

1. Bokarev I. N Bezopasnost raznykh form atsetylsalitsilovoy kisloty v profilaktike serdechno-sosudistykh zabolovaniy / I.N. Bokarev, L.V. Popova // Consilium Medicum, 2014 – No. 5 -С.79-84.
2. Kyryliv Ya. I. Prohrama vyroshchuvannya kroliv / Ya. I. Kyryliv, L.H. Hil, V.I. Ostashevskiy [ta in.] // - Lviv, - 2012 – 61 s.
3. Kushnir S. M. Terapevtychna aktyvnist atsetylsalitsylovoi kysloty pry sertsevo-sudynnykh zakhvoriuvanniakh / S.M. Kushnir // - NNTs «Instytut kardiologii imeni M.D. Strazheska» NAMN Ukrainy, m. Kyiv, - 2013.
4. Lievykh A. E. Kombinovane zastosuvannya atsetylsalitsylovoi kysloty ta tiotriazolinu yak sposib pidvyshchennia efektyvnosti y bezpechnosti antyagregantnoi farmakoterapii / A.E. Lievykh, O. A. Podpletnia, L.I. Kucherenko [ta in.] // Zaporizkyi medychnyi zhurnal, - 2011 – S. 33-35.
5. Pervushin Yu. V. Laboratornye metody issledovaniya sistemyi gemostaza i diagnostika narusheniya gemokoagulyatsii / Yu.V. Pervushin, S.Sh. Rogova, N.I. Kovalevich // Stavropol-Moskva, - 2009 – 16 s..
6. Rykalo N. A. Metodychni rekomendatsii dlia studentiv medychnoho fakultetu z patofiziologii / N. A. Rykalo, M. P. Tsiun, V. V. Pylyponova [ta in.] // Zmistovyi modul No.4: patofiziologia krovi – Vinnytsia, - 2011. – 23 s.
7. Rudenko V.M. Matematychna statystyka / V.M.Rudenko // Navchalnyi posibnyk dlia studentiv vyshchykh navchalnykh zakladiv – Kyiv, «Tsentр uchbovoi literatury», -2012 – S.193-196.
8. Titenkov I. V. Farmakologicheskii effekt rastitelnykh salitsilatov na sosudisto-trombotsitarnyi gemostaz / I. V. Titenkov // Klinicheskaya farmakologiya i terapiya. - 2012. - T.21 - N4. – S.59- 63.

Реферати

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ АЦЕТИЛСАЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ И САЛИЦИЛАТОВ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ НА СОСУДИСТО-ТРОМБОЦИТАРНИЙ ГЕМОСТАЗ

Соколенко В. Н., Пуденко О. Р., Новоселова Т. С., Жукова М. Ю., Юдина К. Е.

На сегодня сердечно-сосудистые заболевания, а именно тромбоз и эмболия, занимают первое место среди причин инвалидизации, смертности и сокращения средней продолжительности жизни населения в Украине. Существует большое количество растений, которые содержат так называемые саллицилаты, то есть химические вещества, которые составляют основу аспирина, аналогичные по действию на организм, но без негативных побочных воздействий на здоровье человека. Возможность замены искусственного препарата доступной растительным сырьем и

COMPARATIVE ANALYSIS OF PLANTS-ORIGINED ACETYLSALICYLIC ACID AND SALICYLATES INFLUENCE ON VASCULAR-PLATELET HEMOSTASIS

Sokolenko V. M., Pudenko O. R., Novosyolova T. S., Zhukova M. Yu., Yudina K. Ye.

Nowadays heart-vascular diseases namely thrombosis and embolism take the first position among reasons of disability, mortality as well as population life average duration reduction in Ukraine. There is a big row of plants containing so-called salicylates namely chemicals representing aspirin base, analogous by their action to organism but without negative side influences on a human health. Artificial replacement possibility with a accessible plant raw material gives actuality to the topic chosen by us.

The work aim is to determine possibility to apply plants-

придає актуальність вибраної нами теми.

Цель работы – определить возможность использования растений-салицилатов как природных заменителей ацетилсалициловой кислоты с целью профилактики тромбоза. В результате проведенных исследований было установлено, что природные салицилаты значительно меньше влияют на активацию тромбоцитов и скорость свертывания крови, чем аспирин. Учитывая тот факт, что концентрации природных салицилатов в плазме крови расщепляются медленнее, чем аспирин, а выводятся из организма скорее, рассматривать растительные экстракты как профилактические протитромбозні средства невозможно. Следует также обратить внимание на то, что салицилаты – это лишь часть биологически активных веществ, входящих в состав растительного сырья. Влияние растительных экстрактов на организм обусловлено совокупным действием всех веществ, входящих в его состав. Не исключена также возможность усиления процессов свертывания крови. Об этом свидетельствуют результаты исследований крови отдельных животных, где наблюдалось не повышение, а, наоборот, уменьшение времени капиллярного кровотечения и времени свертывания крови до самых низких показателей в пределах нормы. Учитывая отсутствие изменений показателей сосудисто-тромбоцитарного гемостаза у животных, принимавших салицилаты растительного происхождения можно сделать вывод, что салицилаты растительного происхождения имеют незначительное и разнонаправленное влияние на сосудисто-тромбоцитарный гемостаз и не могут быть использованы как полноценные природные заменители ацетилсалициловой кислоты с целью профилактики тромбоза у человека.

Ключевые слова: ацетилсалициловая кислота, салицилатов, сосудисто-тромбо-цитарний гемостаз.

Стаття надійшла 10.03.2017 р.

salicylates as natural replacers of acetylsalicylic acid for thrombosis prevention. Investigations object and methods. Comparative analysis of plant-originated and chemically-produced salicylates influence was performed by control experiments establishment on the Rabbits domestic of a Silver breed. 3 groups were differed: the 1st control group had a standard feeding ration, the 2nd experiment group all juicy feeds were represented by potatoes with daily adding the acetylsalicylic acid fresh solution while the 3rd investigation group animals ration was comprised as vegetables and root crops containing natural salicylates – carrots, cabbage, beetroot. Daphne willow White fresh branches were introduced in their ration as natural salicylates major source. We determined capillary bleeding duration by Duke method as well as a whole blood coagulation time and fibrin thread by Biurker's method. All indices testify that blood coagulation time as well as fibrin – fibrinogen nonsolved form – formation time got increased. Aspirin action effect becomes visible already in a week of taking. Average-statistical indices remained stable in the limits of norm but one could observe the changes from minimal to maximal indices in the animals of the 3rd experimental group. It is possible to conclude while assessing the difference between examined rabbits both groups indices by mean of non-parametric statistic criterium Mann-Weetney's that difference between indices of capillary bleeding duration time and fibrin thread formation time in the rabbits of the 2nd and the 3rd experimental groups is a valuable at $p=0.05$ variability level (wrong results variability comprises 5%). That is why it is possible to say by sure that that ending indices of capillary bleeding duration time and fibrin thread formation time differ much between the second and the third experimental groups (the second one indices are higher).

Key words: acetylsalicylic acid, salicylates, vascular thrombo-tsytarnyy hemostasis.

Рецензент Запорожець Т.М.

УДК 579.22:579.262:616.3–008.8–092.9

Д. О. Степанський, Г. М. Кременчуцький, І. П. Кошова
ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», м. Дніпропетровськ

ВПЛИВ АУТОСИМБІОНТІВ AEROCOCCUS VIRIDANS НА CLOSTRIDIUM PERFRINGENS, ЩО МЕШКАЮТЬ В КИШЕЧНИКУ МИШЕЙ

В даній роботі було досліджено антагоністичні властивості аутосимбіонтних *Aerococcus viridans* по відношенню до *Clostridium perfringens*, що природно мешкають в кишечнику мишей. Білі миші щодня протягом 10 днів отримували per os 0,5 млрд *A. viridans* 5m2015 (група 1, n=50) та *A. viridans* 167 (група 2, n=50) в фізіологічному розчині хлориду натрію. До, під час та через 10 днів після годування тварин аерококами проводилось бактеріологічне дослідження випорожнень на наявність і чисельність *C. perfringens*. До годування аерококами *C. perfringens* виявлялись при посіві вихідної суспензії калу практично у всіх тварин в обох групах (100% і 98%). По мірі розведення суспензії калу виявлення *C. perfringens* поступово зменшувалось і було приблизно однаковим в обох групах. Під час годування відзначалась виражена антагоністична дія *A. viridans* 5m2015 і *A. viridans* 167 на вказаний вид клостридій в кишечнику мишей, про що свідчило різке зниження кількості випадків їх висівання (48% і 52%; $p<0,001$). Після припинення годування виділення *C. perfringens* поступово зростало, але не досягало вихідного рівня (до годування аерококами) навіть через 10 днів в жодній з груп (64% і 72%; $p<0,001$). При порівнянні антагоністичної дії *A. viridans* 5m2015 і *A. viridans* 167, необхідно відзначити, що аутосимбіонт *A. viridans* 5m2015 володів більшим антагонізмом по відношенню до *C. perfringens*, що мешкають в кишечнику мишей, ніж музейний *A. viridans* 167.

Ключові слова: *Aerococcus viridans*, антагонізм, аутосимбіонти.

Робота є фрагментом НДР «Мікробіологічне обґрунтування аутоштамів роду *Aerococcus* в якості основи для створення нових пробіотиків» (номер держреєстрації 0113U001948).

Токсин, що виробляється *Clostridium perfringens* є важливим фактором вірулентності, в результаті чого виникають важкі отруєння у людини і тварин [6]. Крім того, він вважається потенційною загрозою біотероризму. На сьогоднішній день не існує жодного ефективного терапевтичного лікарського засобу проти альфа-токсину *Clostridium perfringens* [7].

Останнім часом було показано, що декілька комерційних штамів бактерій (*Lactobacillus rhamnosus* LHR 19 і SP1, *Lactobacillus plantarum* LPAL і BG112 і *Bifidobacterium animalis lactis*)