

ВЛИЯНИЕ МАТОЧНОГО МОЛОЧКА ПЧЕЛ НА АГРЕГАЦИЮ ТРОМБОЦИТОВ IN VITRO

Иващенко Марина Николаевна, кандидат биологических наук, доцент кафедры «Физиология и биохимия животных»

Самоделькин Александр Геннадьевич, доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой «Физиология и биохимия животных»

Ситникова Наталья Олеговна, ассистент кафедры «Физиология и биохимия животных»

ФГБОУ ВПО «Нижегородская государственная сельскохозяйственная академия»
603107, г. Нижний Новгород, пр. Гагарина, 97; тел.: 8(831)462-66-56,
e-mail: kafedra2577@mail.ru

Ключевые слова: агрегация, тромбоциты, маточное молочко пчел, сосудисто-тромбоцитарный гемостаз, дезагрегирующий эффект.

Доказана способность маточного молочка пчел понижать реактивность тромбоцитов при индукции процесса агрегации АДФ и коллагеном.

Введение

Являясь частью клеточной популяции крови млекопитающих, тромбоциты в значительной степени определяют ее реологические свойства. Микрореологические дисфункции тромбоцитов являются важным патогенетическим фактором развития многих заболеваний [1, 2]. Повышение функциональной активности тромбоцитов приводит к инициации всего коагулологического каскада, тромбоцитам принадлежит ключевая роль в развитии инфарктов и инсультов. Воздействуя на тромбоциты, можно предупредить образование тромбов, задержать развитие ишемической болезни сердца. По этой причине поиск эффективных и безопасных средств, воздействующих на сосудисто-тромбоцитарный гемостаз, остается актуальной задачей [3, 4].

Одним из таких средств может быть маточное молочко пчел. Известно, что маточное молочко обладает широким спектром терапевтического действия. Оно оказывает антисептическое, противовоспалительное, вяжущее, обезболивающее, антиоксидантное действие, стимулирует обмен веществ, регенерацию тканей, сохраняет полезную микрофлору в желудочно-кишечном тракте, стимулирует кроветворение [5, 6, 7]. Появились сообщения о том, что маточное молочко обладает дезагрегирующим эффектом [5, 7], но систематизированных исследований в этом направлении не проводилось.

В связи с этим были проведены исследования, направленные на выяснение механизмов действия маточного молочка пчел на функциональную активность тромбоцитов.

Объекты и методы исследований

Опыты проводились *in vitro*. Исследовалось действие водных растворов лиофилизированного маточного молочка в концентрациях 10^{-3} ; 10^{-5} ; 10^{-7} ; 10^{-9} г/мл на агрегационную способность тромбоцитов. Для оценки функциональной активности кровяных пластинок использовали анализатор агрегации тромбоцитов AP 2110. В основе принципа работы прибора лежит метод светорассеяния, предложенный G.V. Born. В качестве агрегирующих агентов применялись биогенные индукторы: АДФ в конечной концентрации 5 мкг/мл и коллаген в конечной концентрации 2 мг/мл. Подготовка опыта была следующей: плазма, богатая тромбоцитами, подвергалась инкубации раствором маточного молочка в течение 10 минут. При изучении агрегации тромбоцитов определялись степень агрегации в процентах и скорость агрегации, параметр, позволяющий проводить оценку динамики процесса. Контролем служили тромбоциты, не подвергнутые воздействию изучаемых веществ.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием программы Statistica 6.0.

Результаты исследований

Результаты, полученные при исследовании

Таблица 1.

Изменение АДФ–индуцированной агрегации тромбоцитов при действии маточного молочка, (M±m)

Исследуемое вещество, г/мл	Степень агрегации, %		Скорость агрегации, %/мин	
	До	После	До	После
Маточное молочко 10 ⁻³	61,78±8,79	35,16±7,98*	50,6±12,52	14,8±3,92*
Маточное молочко 10 ⁻⁵	60,13±8,26	49,51±9,88*	33,65±7,22	43,44±9,44
Маточное молочко 10 ⁻⁷	60,47±8,79	48,23±12,05*	38,57±7,28	39,78±9,19
Маточное молочко 10 ⁻⁹	61,14±8,28	42,31±12,21*	39,4±6,97	40,63±7,44

Примечание: * различия между контролем и опытом статистически достоверны, $p < 0,05$.

Таблица 2.

Изменение коллаген - индуцированной агрегации тромбоцитов при действии маточного молочка, (M±m)

Исследуемое вещество, г/мл	Степень агрегации, %		Скорость агрегации, %/мин	
	До	После	До	После
Маточное молочко 10 ⁻³	69,13±8,43	45,49±8,78*	44,44±8,53	21,68±7,97*
Маточное молочко 10 ⁻⁵	68,03±8,13	68,52±2,14	56,54±9,08	59,88±7,49
Маточное молочко 10 ⁻⁷	70,3±3,53	68,12±7,51	48,08±10,36	51,67±9,17
Маточное молочко 10 ⁻⁹	67,1±6,16	68,85±8,43	48,63±7,79	52,11±8,15

Примечание: * различия между контролем и опытом статистически достоверны, $p < 0,05$.

довании АДФ индуцированной агрегации, представлены в таблице 1. Из таблицы видно, что маточное молочко замедляет АДФ – стимулированную агрегацию тромбоцитов в широком диапазоне концентраций.

Максимальное подавление агрегации кровяных пластинок при действии маточного молочка было отмечено при инкубации кровяных пластинок пчелопродуктом в концентрации 10⁻³ г/мл. В контроле степень агрегации тромбоцитов составила 61,78±8,79%, в опыте статистически достоверно понизилась до 35,16±7,98%, что на 49% ниже. Выявлено также снижение скорости агрегации кровяных пластинок на 71% по сравнению с первоначальным уровнем (с 50,6±12,52 до 14,8±3,92; $p < 0,05$).

В опытах, где использовали маточное молочко в концентрации 10⁻⁵ г/мл, степень агрегации тромбоцитов снижалась в среднем на 20% по сравнению с первоначальным уровнем (табл. 1).

При применении наименее концентрированного раствора маточного молочка (10⁻⁹ г/мл) степень агрегации снижалась на 31% (с

61,14±8,28% до 42,31±12,21; $p < 0,05$).

При исследовании коллаген - индуцированной агрегации тромбоцитов, было обнаружено, что маточное молочко также подавляет агрегацию тромбоцитов (табл. 2). Эффект подавления коллаген - агрегации зависел от величины применяемой дозы маточного молочка. Согласно полученным данным добавление раствора маточного молочка в концентрации 10⁻³ г/мл к плазме, богатой тромбоцитами, приводило к снижению степени агрегации тромбоцитов на 34%, вдвое ослабла скорость агрегации. Маточное молочко в остальных изученных концентрациях заметных изменений функциональной активности кровяных пластинок не вызывало.

Результаты настоящих экспериментов показали, что маточное молочко эффективно снижает агрегационную способность тромбоцитов. Дезагрегирующий эффект зависит как от концентрации пчелопродукта, так и от природы и механизма действия применяемого индуктора агрегации. Маточное молочко замедляет АДФ–индуцированную

агрегацию тромбоцитов в широком диапазоне концентраций (от 10^{-3} до 10^{-9} г/мл). Уменьшение коллаген стимулированной агрегации отмечено при использовании апипродукта в концентрации 10^{-3} г/мл. Является важным тот факт, что на количество тромбоцитов маточное молочко влияния не оказывает.

Согласно литературным данным, АДФ является слабым агрегирующим агентом, коллаген — сильным индуктором агрегации. Под влиянием высоких концентраций слабых агонистов и сильных агентов из тромбоцитов высвобождаются вещества, содержащиеся в плотных гранулах. Коллаген инициирует высвобождение веществ из альфа-гранул и лизосом [6].

Уменьшение АДФ и коллаген индуцированной агрегации, позволяет предположить, что под влиянием маточного молочка угнетается реакция высвобождения 1 (высвобождение веществ из плотных гранул) и реакция высвобождения 2 (высвобождение веществ из α -гранул и лизосом).

Мы предполагаем, что зарегистрированные изменения функциональной активности тромбоцитов при действии пчелопродукта есть результирующая разнонаправленных процессов, обусловленных особенностями действия различных компонентов маточного молочка.

Возможно, зарегистрированный эффект влияния апипродукта на агрегируемость клеток связан с изменениями мембраны тромбоцитов. Изменения мембраны тромбоцитов могут быть вызваны связыванием маточного молочка со специфическим рецептором на поверхности кровяных пластинок. В результате этого может происходить перераспределение липидов во всем липидном бислое, что характерно для активированных тромбоцитов. Эти изменения в свою очередь могут приводить к изменению состояния клеточных рецепторов, изменению количества мембранно-связанного кальция, изменению активности клеточных ферментов.

Следует учитывать также, что маточное молочко может тормозить АДФ и коллаген индуцированную агрегацию тромбоцитов, предотвращая связывание АДФ и коллагена с рецепторами. Известно, что агрегацию, вызванную АДФ, угнетают соединения, близкие по своей структуре: АТФ и его аналоги, АМФ, аденозин и другие, которые содержатся в ма-

точном молочке. Это объясняется конкуренцией за связывание с мембранными рецепторами.

Дезагрегирующее действие маточного молочка может быть обусловлено подавлением активности фосфолипазы A_2 . В настоящее время известно, что жирные кислоты, присутствующие в маточном молочке, подавляют активность фосфолипазы A_2 [6, 8]. Изменение активности фермента предотвращает выделение арахидоновой кислоты из фосфолипидов тромбоцитов, в результате чего не образуется тромбоксан A_2 , вызывающий реакцию высвобождения и агрегацию.

Согласно исследованиям О.К. Гаврилова [10], уменьшение микровязкости липидного бислоя приводит к снижению агрегации тромбоцитов. Известно, что вязкостные свойства липидного бислоя тромбоцитов изменяются при действии на клетки свободных ненасыщенных жирных кислот и ряда витаминов (Е, С, Р), присутствующих в маточном молочке.

Исследования, проведенные Н.Н. Асафовой [11], доказали, что при действии маточного молочка на биологические мембраны особенно сильно затрагиваются процессы транспорта ионов кальция, калия, натрия. Мы полагаем, что это может быть одним из механизмов дезагрегирующего действия пчелопродукта, так как уменьшается проницаемость клетки для ионов кальция, в результате чего блокируется агрегация кровяных пластинок.

Выводы

Таким образом, способность маточного молочка подавлять агрегацию тромбоцитов имеет большое значение для медицинской и ветеринарной практики. Полученные данные должны помочь объяснить некоторые стороны терапевтического действия пчелиного маточного молочка, а также содействовать теоретически обоснованному применению его в лечебной практике.

Библиографический список

1. Кутафина, Н.В. Механизмы функционирования сосудистого гемостаза / Н.В. Кутафина // Международный научно-исследовательский журнал. — 2012. — № 5, часть 3. — С. 64–65.
2. Медведев, И.Н. Методические подходы к оценке агрегации и поверхностных

свойств тромбоцитов и эритроцитов / И.Н. Медведев, С.Ю. Завалишина, Е.Г. Краснова, Н.В. Кутафина // *Фундаментальные исследования*. - 2014. - № 10-1. - С. 117-120.

3. Шокур, О.А. Влияние каррагинанов на агрегацию тромбоцитов *in vitro* / О.А. Шокур, Е.В. Хожаенко, Н.Ю. Рукина, А.Б. Простакишина // *Тихоокеанский медицинский журнал*. - 2013. - № 2. - С. 25-28.

4. Белушкина, Н.Н. Рецепторы тромбоцитов – мишень для антиагрегационной терапии / Н.Н. Белушкина, О.Г. Дегтярева, А.А. Махлай // *Молекулярная медицина*. - 2011. - № 3. - С. 10–17.

5. Теория и средства апитерапии: Монография / В.Н. Крылов, А.В. Агафонов, Н.И. Кривцов, В.И. Лебедев. - М.: Комильфо-2007. - 296 с.

6. Орлов, Б.Н. Прополис и воск – пчелам и человеку. Монография / Б.Н. Орлов, Н.В. Корнева. - Н.Новгород: Изд. Ю.А. Николаева, 2001. – 192 с.

7. Омаров, Ш.М. Клиническое приме-

нение маточного молочка / Ш.М. Омаров, Б.Н. Орлов, З.Ш. Магомедова, З.М. Омарова // *Пчеловодство*. - 2011. - № 8. - С. 58-60.

8. Самаль, А.Б. Агрегация тромбоцитов: методы изучения и механизмы: Монография / А.Б. Самаль, С.Н. Черенкевич, Н.Ф. Хмара. - Минск: Универс, 1990.- 104 с.

9. Брагина, Н.А. Липидные ингибиторы фосфолипазы A₂ / Н.А. Брагина, В.В. Чупин, В.Г. Булгаков, А.Н. Шальнев // *Биоорганическая химия*. - 1999. - Т. 25. № 2. - С. 83-96.

10. Гаврилов, О.К. Задачи современной коагулологии / О.К. Гаврилов // *Гематология и трансфузиология*. - 1989. - № 6. - С. 3-7.

11. Асафова, Н.Н. Физиологически активные продукты пчелиной семьи: Общебиологические и эколого-химические аспекты. Физиологическое обоснование практического применения. Монография / Н.Н. Асафова, Б.Н. Орлов, Р.Б. Козин : под ред. Б.Н. Орлова. – Н.Новгород: Изд. Ю.А. Николаева, 2001. – 368 с.

УДК 631.4

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ КСИЛОЛА НА ПОЧВЕННЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ И ВЫДЕЛЕНИЕ ДЕСТРУКТОРОВ

Ильина Наталья Анатольевна, доктор биологических наук, профессор кафедры «Зоология»

Фуфаева Татьяна Валентиновна, аспирант кафедры «Зоология»,
tanya-fufaeva@yandex.ru

Казакова Наталья Анатольевна, ассистент кафедры «География»

ФГБОУ ВПО «УлГПУ им. И.Н. Ульянова»

432700, г. Ульяновск, пл. 100-летия со дня рождения В.И. Ленина, д.4,

e-mail: nakaz17@mail.ru

Ключевые слова: ксилол, актиномицеты, гетеротрофные бактерии, плесневые грибы.

В статье рассматривается воздействие различных доз ксилولا на количественный и качественный состав микроорганизмов в почве.

Введение

Отличительная особенность почвы как природного местообитания микроорганизмов связана с её гетерогенностью, которая проявляется в разных пространственных масштабах. Почвенные микроорганизмы

обитают в трехфазной полидисперсной среде, представленной твердой (минеральные и органические частицы), жидкой (почвенная вода) и газообразной (почвенный воздух) фазами.

Почвенные микроорганизмы состав-