

ВЛИЯНИЕ МЕЛАТОНИНА НА ТРОМБОЦИТАРНЫЙ ГЕМОСТАЗ ПРИ ТРАВМАТИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ

Ю. В. Редькин, А. С. Лысенко, З. Ш. Голевцова, В. В. Лобов¹

В эксперименте на крысах показано, что введение мелатонина дозозависимо снижает степень и длительность нарушений тромбоцитарного гемостаза при травматической болезни.

Ключевые слова: мелатонин, тромбоциты, гемостаз, травматическая болезнь

ВВЕДЕНИЕ

Проблема фармакологической коррекции посттравматических нарушений гемостаза остается нерешенной, что во многом связано с многообразием причин гемостазиологических расстройств и фрагментарностью сведений, касающихся роли тромбоцитов в их формировании. Наличие в течении травматической болезни (ТБ) периодов с риском кровотечений и тромбозов существенно осложняет выбор препаратов, большинство из которых действует на гемостаз односторонне. Поэтому поиск лекарственных средств, обладающих способностью изменять гемостаз в нужных направлениях, является актуальной задачей. В этом плане интересен гормон эпифиза мелатонин, который сегодня используется как лекарство. Мелатонину присущи выраженный антиоксидантный эффект и влияние на иммунитет [2, 12]; его действие носит модулирующий характер и особенно заметно при экстремальных состояниях организма [1]. Тромбоциты имеют рецепторы к мелатонину [13]. Показано, что мелатонин снижает агрегацию тромбоцитов *in vitro* [10].

Цель исследования заключалась в оценке степени и значимости влияния мелатонина на тромбоцитарный гемостаз при ТБ.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперимент проведен в осенне-зимний период на 219 белых половозрелых крысах-самцах, содержащихся в стандартных условиях вивария при чередовании искусственного освещения 10 ч — день, 14 ч — ночь. Механическую травму (DL₅₀) воспроизводили на наркотизированных этаминалом натрия (5 мг/100 г) животных по Ноблу – Коллипу [11]. Выжившим животным опытной группы мелатонин (“Sigma”, США) вводили внутривенно в дозе 10,0 мг/кг через полчаса после травмы однократно, а в дозах 1 и 0,1 мг/кг — еще и в последующие 28 сут посттравматического периода каждый вечер за 20 мин до отключения света. Контрольным (травма без мелатонина) и интактным (не травмированным) животным по той же схеме и в эквивалентном объеме вводили 0,9 % раствор NaCl.

Периферическую кровь выживших крыс брали на 1-е, 3-и, 7-е, 14-е, 21-е и 28-е сутки после травмы. Изучали количество тромбоцитов в крови (фазово-контрастная микроскопия) [4]; их адгезию к стекловолкну [6] и агрегацию [8] с помощью лазерного агрегометра Viola (Россия), для чего из стабилизированной 3,8 % цитратом натрия (9:1) крови готовили богатую (центрифугирование при 1000 об/мин в течение 7 мин) и бедную (15 мин при 4000 об/мин) тромбоцитами плазму (БТП). Использовали индукторы агрегации АДФ и коллаген (Россия) в конечной концентрации 2,5; 5 мкМ и 0,2 мкМ соответственно. О степени агрегации судили по увеличению светопропускания БТП.

Результаты обрабатывали с помощью статистических критериев: Стьюдента (*t*) и Вилкоксона – Манна – Уитни (*U*).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

У контрольных животных через 1 сут после травмы отмечалась тромбоцитопения ($p_t < 0,001$), на 3 сут количество тромбоцитов достигало исходных значений, на 7 – 14-е — существенно ($p_t < 0,001$) превышало их и снижалось к концу 3-й недели (таблица). На 28-е сутки ТБ вновь отмечался тромбоцитоз ($p_t < 0,05$). Адгезия и особенно агрегация тромбоцитов у отдельных животных на 1 – 3-и сутки изменялись разнонаправленно: у 60 % отмечалась гипер-, а у 40 % — гипоагрегация ($p_U \leq 0,05$ в отличие от интактных). В период с 7-х по 14-е сутки ТБ у всех крыс отмечалась выраженная активация тромбоцитов: степень их агрегации достоверно увеличивалась, нарушалась дезагрегация, значительно ($p_t < 0,001$) возрастала доля прилипших к стеклу пластинок. К концу 3-й недели ТБ агрегационная активность тромбоцитов снижалась до исходных значений, но на 28-е сутки вновь повышалась ($p_t < 0,05$). Адгезивные свойства тромбоцитов не достигали исходных значений до конца периода наблюдения.

Эффект мелатонина в отношении тромбоцитарного звена гемостаза травмированных крыс был дозозависимым. Однократное введение препарата в дозе 10 мг/кг сопровождалось менее выраженной по сравнению с контролем тромбоцитопенией на 1 сут ТБ ($p_U < 0,05$). Ежедневное введение мелатонина в дозе 0,1 мг/кг позволяло достичь практически полной нор-

¹ Кафедра фармакологии (зав. — проф. Ю. В. Редькин) Омской государственной медицинской академии, Омск, 644099, ул. Ленина, 12.

Параметры тромбоцитарного гемостаза при травматической болезни ($M \pm m$)

Сутки после травмы	Группы и количество животных	Степень индуцированной агрегации, %			Адгезия, %	Тромбоциты, $\times 10^9/\text{л}$
		Коллаген	АДФ (5,0 мкМ)	АДФ (2,5 мкМ)		
1-е	травма + 0,9 % раствор NaCl (контроль), $n = 5$	33,96 \pm 13,67	21,32 \pm 8,47	13,20 \pm 6,47	57,93 \pm 10,72*	216,80 \pm 20,15*
	травма + мелатонин в дозе 0,1 мг/кг, $n = 5$	33,71 \pm 19,32	28,49 \pm 15,05	18,44 \pm 9,82	62,42 \pm 10,71*	203,60 \pm 27,67*
	травма + мелатонин в дозе 1,0 мг/кг, $n = 5$	29,70 \pm 6,65	21,17 \pm 4,67	14,29 \pm 3,27	62,78 \pm 5,69*	297,60 \pm 23,46*#
	травма + мелатонин в дозе 10,0 мг/кг, $n = 3$	38,60 \pm 13,62	33,07 \pm 12,45	21,07 \pm 9,17	66,87 \pm 6,51*	299,33 \pm 24,48*#
3-и	травма + 0,9 % раствор NaCl (контроль), $n = 5$	25,74 \pm 9,40	20,19 \pm 6,89	10,56 \pm 4,69	61,47 \pm 7,28*	411,20 \pm 25,95
	травма + мелатонин в дозе 0,1 мг/кг, $n = 5$	29,83 \pm 12,94	20,55 \pm 9,07	10,49 \pm 4,26	58,18 \pm 7,39*	371,60 \pm 23,23
	травма + мелатонин в дозе 1,0 мг/кг, $n = 5$	29,28 \pm 6,38	19,28 \pm 3,81	11,38 \pm 3,30	63,96 \pm 7,39*	380,80 \pm 26,42
7-е	травма + 0,9 % раствор NaCl (контроль), $n = 5$	45,50 \pm 10,32*	36,52 \pm 2,62*	25,06 \pm 2,38*	75,08 \pm 4,68*	608,40 \pm 25,88*
	травма + мелатонин в дозе 0,1 мг/кг, $n = 5$	42,00 \pm 4,79*	34,12 \pm 4,15*	23,80 \pm 3,03*	69,88 \pm 6,74*	562,40 \pm 20,35*
	травма + мелатонин в дозе 1,0 мг/кг, $n = 5$	44,22 \pm 5,13*	28,88 \pm 3,26*#	22,04 \pm 2,11*#	72,19 \pm 3,71*	536,00 \pm 38,15*#
	травма + мелатонин в дозе 10,0 мг/кг, $n = 3$	46,37 \pm 6,55*	33,73 \pm 6,90	24,00 \pm 6,09	77,63 \pm 6,43*	581,33 \pm 58,34*
14-е	травма + 0,9 % раствор NaCl (контроль), $n = 5$	53,84 \pm 6,65*	31,92 \pm 2,58*	21,88 \pm 3,13*	77,64 \pm 4,21*	655,20 \pm 17,01*
	травма + мелатонин в дозе 0,1 мг/кг, $n = 5$	41,18 \pm 6,53*	31,98 \pm 5,06*	27,64 \pm 5,81*	75,54 \pm 5,2*	648,40 \pm 21,01*
	травма + мелатонин в дозе 1,0 мг/кг, $n = 5$	40,52 \pm 3,92*#	30,72 \pm 3,69*	22,88 \pm 2,54*	66,06 \pm 4,15*#	562,00 \pm 31,05#
	травма + мелатонин в дозе 10,0 мг/кг, $n = 3$	50,70 \pm 7,57*	38,23 \pm 8,50	27,57 \pm 8,85	76,91 \pm 6,65*	624,67 \pm 44,31*
21-е	травма + 0,9% раствор NaCl (контроль), $n = 5$	25,53 \pm 8,94	16,56 \pm 5,17	11,81 \pm 3,77	57,55 \pm 6,23*	431,60 \pm 22,80
	травма + мелатонин в дозе 0,1 мг/кг, $n = 5$	20,14 \pm 3,85	16,53 \pm 5,55	13,40 \pm 4,24	63,37 \pm 5,35*	398,80 \pm 23,21
	травма + мелатонин в дозе 1,0 мг/кг, $n = 5$	19,92 \pm 4,73	15,77 \pm 3,73	11,48 \pm 1,96	48,16 \pm 5,21*	424,00 \pm 25,71
28-е	травма + 0,9 % раствор NaCl (контроль), $n = 5$	36,16 \pm 5,05*	27,10 \pm 4,21*	15,60 \pm 3,06*	56,09 \pm 4,03*	448,80 \pm 18,54*
	травма + мелатонин в дозе 0,1 мг/кг, $n = 5$	24,88 \pm 3,34	18,75 \pm 6,21	8,93 \pm 1,66	47,50 \pm 7,17	398,00 \pm 20,51
	травма + мелатонин в дозе 1,0 мг/кг, $n = 5$	22,32 \pm 4,54	18,88 \pm 5,79	8,66 \pm 1,75	45,54 \pm 5,16	401,20 \pm 18,01
	травма + мелатонин в дозе 10,0 мг/кг, $n = 3$	37,07 \pm 5,66*	25,80 \pm 4,68	15,28 \pm 2,93	55,48 \pm 4,32*	424,00 \pm 26,1
Интактные животные, $n = 15$		16,63 \pm 1,97	12,25 \pm 1,18	6,24 \pm 0,85	62,40 \pm 6,48	395,20 \pm 15,12

Примечания. Различия достоверны ($p \leq 0,05$) по сравнению: * — с интактными животными; # — с контрольными животными. На 3-и и 21-е сутки действие мелатонина в дозе 10,0 мг/кг не изучалось.

мализации параметров тромбоцитарного гемостаза к концу периода наблюдения, что не отмечалось в контроле. Использование препарата в дозе 1 мг/кг, помимо указанных изменений, приводило к снижению адгезивных свойств пластинок на 14-е, а также к снижению тромбоцитоза и агрегации тромбоцитов на 7 – 14-е сутки ТБ ($p_U \leq 0,05$).

У животных, получавших мелатонин в дозах 1 мг/кг и 10 мг/кг, не отмечалось гипоагрегации тромбоцитов на 1 – 3-е сутки ТБ, что следует расценивать как положительный факт, поскольку гипоагрегация тромбоцитов в ранний период после травмы ассоциируется с ее неблагоприятным исходом [9].

По-видимому, имеются определенные критические периоды нарушений гемостаза при ТБ: ранний — до 3 сут — с опасностью кровотечений, обусловленных снижением количества и функции тромбоцитов у значительной части животных, и период с 7-х по 14-е сутки, когда одновременный рост количества и активности кровяных пластинок сопровождается риском тромбозов. Мелатонин, особенно в дозе 1 мг/кг, при регулярном введении позволяет снизить остроту названных периодов, а также общую продолжительность посттравматических гемостазиологических нарушений.

Эффективность мелатонина, очевидно, обусловлена не только прямым действием на тромбоциты, но и опосредованным влиянием, заключающимся в нейтрализации факторов, приводящих к дестабилизации гемостаза при ТБ. Важнейшими из них являются усиление свободнорадикального окисления (СРО), вызывающего гиперактивность тромбоцитов [3], а также, вероятно, иммунные нарушения, приводящие к деструкции клеток крови с высвобождением из них активирующих тромбоциты веществ. Ранее нашим сотрудником О. А. Мирошником в аналогичном эксперименте было установлено, что процессы СРО наиболее интенсивны на 1-е, 7 – 14-е сутки и через месяц после травмы [5]. Как видно из таблицы, именно в эти сроки усиливались адгезия и агрегация тромбоцитов. На 1-е и 21-е сутки ТБ, когда в крови животных мы обнаруживали наибольшее количество аутоантител [7], число тромбоцитов было наименьшим.

Очевидно, мелатонин в дозах 1 и 10 мг/кг способен ослаблять повреждающее действие факторов, инициирующих нарушения гемостаза в раннем посттравматическом периоде, но однократного введения препарата не достаточно, так как действие этих факторов продолжается. Это обосновывает пролонгированное назначение таких доз мелатонина, для которых наиболее свойственно развитие всего комплекса присущих гормону эффектов. Эффективность мелатонина в дозе 0,1 мг/кг, возможно, объясняется биоритмонормализующей активностью гормона [1], позволяющей смягчить выраженность посттравматического десинхроноза.

Таким образом, действие мелатонина на тромбоцитарный гемостаз при ТБ, по-видимому, является многокомпонентным, что соответствует многофакторному генезу гемостазиологических нарушений при травме. Описанный нами модулирующий характер его действия служит весомым дополнением к полученным ра-

нее фактам, подтверждающим антистрессорную роль мелатонина, и позволяет считать гормон важным элементом защиты организма от повреждения, а его применение при тяжелой травме — патогенетически обоснованным.

ВЫВОДЫ

1. Мелатонин оказывает дозозависимый эффект в отношении тромбоцитарного гемостаза при травматической болезни.
2. При однократном введении в дозе 10 мг/кг мелатонин снижает выраженность тромбоцитопении и препятствует развитию гипоагрегации тромбоцитов на первые сутки после тяжелой механической травмы.
3. При регулярном введении в дозе 0,1 мг/кг мелатонин снижает тромбоцитоз и агрегацию тромбоцитов на 28-е сутки после травмы, уменьшая длительность посттравматических расстройств гемостаза.
4. Систематическое введение мелатонина в дозе 1 мг/кг, помимо перечисленных эффектов, сопровождается снижением интенсивности адгезии на 14-е сутки, а также агрегации тромбоцитов и тромбоцитоза на 7 – 14-е сутки травматической болезни.

ЛИТЕРАТУРА

1. Э. Б. Арушанян, Л. Г. Арушанян, *Экспер. и клин. фармакол.*, **60**(6), 71 – 77 (1997).
2. Э. Б. Арушанян, Э. В. Бейер, *Экспер. и клин. фармакол.*, **65**(5), 73 – 80 (2002).
3. А. Ш. Бышевский, *Тромбоциты*, Томск (1996).
4. *Лабораторные методы исследования в клинике*, В. В. Меньшиков (ред.), Москва (1987).
5. О. А. Мирошник, *Дис. канд. мед. наук*, Омск (1992).
6. Т. А. Одесская, А. С. Щитикова, А. Папаян и др., *Лаб. дело*, № 7, 395 (1971).
7. Ю. В. Редькин, Т. Ф. Соколова, В. В. Пастухов, *Иммунопатогенез травматической болезни*, Омск, (1993).
8. G. V. R. Born, *Nature*, **194**(4), 927 – 929 (1962)
9. R. C. Jacoby, J. T. Owings, J. Holmes et al., *J. Trauma*, **51**(4), 639 – 647 (2001).
10. L. I. Kornblihtt, L. Finocchiaro, and F. C. Molinas, *J. Pineal Res*, **14**(4), 184 – 191 (1993).
11. R. L. Noble, *Amer. J. Physiol.*, **138**(1), 346 – 351 (1943).
12. B. Poeggeler, S. Thuermann, A. Dose, et al., *J. Pineal. Res*, **33**(1), 20 – 30 (2002).
13. M. I. Vacas, M. M. Del Zar, M. Martinuzzo, and D. P. Cardinalli, *J. Pineal. Res*, **13**(2), 60 – 65 (1992).

Поступила 14.06.03

THE EFFECT OF MELATONIN ON PLATELET HEMOSTASIS IN RATS WITH TRAUMATIC DISEASE

Yu. V. Red'kin, A. S. Lysenko, Z. Sh. Golevtsova, and V. V. Lobov

Pharmacology Department, Omsk State Medical Academy, ul. Lenina 12, Omsk, 644099 Russia

The experiments on rats with model traumatic disease showed that melatonin administration produces a dose-dependent positive effect, decreasing the degree and duration of disturbances in platelet hemostasis.