

## ОЦІНКА ТРОМБОЦИТАРНОГО КОМПОНЕНТА ГЕМОСТАЗУ У ЩУРІВ З МЕТАБОЛІЧНИМ СИНДРОМОМ НА ТЛІ ДЕФІЦИТУ ЕСТРОГЕНІВ

Горбенко Н. І., Оксененко С. В., Іванова О. В., Боріков О. Ю., Степанова А. В., Таран К. В., Звягіна Т. С.

*ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського АМН України», м. Харків*

Метаболічний синдром є важливою медико-соціальною проблемою сучасності, що зумовлено його широкою розповсюдженістю та пов'язаною з ним надзвичайно високою летальністю [1]. Відомо, що ризик атеросклеротичних кардіоваскулярних захворювань суттєво підвищується за наявності метаболічного синдрому, який включає інсулінорезистентність, абдомінальне ожиріння, атерогенну дисліпідемію, гіпертонію, порушений глюкозний гомеостаз, прозапальний стан [2]. Крім того, одним із незалежних чинників ризику серцево-судинних ускладнень є протромбічний стан, який характеризується підвищенням рівнів фібриногену, інгібітора активатора плазміногену (РАІ-1) та порушенням функцій тромбоцитів [3].

Дефіцит естрогенів, який виникає у жінок після менопаузи, розглядають як додатковий чинник кардіометаболічного ризику, підтвердженням чого є впровадження спеціального терміну «постменопаузальний метаболічний синдром» [4]. Зміни гормонального профілю внаслідок дефіциту естрогенів у жінок в постменопаузальний період призводять до дисрегуляції обмінних процесів,

що індукує атерогенні процеси і ішемічну хворобу серця [5].

Відомо, що рецептори до естрогену присутні на мембрані тромбоцитів та їх попередників мегакаріоцитів, тому будь-які зміни рівня даного гормону в крові, зокрема при менопаузі, можуть впливати на циркулюючий тромбоцитарний пул [6]. Так, в результаті епідеміологічних досліджень у здорових постменопаузальних жінок було виявлено підвищення рівня таких прокоагуляційних чинників, як фактор Віллебранда та фібриноген [7]. Зростання кількості та агрегаційних властивостей тромбоцитів також спостерігали в крові експериментальних самців-щурів після кастрації [8].

Таким чином, наявність як синдрому інсулінорезистентності, так і дефіциту естрогенів на сьогодні розглядають в якості незалежних чинників ризику протромбічних станів у жінок.

Метою нашої роботи було дослідження швидкості та ступеня агрегації тромбоцитів у щурів з експериментальним метаболічним синдромом за умов різної забезпеченості організму естрогенами.

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Дослідження проведено на статевозрілих щурах лінії Вістар. Гіпоестрогенію відтворювали шляхом двосторонньої оваріектомії під легким ефірним наркозом [9] та ве-

ріфікували за масою матки. Метаболічний синдром індукували 16-тижневим утриманням оваріектомованих тварин на високожировій дієті (ВЖД), в якій білки, вугле-

води, жири складали, відповідно, 4,9; 26,4; 68,8% від загальних калорій. Контрольні щури знаходилися на стандартній дієті віварію, яка містила білки, вуглеводи, жири (15,0, 81,1, 3,9%, відповідно, від загальних калорій) [10].

Стан глюкозного гомеостазу оцінювали наприкінці експерименту за показниками базальної глікемії та під час внутрішньочеревного тесту толерантності до глюкози (ВЧТТГ) (3 г/кг маси тіла). Площу під глікемічними кривими (ППК) визначали за допомогою комп'ютерної програми «Mathlab». Коефіцієнт чутливості до інсуліну оцінювали під час короткого інсулінового тесту

(0,5 Од/кг маси тіла) [11]. В якості інтегрального показника визначали масу тіла.

Стан тромбоцитарного компонента гемостазу визначали за ступенем та швидкістю аденозиндіфосфат (АДФ)-індукованої агрегації тромбоцитів [12].

Статистичну обробку отриманих результатів проводили методами варіаційної статистики. Для визначення характеру розподілу отриманих результатів дослідження використовували критерій Шапіро-Уїлка. У разі нормального розподілу проводили дисперсійний аналіз ANOVA, для множинного порівняння використовували критерій Н'юмана-Кайлса [13].

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

В результаті проведеного дослідження встановлено, що через 16 тижнів експерименту рівень глікемії натще не відрізнявся від контролю в жодній з експериментальних груп (табл. 1). В той же час було виявлено, що ВЖД спричиняє розвиток інтолерантності до вуглеводів як у інтактних, так і у оварієктомованих щурів, про що свідчило достовірне підвищення площі під відповідними глікемічними кривими відносно контрольних показників. Визначення коефіцієнта чутливості до інсуліну також підтвердило розвиток інсулінорезистентності в даних групах порівняно з інтактним контролем (див. табл. 1).

Слід зазначити, що дефіцит естрогенів без поєднання з ВЖД не призводив до розвитку вищевказаних складових метаболічного синдрому (див. табл. 1), що співпадає з результатами наших попередніх досліджень, в яких дефіцит естрогенів супроводжувався зниженням чутливості до інсуліну тільки в поєднанні з високовуглеводним навантаженням [14].

Підтвердженням естрогендефіцитного стану у експериментальних тварин було майже 5-разове зниження маси матки після двосторонньої оварієктомії (див. табл. 2).

Відомо, що основним підґрунтям для розвитку інсулінорезистентності та метаболічного синдрому є ожиріння, яке за умов високожирової дієти є наслідком гіперфа-

гії у експериментальних тварин. Останнє пов'язується з прогресуванням центральної резистентності до анорексигенної дії інсуліну та зниженням експресії анорексигенних пептидів в гіпоталамусі [15].

Оцінка приросту маси тіла експериментальних тварин (див. табл. 2) показала, що як високожирова дієта, так і дефіцит естрогенів спричиняють дворазове збільшення даного показника, тоді як за умов їх комбінації приріст маси тіла підвищується в 3,5 рази, тобто спостерігається адитивність стимулюючого впливу дефіциту естрогенів та надлишку жирів в дієті на розвиток ожиріння.

Таким чином, в результаті проведених досліджень встановлено наявність основних компонентів метаболічного синдрому — інсулінорезистентності та абдомінального ожиріння у оварієктомованих щурів, які отримували високожирову дієту. Відомо, що кожний компонент метаболічного синдрому є незалежним чинником ризику атерогенних процесів і серцево-судинних захворювань, проте їх сполучення підвищує даний ризик значно більшою мірою, ніж являє собою сума окремих складових [2].

Існують повідомлення, що підвищена функціональна активність тромбоцитів (зростання їх адгезивної та агрегаційної здатності) та тенденція до тромбоутворення спостерігається у пацієнтів із атеросклеро-

Таблиця 1

Показники глюкозного гомеостазу у контрольних та оварієктомованих щурів із метаболічним синдромом, індукованим високожировою дієтою ( $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$ ), n = 6

Група	Базальна глікемія, ммоль/л	ППК, ммоль/л·хв	Коефіцієнт чутливості до інсуліну, %
Інтактний контроль	5,19 ± 0,23	975,4 ± 41,4	33,1 ± 2,9
Псевдооперація + ВЖД	5,90 ± 0,32	1742,1 ± 201,3 <sup>1)</sup>	17,2 ± 3,2 <sup>1)</sup>
Оварієктомія	5,05 ± 0,10	1071,5 ± 176,3 <sup>2)</sup>	34,5 ± 4,0 <sup>2)</sup>
Оварієктомія + ВЖД	5,37 ± 0,16	1837,9 ± 145,6 <sup>1)3)</sup>	17,3 ± 4,8 <sup>1)3)</sup>

Примітка. <sup>1)</sup>Статистично значущі відмінності у порівнянні з даними для групи «інтактний контроль»,  $p \leq 0,05$ ; <sup>2)</sup>статистично значущі відмінності у порівнянні з даними для групи «псевдооперація + ВЖД»,  $p \leq 0,05$ ; <sup>3)</sup>статистично значущі відмінності у порівнянні з даними для групи «оварієктомія»,  $p \leq 0,05$ .

Таблиця 2

Маса матки та приріст маси тіла у контрольних та оварієктомованих щурів із метаболічним синдромом, індукованим високожировою дієтою ( $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$ ), n = 6

Група	Маса матки, г	Приріст маси тіла, %
Інтактний контроль	0,52 ± 0,04	12,1 ± 1,6
Псевдооперація + ВЖД	0,62 ± 0,09	28,4 ± 2,8 <sup>1)</sup>
Оварієктомія	0,17 ± 0,03 <sup>1) 2)</sup>	29,1 ± 2,6 <sup>1)</sup>
Оварієктомія + ВЖД + плацебо	0,11 ± 0,02 <sup>1) 2)</sup>	41,8 ± 2,4 <sup>1) 2) 3)</sup>

Примітка. Те саме, що в табл. 1.

Таблиця 3

Ступінь та швидкість АДФ-індукованої агрегації тромбоцитів у контрольних та оварієктомованих щурів із метаболічним синдромом, індукованим високожировою дієтою ( $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$ ), n = 6

Група	Ступінь агрегації, %	Швидкість агрегації, у.о.
Інтактний контроль	18,1 ± 2,7	101 ± 10
Псевдооперація + ВЖД	29,8 ± 3,1 <sup>1)</sup>	141 ± 34
Оварієктомія	17,4 ± 2,5 <sup>2)</sup>	182 ± 16 <sup>1)</sup>
Оварієктомія + ВЖД	43,2 ± 6,1 <sup>1) 2) 3)</sup>	289 ± 35 <sup>1) 2) 3)</sup>

Примітка. Те саме, що в табл. 1.

зом, серцевими захворюваннями, гіпертензією та діабетом [16]. Можливими механізмами, які обумовлюють тромбоцитарну дисфункцію, вважають резистентність

до інгібуючого впливу інсуліну та порушену продукцію ендотеліальних антиагрегантів NO та простагліцину-2 [17]. Епідеміологічними дослідженнями доведено, що за

умов метаболічного синдрому спостерігається гіперкоагуляція (різке підвищення концентрації фібриногену, активності фактору VII і V згортання крові) та зниження фібринолітичної активності крові (активація синтезу інгібітора активатора тканинного плазміногену 1 — PAI-1 і, як наслідок цього, зменшення утворення плазміну із плазміногену та гальмування швидкості розщеплення фібрину), що сприяє підвищенню тромbogenного потенціалу та порушенню в системі мікроциркуляції [18].

В результаті виконаних нами досліджень встановлено, що у щурів із еуестрогенією, яких утримували на ВЖД, підви-

щується ступінь АДФ-індукованої агрегації тромбоцитів порівняно з інтактним контролем (табл. 3), що вказує на негативний вплив надмірного споживання жирів на тромбоцитарний компонент гемостазу.

У оваріектомованих тварин, які знаходились на стандартній дієті, ступінь агрегації не відрізнявся від контрольних значень, але швидкість була підвищена майже вдвічі відносно показників інтактного контролю. В той же час, комбінований вплив ВЖД та дефіциту естрогенів спричиняв більш виразне підвищення обох досліджуваних показників (див. табл. 3), що свідчить про сумачію їх прокоагулянтного ефекту.

## ВИСНОВКИ

1. Високожирова дієта призводить до зростання ступеня агрегації тромбоцитів незалежно від рівня ендогенних естрогенів у самиць.
2. Дефіцит естрогенів посилює тромбоцитарну дисфункцію у щурів із метаболічним синдромом, індукованим високожировою дієтою, що свідчить про сумачію їх прокоагулянтного ефекту.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Братусь В. В. Метаболический синдром: природа и механизмы развития [Текст] / В. В. Братусь, В. А. Шумаков, Т. В. Талаева // Журн. АМН України. — 2004. — Т. 10. — С. 646–670.
2. Grundy S. M. Metabolic syndrome: connecting and reconciling cardiovascular and diabetes worlds [Text] / S. M. Grundy // J. Amer. Coll. Cardiol. — 2006. — Vol. 47. — P. 1093–100.
3. Wong N. D. Metabolic syndrome: cardiovascular risk assessment and management [Text] / N. D. Wong // Am. J. Cardiovasc Drugs. — 2007. — Vol. 7, № 4. — P. 259–272.
4. Risto J. Kaaja. Metabolic syndrome and the menopause [Text] / Risto J. Kaaja // Menopause Int. — 2008. — Vol. 14. — P. 21–25.
5. Harman S. M. Estrogen replacement in menopausal women: recent and current prospective studies, the WHI and the KEEPS [Text] / S. M. Harman // Gend Med. — 2006. — Vol. 3, № 4. — P. 254–269.
6. Kunicki T. J. Platelet collagen receptors and risk prediction in stroke and coronary artery disease [Text] / T. J. Kunicki, Z. M. Ruggeri // Circulation. — 2001. — Vol. 104. — P. 1451–1453.
7. Preanalytical conditions that affect coagulation testing, including hormonal status and therapy [Text] / M. Blomback, B. A. Konkle, M. J. Manco-Johnson [et al.] // Journal of Thrombosis and Haemostasis. — 2007. — Vol. 5. — P. 855–858.
8. Progesterone and 17 beta-estradiol acutely stimulate nitric oxide synthase activity in rat aorta and inhibit platelet aggregation [Text] / J. Selles, N. Polini, C. Alvarez [et al.] // Life Sciences. — 2001. — Vol. 69. — P. 815–827.
9. Западнюк И. П. Лабораторные животные, их разведение, содержание и использование в эксперименте [Текст] / И. П. Западнюк, В. Ю. Западнюк, Е. А. Захария — К.: Гос. мед. изд-во УССР, 1962. — 253 с.
10. Mechanism of fat-induced hepatic gluconeogenesis: effect of metformin [Text] / S. Song [et al.] // Amer. J. Physiol. Endocrinol. Metabol. — 2001. — Vol. 281, № 2. — P. E275–282.
11. The short insulin tolerance test for determination of insulin sensitivity: a comparison with the euglycaemic clamp [Text] / A. Akinmokun [et al.] // Diabet. Med. — 1992. — Vol. 9, № 4. — P. 432–437.
12. Пособие по изучению адгезивно-агрегационной активности тромбоцитов [Текст] / А. Л. Берковский, С. А. Васильев, Л. В. Жердева [и др.] — М.: [б. и.], 2002. — 28 с.
13. Гланс С. Медико-биологическая статистика [Текст] / С. Гланс; пер. с англ. Ю. А. Данилова. — М.: Практика, 1998. — 459 с.
14. Особливості метаболічних проявів синдрому інсулінорезистентності за умов дефіциту естрогенів у щурів [Текст] / Н. І. Горбенко, С. В. Оксененко,

- О. Ю. Бориков [та ін.] // Практична медицина. — 2008. — Т. 14, № 2. — С. 118–126.
15. Reduced anorexic effects of insulin in obesity — prone rats fed a moderate — fat diet [Text] / D. J. Clegg, S. C. Benoit, J. A. Reed [et al.] // J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. — 2005. — Vol. 288. — P. 981–986.
16. Megakaryocyte ploidy and platelet changes in human diabetes and atherosclerosis [Text] / A. S. Brown, A. S. Hong, A. DeBelder, [et al.] // Atheroscler. Tromb. Vasc. Biol. — 1997. — Vol. 17, № 4. — P. 802–807.
17. Platelet dysfunction in type 2 diabetes [Text] / A. I. Vinik, T. Erbas, T. S. Park [et al.] // Diabetes Care. — 2001. — Vol. 24, № 8. — P. 1476–1484.
18. Association between increased estrogen status and increased fibrinolytic potential in the Framingham Offspring Study [Text] / O. C. Gebara, M. A. Mittleman, P. Sutherland [et al.] // Circulation. — 1995. — Vol. 91, № 7. — P. 1952–1958.

## ОЦІНКА ТРОМБОЦИТАРНОГО КОМПОНЕНТУ ГЕМОСТАЗУ У ЩУРІВ ІЗ МЕТАБОЛІЧНИМ СИНДРОМОМ НА ТЛІ ДЕФІЦИТУ ЕСТРОГЕНІВ

Горбенко Н. І., Оксененко С. В., Іванова О. В., Бориков О. Ю., Степанова А. В., Таран К. В., Звягіна Т. С.

*ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського АМН України», м. Харків*

Досліджено тромбоцитарний компонент гемостазу у щурів із метаболічним синдромом, індукованим високожировою дієтою, за умов еу- та гіпоестрогенії. Встановлено, що у самиць, які отримували високожирову дієту, відбувається зростання ступеня, а в овариєктомованих щурів, які утримувалися на стандартній дієті, збільшується швидкість АДФ-індукованої агрегації тромбоцитів. Комбінований вплив дієти та дефіциту естрогенів спричиняє більш виразне підвищення обох досліджуваних показників, що свідчить про сумачію їх прокоагулянтного ефекту.

Ключові слова: експериментальний метаболічний синдром, дефіцит естрогенів, агрегація тромбоцитів.

## ОЦЕНКА ТРОМБОЦИТАРНОГО КОМПОНЕНТА ГЕМОСТАЗА У КРЫС С МЕТАБОЛИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ НА ФОНЕ ДЕФИЦИТА ЭСТРОГЕНОВ

Горбенко Н. И., Оксененко С. В., Иванова О. В., Бориков А. Ю., Степанова А. В., Таран К. В., Звягина Т. С.

*ГУ «Институт проблем эндокринной патологии им. В. Я. Данилевского АМН Украины», г. Харьков*

Исследован тромбоцитарный компонент гемостаза у крыс с метаболическим синдромом, индуцированным высокожировой диетой, в условиях эу- и гипоестрогении. Установлено, что у самок, которые получали высокожировую диету, повышается степень, а у овариэктомированных крыс, получавших стандартную диету, увеличивается скорость АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов. Комбинированное влияние высокожировой диеты и дефицита эстрогенов приводит к более выраженному повышению обоих исследуемых показателей, что свидетельствует о суммации их прокоагулянтных эффектов.

Ключевые слова: экспериментальный метаболический синдром, дефицит эстрогенов, агрегация тромбоцитов.