

Ostapets M.O., Volkovoy V.A., Bereznyakova M.E. Вплив біологічно активних речовин сухого екстракту з трави герані болотної на стан судинно-тромбоцитарної ланки гемостазу = Influence of biologically active substances of dry extract from herbs of Geranium Palustre on the vascular-platelet mechanism of hemostasis. Journal of Health Sciences. 2014;4(12):207-214. ISSN 1429-9623 / 2300-665X.
<http://journal.rsw.edu.pl/index.php/JHS/article/view/2014%3B4%2812%29%3A207-214>
<http://www.ojs.ukw.edu.pl/index.php/johs/article/view/2014%3B4%2812%29%3A207-214>
<https://pbn.nauka.gov.pl/works/496096>
DOI: 10.5281/zenodo.13154
<http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.13154>

The Journal has had 5 points in Ministry of Science and Higher Education of Poland parametric evaluation. Part B item 1107. (17.12.2013).

© The Author (s) 2014;

This article is published with open access at Licensee Open Journal Systems of Radom University in Radom, Poland
Open Access. This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Noncommercial License which permits any noncommercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author(s) and source are credited. This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial License (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.
This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial License (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.

Conflict of interest: None declared. Received: 15.11.2014. Revised 05.12.2014. Accepted: 08.12.2014.

УДК 615.322:582.751:615.273

UDC 615.322:582.751:615.273

**ВПЛИВ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН СУХОГО ЕКСТРАКТУ З
ТРАВИ ГЕРАНІ БОЛОТНОЇ НА СТАН СУДИННО-ТРОМБОЦИТАРНОЇ
ЛАНКИ ГЕМОСТАЗУ**

**Influence of biologically active substances of dry extract from herbs of Geranium
Palustre on the vascular-platelet mechanism of hemostasis**

**Остапець М.О., Волковой В.А., Березнякова М.Є.
Ostapets M.O., Volkovoy V.A., Bereznyakova M.E.**

**Національний фармацевтичний університет, м. Харків
National University of Pharmacy, Kharkov, Ukraine**

patology@ukrfa.kharkov.ua

Ключові слова: гемостатики, кровотеча, комплекс БАР з герані болотної, судинно-тромбоцитарний механізм

Ключевые слова: гемостатики, кровотечение, комплекс БАВ с герани болотной, сосудисто-тромбоцитарный механизм

Key words: hemostatics, bleeding, complex BAS from Geranium palustre, vascular-platelet mechanism

Вступ

На сьогоднішній день проблема вибору препарату-гемостатика при кровотечах різного генезу залишається однією з пріоритетних напрямлень в клінічній медицині.

Незважаючи на велику кількість препаратів синтетичного походження не випадково зростає інтерес до препаратів рослинного походження, оскільки вони мають низку переваг над синтетичними лікарськими засобами та характеризуються низькою токсичністю, високим рівнем спорідненості з компонентами метаболізму організму людини, достатньою ефективністю та безпечністю при тривалому застосуванні, доступністю та економічною привабливістю. Можливість використання лікарських рослин як в монотерапії, так і в комбінації з іншими лікарськими засобами пояснює зацікавленість до вивчення неофіціальних рослин. До таких лікарських рослин належить герань болотна (*Geranium palustre* L.) родини геранієвих (*Geranium*), яка за літературними даними володіє вираженою гемостатичною активністю та застосовується при кровотечах різного генезу, що було підтверджено попередньо проведеним скринінгом [1].

Мета роботи: визначення впливу та виявлення механізмів дії комплексу БАР з герані болотної на судинно-тромбоцитарний (первинний) гемостаз.

Матеріали та методи.

Досліди проводили на 54 нелінійних щурах масою 180-205г (в групі по 6 тварин). Досліджуваний комплекс БАР з герані болотної вводили внутрішньошлунково в його ефективній дозі 3мг/кг у вигляді водного розчину, стабілізованого твіном-80. Інтактні тварини отримували дистильовану воду. В якості препарату порівняння вводили перорально екстракт грициків звичайних в його ефективній дозі 7 мг/кг [2].

Час кровотечі та об'єм втраченої крові оцінювали за методом Д'юка, принцип якого полягає у визначенні тривалості кровотечі із поверхневих мікросудин після порушення їх цілісності. Для цього експериментальній тварині робили надріз хвоста та занурювали в пробірку з підігрітою водою, після чого визначали час кровотечі та кількість крові, що втратила тварина [3, 4].

Підрахунок тромбоцитів проводили в камері Горяєва (кров розводили 1% розчином оксалату амонію) з використанням фазово-контрастної мікроскопії.

Оцінку агрегації тромбоцитів здійснювали макроскопічним методом: визначали наявність та кількість агрегатів тромбоцитів в пробірці, що характеризує процес активації тромбоцитів [5].

Ретракцію кров'яного згустку визначали наступним чином: пробірку з кров'ю поміщали на водяну баню та опускали в кров дерев'яну паличку. Через 1 годину після згортання крові згусток, що прикріпився до палички, видаляли. Вимірювали об'єм рідини, що залишилася в пробірці, центрифугували при 3000 об/хв. протягом 5 хвилин та вимірювали об'єм осаджених еритроцитів. Потім розраховували відношення об'єму відокремленої сироватки до об'єму всієї взятої крові за формулою:

$$\text{Ретракція згустку} = \frac{OC}{OK \times (П/100)} \times 100\% ,$$

де ОС – об'єм сироватки;

ОК – об'єм крові;

(П/100) – показник плазмокриту (100 мінус показник гематокриту) поділений на 100 (знаменник в формулі являє собою об'єм плазми в досліджуваній крові) [6, 7].

При роботі з тваринами дотримувався Міжнародний кодекс медичної етики (Венеція, 1983), «Європейська конвенція щодо захисту хребетних тварин, які використовуються з експериментальними та іншими науковими цілями» (Страсбург, 1986), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухваленими Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001), Directive 2010/63/EU of European Parliament and Council on the protection of animals used for scientific purposes та закон України «Про захист тварин від жорстокого поводження» №3477-IV від 21.02.2006 р. [8] Статистичну обробку даних здійснювали за допомогою пакета програм Statistica for Windows 6.0 з використанням t-критерію Ст'юдента та кореляційного аналізу [9].

Результати та їх обговорення. При вивченні дії комплексу БАР з герані болотної на судинно-тромбоцитарний гемостаз в умовах капілярної кровотечі було встановлено, що засіб зменшує тривалість кровотечі у щурів на 69% по відношенню до контролю і на 11% у порівнянні з екстрактом грициків звичайних.

Встановлено, що кількість тромбоцитів в периферичній крові підвищується в 1,08 та 1,10 разів відповідно після 14-ти та 20-ти денного введення досліджуваного комплексу БАР з герані болотної. Екстракт грициків звичайних підвищував кількість тромбоцитів в 1,06 разів лише на 20-й день (табл. 1).

Таблиця 1

Кількість тромбоцитів у периферичній крові щура при внутрішньошлунковому введенні досліджуваного комплексу БАР з герані болотної (n=6)

Терміни дослідження	Контроль	Комплекс БАР з герані болотної, 3 мг/кг	Екстракт грициків звичайних, 7 мг/кг
Вихідні дані	532±11,01	537±12,50	538,5±12,43
Однократне введення	533,33±12,65	548,83±11,2	545,33±8,95
Через 7 днів	537,33±11,50	558,67±12,05	550,17±9,00
Через 14 днів	545,33±9,95	571±9,06	561±11,36
Через 20 днів	549,50±8,89	585,67±5,90 ^{*/**}	565,67±8,2

Примітки: * - $p < 0,001$ в порівнянні з контролем;

** - $p < 0,001$ в порівнянні з вихідними даними

При однократному та 7-ми денному введенні комплекс БАР з герані болотної майже не впливав на агрегаційну здатність тромбоцитів (табл. 2). Після 14-ти та 20-ти денного введення спостерігали підвищення процесу агрегації в 1,53 та 3,12 рази відповідно у порівнянні з контрольними даними. Досліджуваний комплекс БАР з герані болотної перевищив агрегаційну активність препарату порівняння в 1,28 рази на 20-й день введення. Це свідчить про наявність активного тромбоцитарного компонента в механізмі гемостатичної дії сухого екстракту з трави герані болотної.

Таблиця 2

Вплив комплексу БАР з герані болотної на агрегаційну здатність тромбоцитів (% тромбоцитів, що входять до складу агрегатів)

Терміни дослідження	Контроль	Комплекс БАР з герані болотної, 3 мг/кг	Екстракт грициків звичайних, 7 мг/кг
Вихідні дані	12,33±1,33	11,66±1,20	11,83±1,40

Однократне введення	11,17±1,2	11,83±1,58	11,50±2,05
Через 7 днів	12,17±1,7	14,67±2,22	14,00±1,57
Через 14 днів	12,67±1,45	19,33±1,96	15,50±2,26
Через 20 днів	12,50±1,48	39±1,79 ^{*/**}	30,33±2,76 ^{**}

Примітки: * - $p < 0,01$ в порівнянні з контролем;

** - $p < 0,001$ в порівнянні з вихідними даними

Відомо, що процес ретракції залежить від кількості активних тромбоцитів, тому доцільним було вивчення впливу комплексу БАР з герані болотної на даний процес. Після його однократного введення за методикою спостерігали підвищення активності процесу ретракції згустку крові. Ретракція кров'яного згустку під дією комплексу БАР з герані болотної складає 32% по відношенню до контролю та 17,3% у порівнянні з екстрактом грициків звичайних.

Таблиця 3

Вплив комплексу БАР з герані болотної на ретракцію згустку крові (n=6)

Показник	Контроль	Комплекс БАР з герані болотної, 3мг/кг	Екстракт грициків звичайних, 7 мг/кг
Ретракція згустку крові, %	38,67±1,65	70,67±1,36 ^{*/**}	53,33±1,36 [*]
Індекс ретракції	0,39	0,71	0,53

Примітки: * - $p < 0,001$ в порівнянні з контролем;

** - $p < 0,001$ в порівнянні з препаратом порівняння

Висновки.

1. Комплекс БАР з герані болотної зменшує тривалість кровотечі у щурів на 69% у порівнянні з контролем і на 11% у порівнянні з екстрактом грициків звичайних.
2. Під дією комплексу БАР з герані болотної при тривалому введенні підвищується кількість тромбоцитів в 1,08 та 1,10 рази (на 14-й та 20-й день) та агрегаційна здатність в 1,53 (на 14-й день) та 3,12 рази (на 20-й день) по відношенню до контролю.

3. Ретракція кров'яного згустку під дією комплексу БАР з герані болотної складає 32% по відношенню до контролю та 17,3% у порівнянні з екстрактом грициків звичайних.

Список літератури.

1. Ferguson L.R. Role of plant polyphenols in genomic stability //Mutation Research, - 2001. - №475. – P.89-111.
2. Стефанов О.В. Доклінічні дослідження лікарських засобів / О.В. Стефанов. – Київ: «Авіцена», 2001. – 528 с.
3. Долгов В.В. Лабораторная диагностика нарушений гемостаза / В.В. Долгов, П.В. Свирин – М., Тверь: ООО Изд-во «Триада», 2005. – 227 с.
4. Schenone M. The blood coagulation cascade / M. Schenone, B.C. Furie, B. Furie // Curr. Opin. Hematol. – 2004. – № 11(4). – P. 272–279.
5. Пантелеев М.А. Свертывание крови: методы исследования и механизмы регуляции / М.А. Пантелеев, Ф.И. Атауллаханов // Клиническая онкогематология. – 2008. – Т. 1, № 2. – С. 174–181.
6. Dejana E. Bleeding time in rats: a comparison of different experimental conditions / E. Dejana, S. Villa, G. de Gaetano // Thromb. Haemost. – 1982. – № 48(1). – С. 108–111.
7. Mann K. G. Models of blood coagulation / K. G. Mann, K. Brummel-Ziedins, T.Orfeo [et al] // Blood Cells Mol. Dis. – 2006. – Т. 36(2). – С. 108–135.
8. Резніков О.Г. Біотична експертиза доклінічних та інших наукових досліджень, що виконуються на тваринах: метод. рекомендації / О.Г. Резніков, А.І. Соловійов, О.В. Стефанов // Вісник фармакології і фармації. – 2006. – № 7. – С. 47–61.
9. Юнкеров В.И. Математико-статистическая обработка данных медицинских исследований / В.И. Юнкеров, С.Т. Григорьев. – СПб.: ВМедА, 2005. – 292 с.

References

1. Ferguson L.R. Role of plant polyphenols in genomic stability //Mutation Research, - 2001. – №475. – P.89-111.

2. Stefanov O.V. Preclinical studies of drugs / O.V. Stefanov. – Kyiv: "Avicenna", 2001. – 528 p.(in Ukrainian).
3. Dolgov V. V. Laboratory diagnostics of disorders of hemostasis / V.V. Dolgov, P.V. Svirin - Moscow, Tver: Ltd. Publishing house "Triad", 2005. – 227 p.(in Russian)
4. Schenone M. The blood coagulation cascade / M. Schenone, B.C. Furie, B. Furie // Curr. Opin. Hematol. – 2004. – № 11(4). – P. 272–279.
5. Pantelev M.A. Blood clotting: research methods and mechanisms of regulation / M.A. Pantelev, F.I. Ataulakhanov // Clinical oncohematology. – 2008. – Vol. 1, № 2. – P. 174–181 (in Russian).
6. Dejana E. Bleeding time in rats: a comparison of different experimental conditions / E. Dejana, S. Villa, G. de Gaetano // Thromb. Haemost. – 1982. – № 48(1). – P. 108–111.
7. Mann K. G. Models of blood coagulation / K. G. Mann, K. Brummel-Ziedins, T. Orfeo [et al] // Blood Cells Mol. Dis. – 2006. – T. 36(2). – С. 108–135.
8. Reznikov O.G. Biotic expertise of preclinical and others scientific researches which performed on animals: method. Recommendations / O.G. Reznikov, A.I. Soloviev, O.V. Stefanov // Journal of Pharmacology and Pharmacy. – 2006. – № 7. – P. 47–61 (in Ukrainian).
9. Junkers V.I., Grigoriev S.T. Mathematical and statistical analysis of medical researches – St. Petersburg. : MMA, 2005. – 292 p. (in Russian).

ВПЛИВ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН СУХОГО ЕКСТРАКТУ З ТРАВИ ГЕРАНІ БОЛОТНОЇ НА СТАН СУДИННО-ТРОМБОЦИТАРНОЇ ЛАНКИ ГЕМОСТАЗУ

Остапець М.О., Волковой В.А., Березнякова М.Є.

Національний фармацевтичний університет

patology@ukrfa.kharkov.ua

Досліджено вплив комплексу БАР з герані болотної на первинний гемостаз. Встановлено, що при тривалому введенні (14 - 20 днів) комплексу БАР з герані болотної у вигляді водного розчину підвищується кількість тромбоцитів та їх агрегаційна здатність, а при однократному – різко зростає активність процесу ретракції кров'яного згустку. Отримані дані свідчать про наявність активного тромбоцитарного компоненту в механізмі гемостатичної дії сухого екстракту з трави герані болотної, що обумовлено наявністю біологічно активних речовин у його складі.

Ключові слова: гемостатики, кровотеча, комплекс БАР з герані болотної, судинно-тромбоцитарний механізм.

ВЛИЯНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ СУХОГО ЭКСТРАКТА С ТРАВЫ ГЕРАНИ БОЛОТНОЙ НА СОСТОЯНИЕ СОСУДИСТО-ТРОМБОЦИТАРНОГО ЗВЕНА ГЕМОСТАЗА

Остапец М.А., Волковой В.А., Березнякова М.Е.

Национальный фармацевтический университет

patology@ukrfa.kharkov.ua

Исследовано влияние комплекса БАВ с герани болотной на первичный гемостаз. Установлено, что при длительном введении (14 – 20 дней) комплекса БАВ с герани болотной в виде водного раствора повышается количество тромбоцитов и их агрегационная способность, а при однократном – резко возрастает активность процесса ретракции кровяного сгустка. Полученные данные свидетельствуют о наличии активного тромбоцитарного компонента в механизме гемостатического действия сухого экстракта с травы герани болотной, что обусловлено наличием биологически активных веществ в его составе.

Ключевые слова: гемостатики, кровотечение, комплекс БАВ с герани болотной, сосудисто-тромбоцитарный механизм.

INFLUENCE OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES OF DRY EXTRACT FROM HERBS OF GERANIUM PALUSTRE ON THE VASCULAR-PLATELET MECHANISM OF HEMOSTASIS

Ostapets M.O., Volkovoy V.A., Bereznyakova M.E.

National University of Pharmacy

patology@ukrfa.kharkov.ua

Studies of influence of complex BAS from Geranium Palustre on primary hemostasis. Established that during introduction (14 - 20 days) of complex BAS from Geranium Palustre as an aqueous solution increased platelet counts and their aggregative ability, but in single dose - sharply increased the activity of a blood clot retraction process. These data indicate the presence of active component in the mechanism of platelet hemostatic action of dry extract from herbs of Geranium Palustre, due to the presence of biologically active substances in its composition.

Keywords: hemostatics, bleeding, complex BAS from Geranium Palustre, vascular-platelet mechanism.

Відомості про авторів:

Остапец Марина Олександрівна здобувач кафедри патологічної фізіології НФаУ, вул. Мельникова, 12, тел. 050-965-22-96

Волковой Валерій Аркадійович доктор медичних наук, професор кафедри патологічної фізіології НФаУ, вул. Мельникова, 12, тел. 706-30-66

Березнякова Марина Євгенівна доктор медичних наук, професор кафедри клінічної лабораторної діагностики НФаУ, вул. Мельникова, 12, тел. 706-47-87