

Ostapets M. O., Volkovoy V. A., Bunatyay N. D., Reshetnyak N. V., Derkach N. V., Lukyynova L. V. Возможные осложнения в системе гемокоагуляции при длительном введении сухого экстракта из травы герани болотной = The possible complications in the hemocoagulation system during long-term introduction of the dry extract from *Geranium Palustre* herb. Journal of Education, Health and Sport. 2016;6(7):601-609. eISSN 2391-8306. DOI <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.60035>
<http://ojs.ukw.edu.pl/index.php/johs/article/view/3743>
<https://pbn.nauka.gov.pl/sedno-webapp/works/742508>

The journal has had 7 points in Ministry of Science and Higher Education parametric evaluation. Part B item 755 (23.12.2015).
755 Journal of Education, Health and Sport eISSN 2391-8306 7

© The Author (s) 2016;
This article is published with open access at Licensee Open Journal Systems of Kazimierz Wielki University in Bydgoszcz, 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/4.0/>) 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/4.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.
The authors declare that there is no conflict of interests regarding the publication of this paper.
Received: 02.07.2016. Revised 25.07.2016. Accepted: 28.07.2016.

УДК 615.322:582.751:615.273

ВОЗМОЖНЫЕ ОСЛОЖНЕНИЯ В СИСТЕМЕ ГЕМОКОАГУЛЯЦИИ ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ВВЕДЕНИИ СУХОГО ЭКСТРАКТА ИЗ ТРАВЫ ГЕРАНИ БОЛОТНОЙ

М. А. Остапец¹, В. А. Волковой¹, Н. Д. Бунатян², Н. В. Решетняк¹,
Н. В. Деркач¹, Л. В. Лукьянова³

¹Национальный фармацевтический университет, Харьков, Украина

²Первый московский государственный медицинский университет
им. И.М.Сеченова, Москва, Россия

³Харьковский национальный медицинский университет, Харьков, Украина

Наиболее опасное осложнение всех гемостатических средств (синтетических и растительных) является развитие синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови. Статья посвящена изучению возможных осложнений в системе гемокоагуляции при длительном введении (в течение 3 месяцев) сухого экстракта травы герани болотной. Установлено, что на 30 сутки эксперимента несколько снижался показатель АЧТВ, что свидетельствовало об активации механизмов свертывания крови с «внутренним» путем (формирование кровяной протромбиназы). Наряду с этим снижался уровень физиологических антикоагулянтов (антитромбина III), что указывало на включение механизмов антисвертывания крови в ответ на умеренную гиперкоагуляции. На 60 сутки исследования уровень АТ III не отличался от показателей контрольных данных. Полученные результаты указывают на уравновешивания баланса между системой коагуляции и антикоагуляции на 30 день исследования.

На 60 день эксперимента показатели коагулограммы повышались до физиологического уровня и не изменялись в течение всего срока исследования (90 дней).

Ключевые слова: гемостаз, ДВС-синдром, гиперкоагуляция, антисвертывание крови.

THE POSSIBLE COMPLICATIONS IN THE HEMOCOAGULATION SYSTEM DURING LONG-TERM INTRODUCTION OF THE DRY EXTRACT FROM *GERANIUM PALUSTRE* HERB

M. O. Ostapets¹, V. A. Volkovoy¹, N. D. Bunatyan², N. V. Reshetnyak¹, N. V. Derkach¹,
L. V. Lukyina³

¹National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine

²I. M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia

³Kharkiv National Medical University, Kharkiv, Ukraine

The most dangerous complication of the all hemostatic drugs (synthetic and plant) is development of the syndrome of disseminated intravascular coagulation. This article is devoted for the studying of possible complications in the hemocoagulation system during long-term of introduction (during 3 months) of dry extract from *Geranium Palustre* herb. Established, that on 30th day of experiment reduced rate of APTT, that indicating about activation of coagulation mechanisms by «internal» way (the formation of blood protrombinase). In addition, the reduced the level of physiological anticoagulant (antithrombin III), that indicating on inclusion of anticoagulation mechanisms in response to the moderate hypercoagulation. On the 60th day of research work the level of antithrombin III is not different from control dates. Obtained results was noted about performance of the balance between coagulation and anticoagulation systems on 60th day of research work.

On the 60th day of experiment the dates of coagulogram increased to the physiological level and doesn't change during all term of research work (90 days).

Keywords: hemostasis, DIC, hypercoagulation, anticoagulation.

МОЖЛИВІ УСКЛАДНЕННЯ В СИСТЕМІ ГЕМОКОАГУЛЯЦІЇ ПРИ ТРИВАЛОМУ ВВЕДЕННІ СУХОГО ЕКСТРАКТУ З ТРАВИ ГЕРАНІ БОЛОТНОЇ

М. О. Остапець¹, В. А. Волковой¹, Н. Д. Бунатян², Н. В. Решетняк¹, Н. В. Деркач¹,
Л. В. Лук'янова³

¹Національний фармацевтичний університет, Харків, Україна

²Перший московський державний медичний університет ім. І.М.Сеченова, Москва, Росія

³Харківський національний медичний університет, Харків, Україна

Найбільш небезпечно ускладнення усіх гемостатичних засобів (синтетичних та рослинних) є розвиток синдрому дисемінованого внутрішньосудинного зсідання крові. Стаття присвячена вивченню можливих ускладнень в системі гемокоагуляції при тривалому введенні (протягом 3 місяців) сухого екстракту з трави герані болотної. Встановлено, що на 30 добу експерименту дещо знижувався показник АЧТЧ, що свідчило про активацію механізмів зсідання крові за «внутрішнім» шляхом (формування кров'яної протромбінази). Поряд з цим знижувався рівень фізіологічних антикоагулянтів (антитромбіну III), що вказувало на включення механізмів антизсідання крові у відповідь на помірну гіперкоагуляцію. На 60 добу дослідження рівень АТ III не відрізнявся від показників контрольних даних. Одержані результати вказують на врівноваження балансу між системою коагуляції та антикоагуляції на 30-й день дослідження.

На 60 день експерименту показники коагулограми підвищувались до фізіологічного рівня та не змінювались протягом всього терміну дослідження (90 днів).

Ключові слова: гемостаз, ДВЗ-синдром, гіперкоагуляція, антизсідання крові.

Введение. Кровотечения являются опасным для жизни осложнением, которые требуют использования эффективных средств для предотвращения инвалидизации и смертельных последствий. Ассортимент зарегистрированных гемостатических средств в Украине относительно небольшой. В основном он состоит из препаратов синтетического происхождения, которые используются при острых и массивных кровотечениях. Однако для этих препаратов характерно наличие большого количества побочных эффектов. Поэтому целесообразным, и в то же время актуальным вопросом, является поиск новых гемостатических средств, которые были бы одновременно эффективны и безопасны при длительном использовании.

Одним из приоритетных научных направлений Национального фармацевтического университета в разработке новых лекарственных препаратов является изучение растительных биологически активных веществ, которые влияют на систему гемостаза. На кафедре фармакогнозии НФаУ был разработан и изучен фитохимический состав сухого экстракта из травы герани болотной, который по данным народной медицины используется в качестве кровоостанавливающего средства при внутренних и внешних кровотечениях.

Проведенные доклинические исследования показали, что сухой экстракт из травы герани болотной обладает выраженной гемостатической активностью и может быть внедрен как лекарственное средство для лечения и профилактики кровотечений различной этиологии. Пролонгированное введение сухого экстракта из травы герани болотной может привести к развитию осложнений в системе коагуляции и, как следствие, к возникновению ДВС-синдрома. Синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания (ДВС-синдром, коагулопатия потребления) – опасное для жизни нарушение свертываемости крови вследствие массивного высвобождения из тканей тромбопластических веществ [1]. Он характеризуется мозаичной сменой фазы гиперкоагуляции и тромбоза, фазой гипокоагуляции, фибринолиза и геморрагического синдрома [2]. Поэтому **целью работы** было исследование возможных осложнений в системе гемокоагуляции при длительном введении (на протяжении 3 месяцев) исследуемого экстракта.

Материалы и методы: исследование проводили на белых нелинейных крысах массой 170,0 – 190,0 г согласно методическим рекомендациям Государственного Фармакопейного Центра [3]. Все животные были разделены на две группы: 1 группа – контрольная, животным вводили дистиллированную воду в объеме 1 мл; 2 группа – животные, которым вводили исследуемый экстракт в среднеэффективной дозе 3 мг/кг на протяжении 3 месяцев [4]. Исследуемую субстанцию вводили внутривенно ежедневно в виде водного раствора,

стабилизированного эмульгатором твином-80.

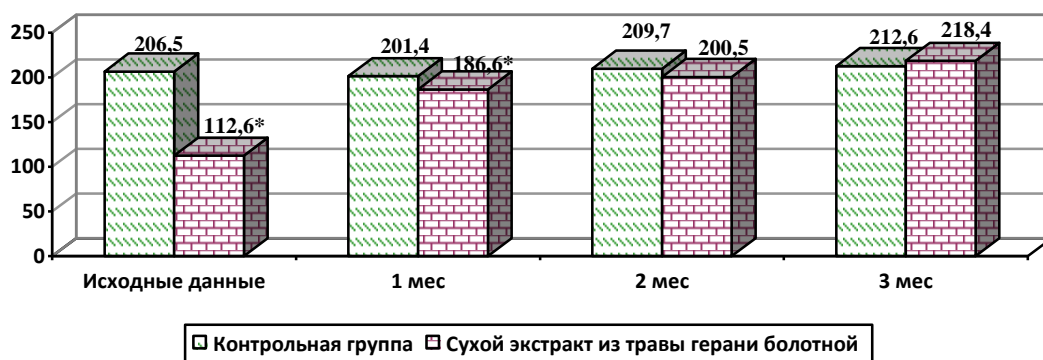
Рацион питания и качество воды соответствовали всем требованиям для данного вида животных и постоянно контролировались.

Поскольку исследуемый экстракт влияет на систему свертывания крови, одним из наиболее важных заданий было установить его влияние на гемокоагуляцию, с целью определения нарастания содержания в плазме растворимых фибрин-мономерных комплексов (РФМК) – клеточные маркеры ДВС-синдрома, спонтанной гиперагрегации тромбоцитов и тромбоцитопении потребления, снижения уровня физиологических антикоагулянтов – антитромбина III (АТ III), протеина С и плазминогена. Поэтому целесообразным было изучение показателей коагулограммы, системы фибринолиза и антисвертывания в динамике при длительном введении сухого экстракта из травы герани болотной. Все исследования проводили согласно общепринятым методикам З. С. Баркагана и А. П. Момота [5].

Все манипуляции с животными проводили в соответствии с национальными «Общими этическими принципами опытов на животных» (Киев, 2001), которые согласуются с положением «Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1986) [6].

Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью программы «Statistica 8.0». Вероятность отличий между показателями контрольной и опытной групп определяли за критериями Стьюдента и Фишера. Уровень достоверности принимали при $p < 0,05$ [7, 8].

Результаты и их обсуждения. Полученные результаты указывают на то, что время кровотечения сокращалось через 1 час после введения исследуемого экстракта. На 30 сутки исследования наблюдалось незначительное уменьшение данного показателя, что, вероятно, было связано со снижением уровня АЧТВ (активированного частичного тромбопластического время). На 60 и 90 сутки введения время свертывания крови нормализовалось до физиологического уровня (рис. 1).



Примечание: * - $p < 0,05$ относительно контроля

Рис. 1. Время кровотечения при длительном введении сухого экстракта из травы герани болотной

При введении сухого экстракта из травы герани болотной на протяжении 3 месяцев показатели коагулограммы опытной группы животных (табл.1) статистически недостоверно отличались от исходных данных и показателей контрольной группы.

Таблица 1

Показатели коагулограммы при длительном введении сухого экстракта из травы герани болотной ($\bar{X} \pm S_x$, $n=10$)

Группа	Показатель	Исходные данные	Срок исследования, мес.		
			1	2	3
Конт- рольная	АЧТВ, с	24,0±0,9	24,6±0,8	23,4±0,9	22,8±0,7
	ПВ, с	12,0±0,4	12,5±0,5	12,4±0,4	12,5±0,5
	ТВ, с	30,5±1,4	33,0±1,5	32,6±1,2	32,1±1,3
	Фибриноген, г/л	2,5±0,3	2,5±0,3	2,6±0,4	2,4±0,4
	РФМК, %	3,2±0,2	3,2±0,2	3,3±0,3	3,2±0,3
Опыт (ЕД ₅₀)	АЧТВ, с	23,4±0,7	18,2±0,7*	21,5±0,6	22,4±0,8
	ПВ, с	12,4±0,4	12,8±0,4	12,5±0,3	12,5±0,4
	ТВ, с	31,6±1,3	26,5±1,4	29,8±1,7	31,2±1,6
	Фибриноген, г/л	2,1±0,4	2,7±0,37	2,6±0,3	2,6±0,3
	РФМК, %	3,0±0,4	3,2±0,2	3,2±0,3	3,2±0,3

Примечания:

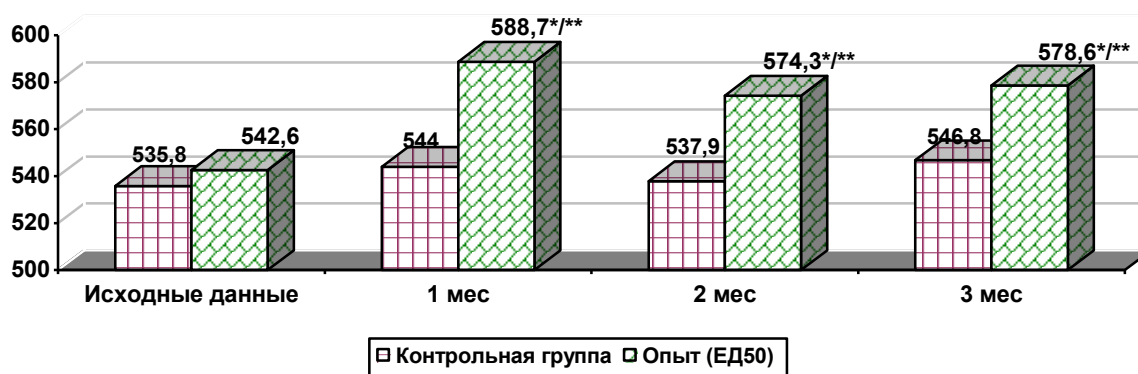
- * - $p < 0,05$ относительно контрольной группы;
- n – количество животных в каждой группе.

АЧТВ является одним из наиболее распространенных тестов для выявления широкого диапазона коагуляционных нарушений. Данный показатель является маркером при изменении

количества фибриногена, активности протромбина, а также всех факторов свертывания, за исключением VII, XIII. Наряду с показателем АЧТВ определяют ПВ (протромбиновое время) и ТВ (тромбиновое время). В комплексе они отражают активацию по внешнему и внутреннему пути свертывания крови [5].

На 30 сутки эксперимента наблюдалось снижение уровня АЧТВ на 22 % ($p < 0,05$), повышения уровня ПВ на 2 % и снижение ТВ на 19,7 % относительно контрольной группы животных. Полученные результаты свидетельствуют об активации системы свертывания крови по «внутреннему» механизму (I стадия гемокоагуляции). На 60 сутки эксперимента уровень данных показателей нормализовался до физиологического уровня.

Известно, что в процессе образования тромбоцитарной пробки одним из ключевых звеньев являются тромбоциты, функция которых состоит в их адгезии, агрегации, секреции и прокоагулянтной активности. Совокупность этих реакций составляет основу первичного (тромбоцитарного) гемостаза или приводит к формированию тромбоцитарной пробки [9]. Поэтому важным аспектом был контроль количества тромбоцитов в периферической крови крыс. При введении сухого экстракта из травы герани болотной в течение всего срока исследования наблюдалась тенденция к увеличению количества тромбоцитов по сравнению с контрольной группой животных и исходными данными. Однако уровень кровяных пластинок в периферической крови оставался в пределах физиологической нормы (рис. 2).



Примечания:

1. * - $p < 0,05$ относительно контроля;
2. * - $p < 0,05$ относительно исходных данных.

Рис. 2. Количество тромбоцитов в периферической крови крыс при длительном введении сухого экстракта из травы герани болотной

Одними из наиболее информативных показателей при ДВС-синдроме являются показатели системы фибринолиза, а также уровень физиологических антикоагулянтов. Известно, что защита от генерализованного тромбообразования и поддержка крови в жидком

состоянии осуществляется с помощью эффективной системы антикоагулянтов, регулирующих данный процесс. Одним из самых мощных физиологических антикоагулянтов является АТ III. В процессе прогрессирования ДВС-синдрома нарастает снижение содержания в крови АТ III, поскольку данное вещество расходуется на инактивацию факторов свертывания крови. Таким образом, его активность отражает адаптационные возможности системы гемостаза [10].

Таблица 3

Влияние сухого экстракта из травы герани болотной при длительном введении на показатели системы фибринолиза и антисвертывания крови ($X \pm S_x$, n=10)

Группа	Показатель	Исходные данные	Срок исследования, мес.		
			1	2	3
Конт- рольная	ХП-зависимый лизис, с	8,4±0,2	8,8±0,32	8,6±0,18	8,0±0,3
	Плазминоген, %	82,5±4,1	83,8±3,7	81,8±4,0	82,2±3,6
	Протеин С, %	90,2±3,7	92,0±4,2	91,4±4,4	91,8±4,0
	Антитромбин III, с	57,2±6,5	59,5±6,8	55,2±5,8	54,6±6,2
Опыт (ЕД ₅₀)	ХП-зависимый лизис, с	8,6±0,4	9,4±0,52	9,0±0,28	8,2±0,3
	Плазминоген, %	80,8±3,6	82,2±4,3	83,4±3,9	82,8±3,6
	Протеин С, %	91,6±3,5	92,4±4,3	90,8±3,2	91,1±3,8
	Антитромбин III, с	58,6±7,1	42,6±3,7*	54,2±5,9	57,8±6,4

Примечание: * - $p < 0,05$ относительно контроля

При исследовании показателей системы фибринолиза и уровня физиологических антикоагулянтов в течение длительного введения сухого экстракта из травы герани болотной (табл. 3) установлено, что на 30 сутки эксперимента наблюдалось снижение уровня АТ III на 27 % по сравнению с контролем, что может свидетельствовать о включении механизмов антисвертывания крови в ответ на умеренную гиперкоагуляции. На 60 сутки эксперимента уровень АТ III достоверно не отличался от показателей контрольной группы животных и исходных данных.

Полученные результаты могут указывать на уравнивание гемостатического дисбаланса путем взаимодействия между системой коагуляции и антисвертыванием крови.

Выводы:

Длительное введение сухого экстракта из травы герани болотной не приводит к развитию патологических состояний в системе гемокоагуляции. Однако на 30 сутки эксперимента отмечалась незначительная активация как системы свертывания, так и антисвертывания крови. На 60 день исследований данные показатели коагулограммы

повышались до физиологического уровня и не изменялись до конца исследования (90 день).

Список литературы:

1. Синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания: мышинные модели для испытания новых препаратов *in vivo* / Е. В. Моисеева, Н. В. Антипова, Д. А. Аронов [и др.] // Материалы конференций: Инновационные медицинские технологии, Сочи, 23 – 27 сентября 2014 г. – С. 41–42.

2. Литвицкий П. Ф. Патология системы гемостаза / П. Ф. Литвицкий // Вопросы современной педиатрии. – 2014. – № 13 (2). – С. 65–76.

3. Стефанов О. В. Доклінічні дослідження лікарських засобів: метод. реком. / О. В. Стефанов. – К. : Авіцена, 2001. – С. 84–90.

4. Остапець М. О. Вивчення гострої токсичності та ефективної дози сухого екстракту з трави герані болотної / М. О. Остапець, В. А. Волковой, Г. П. Фоміна // Клінічна та експериментальна патологія. – 2015. – Т. XIV, № 1 (51). – С. 113–116.

5. Баркаган З. С. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза / З. С. Баркаган, А. П. Момот. – М. : Ньюдиамед, 2008. – 292 с.

6. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and others scientific purposes. – Council of Europe. Strasburg, 1986. – № 123. – P. 52.

7. Методы статистической обработки медицинских данных : метод. рек. / А. Г. Кочетов, О. В. Лянг, И. В. Жиров [и др.]. – М. : РКНПК, 2012. – 42 с.

8. Павлова В. Ю. Основные вопросы статистического анализа в медицинских исследованиях / В. Ю. Павлова // Клиническая онкогематология. – 2009. – Т. 2, № 4. – С. 374–377.

9. Jenne C. N. Platelets : bridging hemostasis, inflammation and immunity / C. N. Jenne, R. Urrutia, P. Kubes // International Journal of Laboratory Hematology. – 2013. – Vol. 35, № 3. – P. 254–261.

10. Петрищев Н. Н. Гемостаз : физиологические механизмы, принципы диагностики основных форм геморрагических заболеваний / Н. Н. Петрищев, Л. П. Папаян. – СПб. : Изд-во СПбГМУ, 1999. – 91 с.

References:

1. Syndrome of disseminated intravascular svertyvanyuablood clotting: mise's models for investigated the new drugs *in vivo* / E. V. Moiseev, N. V. Antipova, D. A. Aronov [et al.] // Materials of conferences: Innovative medical technology, Sochi. 23–27 September 2014 y. – P. 41–42. (In Russian)

2. Lytvytskyu P. F. Pathology of hemostasis system / P. F. Lytvytskyu // Questions of Modern Pediatrics. – 2014. – № 13 (2). – P. 65–76.

3. Stefanov O. V. Preclinical studies of drugs: method. Recom. / O. V. Stefanov. – K., Avicenna, 2001. – P. 84–90.
4. Ostapets M. O. Study of acute toxicity and effective dose of dry extract from *Geranium Palustre* herb / M. O. Ostapets, V. A. Volkovoy, G. P. Fomina // Clinical and Experimental Pathology. – 2015. – T. XIV, № 1 (51). – P. 113–116. (In Ukrainian)
5. Barkagan Z. S. Diagnostic and control therapy the disturbance of hemostasis / Z. S. Barkagan, A. P. Momot. – M. : Newdiamed, 2008. – 292 p. (In Russian)
6. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and others scientific purposes. – Council of Europe. Strasburg, 1986. – № 123. – P. 52.
7. Methods of medical dates of statistics : method. rec. / A. G. Kochetov, A. Liang, I.V. Girov [et al.]. – Moscow: Cardiology, 2012. – 42 p. (In Russian)
8. Pavlov V. Y. Basic questions of statistic analysis in the study of medical experiments / V. Y. Pavlov // Clinical onkohematology. – 2009. – Vol. 2, № 4. – P. 374–377. (In Russian)
9. Jenne C. N. Platelets : bridging hemostasis, inflammation and immunity / C. N. Jenne, R. Urrutia, P. Kubes // International Journal of Laboratory Hematology. – 2013. – Vol. 35, № 3. – P. 254–261.
10. Petrishev N. N. Hemostasis: physiological mechanisms, principles of diagnostic of major forms of hemorrhagic diseases / N. N. Petrishev, L. P. Papayan. – SPb. : St. Petersburg State University Publishing House, 1999. – 91 p. (In Russian).