

## ФИЗИОЛОГИЯ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ

УДК [616-005.1-08:331.1]:615.22

doi: 10.17223/19988591/34/10

**И.Н. Медведев**

*Курский институт социального образования (филиал)  
Российского государственного социального университета, г. Курск, Россия*

### **Функциональная активность тромбоцитов у крыс в течение онтогенеза**

*Проведенное обследование крыс продемонстрировало в период между 3-м и 12-м мес жизни стабильность характеристик перекисного окисления липидов, антиоксидантной защиты тромбоцитов и активности кровяных пластинок in vitro и in vivo. У крыс в возрасте от 12 до 24 мес отмечено неуклонное изменение исходно оптимальных показателей: усиление перекисного окисления липидов (повышение ацилгидроперекисей на 15,6%), ослабление тромбоцитарной антиоксидантной защиты (снижение активности супероксиддисмутазы на 15,4%), повышение их агрегации in vitro (нарастание на 11–15%) и увеличение в крови суммы их активированных форм (на 43,6%) при одновременном росте количества свободно перемещающихся агрегатов всех размеров (на 62,8%). Это сопровождалось у крыс нарастанием после 12 мес количественного содержания в тромбоцитах АТФ и АДФ (на 4,6 и 12,2% соответственно) и их секреции из кровяных пластинок (на 12,7 и 13,8% соответственно), уровня актина (на 17,0%) и миозина (на 11,9%).*

**Ключевые слова:** онтогенез; тромбоциты; агрегация; секреция; внутрисосудистая активность; перекисное окисление липидов.

### **Введение**

Большое значение тромбоцитарной активности в нормальном обеспечении адаптивных возможностей организма сегодня не вызывает сомнения [1, 2]. Тромбоциты играют важную роль в создании оптимальных условий микроциркуляции [3], необходимых для роста, развития и максимально возможного проявления в фенотипе всех наследственно обусловленных признаков [4, 5]. Эти чутко реагирующие на все внешние воздействия форменные элементы крови способны активироваться под действием большого числа факторов среды физической и химической природы [6, 7]. Меняя способность к агрегации, тромбоциты оказывают влияние на текучесть крови и тем самым на ее приток к тканям [8, 9]. Большой научный и практический интерес представляет выяснение онтогенетической динамики активности

тромбоцитов ввиду их непосредственного участия в тромбообразовании [10, 11], что особенно актуально для моделей сердечно-сосудистой патологии [12, 13]. По мере увеличения хронологического возраста тромбоциты у человека меняют свою активность [14]. В этой связи представляется весьма оправданным изучение возрастной динамики тромбоцитарной активности в течение онтогенеза у крыс, являющихся доступными и весьма часто используемыми в исследованиях лабораторными животными. Полученные сведения могут быть полезны в экспериментах по определению оптимизирующих воздействий на тромбоцитарную активность в отдельных возрастах и при различных патологических состояниях [15, 16], наиболее распространенных у человека.

Целью настоящего исследования явилось выяснение онтогенетической динамики функциональной активности тромбоцитов у здоровых крыс.

### **Материалы и методики исследования**

Работа выполнена в строгом соответствии с этическими принципами, установленными Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (принятой в Страсбурге 18.03.1986 и подтвержденной в Страсбурге 15.06.2006). В исследование взяты здоровые самцы крыс линии Вистар ( $n = 143$ ), полученные в возрасте 2 мес из питомника лабораторных животных ФИБХ РАН (Московская область, г. Пущино). Животные содержались в виварии в просторных клетках (на 1 животное приходилось 200 см<sup>2</sup>). В одной клетке размещалось не более 8 особей. 2 раза в неделю животных пересаживали в чистые продезинфицированные клетки, на дно помещали подстилку толщиной 5–10 мм (древесные опилки, стружка или подстилочный торф), которая перед применением автоклавировалась в сухожаровом шкафу при температуре 150–180°C. Подстилка менялась ежедневно. Использовалось естественное освещение, поддерживались температура 18–22°C и относительная влажность 50–65%. В виварии максимально допустимой концентрацией в воздухе аммиака считалось 0,01 мг/л, углекислоты по объему – 0,15%, при кратности воздухообмена (объемов в час) – вытяжка 8, приток 10. До взятия под наблюдение крысы в экспериментах не участвовали; они получали полнорационный комбикорм для лабораторных животных ПК-120 (ООО «Лабораторкорм, г. Москва»); вода имелась в свободном доступе.

Кровь брали из хвостовой вены однократно (у 25 крыс – в возрасте 3 мес, у 27 – в возрасте 6 мес, у 30 – 12 мес, у 32 – 18 мес и у 29 – в возрасте 24 мес. Оценивали общее состояние и проводили общие биохимические и гематологические анализы крови. Тромбоциты получали из богатой тромбоцитами плазмы путем их отмывания и ресуспендирования с последующей оценкой уровня малонового диальдегида (МДА) в реакции восстановления тиобарбитуровой кислоты с установлением содержания ацилгидроперокси-

сей (АГП) [17]. Определяли функциональные возможности внутритромбоцитарных ферментов антиокисления – каталазы и супероксиддисмутаза (СОД) [18]. В тромбоцитах выявляли содержание аденозинтрифосфата (АТФ) и аденозиндифосфата (АДФ), оценивали величину их секреции под влиянием коллагена. Белковый состав цитоскелета кровяных пластинок (актин и миозин) устанавливали в условиях активации и агрегации тромбоцитов с АДФ и тромбином [19]. Число тромбоцитов в крови животных подсчитывали в камере Горяева. Агрегацию тромбоцитов (АТ) регистрировали визуальным микрометодом [20] с применением ряда индукторов: АДФ ( $0,5 \times 10^{-4}$  М), коллагена (разведение 1:2 основной суспензии), тромбина (0,125 ед/мл), ристомицина (0,8 мг/мл),  $H_2O_2$  ( $7,3 \times 10^{-3}$  М), адреналина ( $5 \times 10^{-6}$  М) и их сочетаний (АДФ и адреналин; АДФ и коллаген; адреналин и коллаген). Выраженность внутрисосудистой активности тромбоцитов (ВАТ) устанавливалась визуальным методом с применением фазово-контрастного микроскопа (Olympus CX-41, Япония),  $\times 1200$  [20]. Полученные данные обрабатывали с применением критерия Стьюдента в программе StatSoft STATISTICA for Windows 6.0.

### Результаты исследования и обсуждение

Общее состояние крыс и результаты общих биохимических параметров плазмы крови всех возрастных групп оценивались как нормальные. Исследования биохимических характеристик тромбоцитов в онтогенезе продемонстрировали стабильность состояния животных между 3-м и 12-м мес жизни. Так, содержание АГП в кровяных пластинках крыс 3-месячного возраста составляло ( $2,41 \pm 0,16 D_{233}/10^9$  тр.), оставаясь стабильным до 12 мес ( $2,43 \pm 0,10 D_{233}/10^9$  тр.), повышаясь к 18 мес до  $2,63 \pm 0,17 D_{233}/10^9$  тр. и дополнительно нарастая к 24 мес до  $2,81 \pm 0,22 D_{233}/10^9$  тр. Количество МДА в тромбоцитах в 3-месячных крыс находилось на уровне  $0,70 \pm 0,10$  нмоль/ $10^9$  тр., сохраняясь без динамики до 12 мес жизни ( $0,72 \pm 0,13$  нмоль/ $10^9$  тр.), нарастая к 18 мес до  $0,85 \pm 0,16$  нмоль/ $10^9$  тр, и к 24 мес. – до  $0,93 \pm 0,19$  нмоль/ $10^9$  тр. Активность каталазы и СОД тромбоцитов оказалась стабильно высокой до 12 мес ( $9845,2 \pm 12,14$  МЕ/ $10^9$  тр. и  $1870,7 \pm 15,16$  МЕ/ $10^9$  тр.), а в более старшем возрасте снижалась и составляла у 24-месячных животных  $8570,6 \pm 17,19$  МЕ/ $10^9$  тр. и  $1620,7 \pm 4,27$  МЕ/ $10^9$  тр. соответственно.

Выявленная динамика активности свободнорадикальных процессов в течение онтогенеза во многом обеспечивала выявляемое у них состояние функциональных механизмов активации кровяных пластинок, в том числе оптимальность процесса самосборки актино-миозинового комплекса, а также и количественного содержания в тромбоцитах и секреции из них АДФ и АТФ.

Так, в течение срока наблюдения стабильно невысокое до 12 мес содержание АТФ и АДФ в тромбоцитах крыс ( $5,61 \pm 0,17$  мкмоль/ $10^9$  тр. и  $3,36 \pm 0,12$  мкмоль/ $10^9$  тр.) постепенно нарастало до  $5,87 \pm 0,21$  мкмоль/ $10^9$  тр. и  $3,77 \pm 0,18$  мкмоль/ $10^9$  тр. соответственно в 24 мес. Выраженность секреции

АТФ и АДФ из тромбоцитов в случае воздействия коллагена в течение жизни увеличивалась на 12,7 и 13,8% соответственно (табл. 1).

Т а б л и ц а 1 [Table 1]

**Содержание актина и миозина в тромбоцитах крыс в течение онтогенеза**  
**[Content of actin and myosin in rat platelets during ontogenesis]**

Параметры [Parameters]		Возраст крыс (M±m), n = 143 [Age of rats]				
		3 мес. [3 months], n = 25	6 мес., [6 months], n = 27	12 мес. [12 months], n = 30	18 мес. [18 months], n = 32	24 мес. [24 months], n = 29
Актин [Actin]	В интактном состоянии, % к общему содержанию белка [In an intact state, % of the total protein content]	32,1±0,12	33,6±0,14	34,6±0,08	38,2±0,13**	40,5±0,14**
	На фоне АДФ активации, % к общему содержанию белка [Affected by ADP activation, % of the total protein content]	36,6±0,10	37,2±0,16	38,5±0,17	39,9±0,20*	42,6±0,12**
	На фоне АДФ агрегации, % к общему содержанию белка [Affected by ADP aggregation, % of the total protein content]	42,6±0,19	43,2±0,22	44,3±0,16	45,2 ±0,25*	47,7±0,17**
	На фоне тромбин-активации, % к общему содержанию белка [Affected by thrombin activation, % of the total protein content]	37,7±0,21	38,2±0,16	39,6±0,19	40,5±0,18*	42,3±0,20**
	На фоне тромбин-агрегации, % к общему содержанию белка [Affected by thrombin aggregation, % of the total protein content]	39,2±0,10	42,4±0,15	46,3±0,16	47,0±0,19**	50,1±0,16**
	В интактном состоянии, % к общему содержанию белка [In an intact state, % of the total protein content]	15,0±0,12	16,2±0,10	16,8±0,07	17,6±0,14*	18,8±0,15**
Миозин [Myosin]	На фоне АДФ активации, % к общему содержанию белка [Affected by ADP activation, % of the total protein content]	20,2±0,13	21,3±0,08	22,6±0,12	25,7±0,12*	28,4±0,13**

Окончание табл. 1 [Table 1 end]

Параметры [Parameters]		Возраст крыс (M±m), n = 143 [Age of rats]				
		3 мес. [3 months], n = 25	6 мес., [6 months], n = 27	12 мес. [12 months], n = 30	18 мес. [18 months], n = 32	24 мес. [24 months], n = 29
Миозин [Myosin]	На фоне АДФ агрегации, % к общему содержанию белка [Affected by ADP aggregation, % of the total protein content]	27,6±0,14	28,5±0,16	28,8±0,18	32,1±0,17*	34,7±0,21**
	На фоне тромбинактивации, % к общему содержанию белка [Affected by thrombin activation, % of the total protein content]	34,8±0,17	35,2±0,14	35,4±0,20	38,2±0,18*	41,6±0,14**
	На фоне тромбин-агрегации, % к общему содержанию белка [Affected by thrombin aggregation, % of the total protein content]	42,7±0,14	43,0±0,17	43,2±0,22	47,1±0,26*	49,3±0,19**

Примечание. \* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$ . Статистическая значимость динамики учитываемых показателей по сравнению с исходом. В табл. 2 обозначения аналогичные.

[Note. \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ . Statistical significance of the dynamics of the considered parameters in comparison with the outcome. Designations are similar in the table 2].

Количество актина в тромбоцитах крыс в возрасте между 3 и 12 мес сохранялось стабильным и невысоким, но в последующем увеличивалось и составляло к 2 годам жизни  $40,5 \pm 0,14\%$  к общему белку в тромбоците. Выраженность дополнительного образования актина при активации кровяных пластинок сильным или слабым индуктором и при их агрегации также достоверно повышалась после 12 мес жизни. Сходная динамика активности в тромбоцитах крыс также выявлена и для миозинового компонента их сократительной системы. Отмечено, что в неактивированных кровяных пластинках 12-месячных крыс количество миозина составляло  $16,8 \pm 0,07\%$  к общему содержанию белка в тромбоците. В группах более старших животных оно оказалось выше и составляло в 24 мес жизни  $18,8 \pm 0,15\%$ . На фоне активации и агрегации тромбоцитов сильным или слабым индукторами у здоровых крыс после 12 мес жизни постепенно увеличивалась выраженность дополнительной самосборки миозина (см. табл. 1).

У наблюдаемых крыс 12-месячного возраста также отмечено постепенное сокращение времени развития АТ в ответ на все примененные индукторы и их сочетания (табл. 2). Наиболее рано АТ развивалась при добавлении коллагена, наступая у 24-месячных животных через  $29,6 \pm 0,12$  с. Испытывая сходную возрастную динамику, АТ с АДФ и ристомицином возникала у наблюдаемых крыс несколько позднее.

Т а б л и ц а 2 [Table 2]

**Агрегационная способность тромбоцитов крыс *in vitro*  
и *in vivo* в онтогенезе**  
[Aggregation ability of rat platelets *in vitro* and *in vivo* in ontogenesis]

Параметры [Parameters]		Возраст крыс (M±m), n = 143 [Age of rats]				
		3 мес. [3 months], n = 25	6 мес. [6 months], n = 27	12 мес. [12 months], n = 30	18 мес. [18 months], n = 32	24 мес. [24 months], n = 29
Агрегация <i>in vitro</i> [Aggregation <i>in vitro</i> ]	АДФ, с. [ADP, s.]	39,7±0,10	39,4±0,07	39,2±0,08	38,4±0,12*	35,0±0,14**
	Коллаген, с. [Collagen, s.]	32,4±0,16	32,2±0,06	32,0±0,14	31,8±0,09*	29,6±0,12**
	Тромбин, с. [Thrombin, s.]	54,9±0,15	54,6±0,09	54,5±0,16	51,3±0,14*	48,6±0,09**
	Ристомицин, с. [Ristomycin, s.]	47,8±0,12	47,6±0,10	47,3±0,13	46,1±0,09*	43,0±0,13**
	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , с. [H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , s.]	42,6±0,09	42,4±0,08	42,1±0,10	41,1±0,14*	37,6±0,08**
	Адреналин, с. [Adrenaline, s.]	99,0±0,29	98,5±0,07	98,1±0,22	93,4±0,16*	88,2±0,17**
	АДФ+адреналин, с. [ADP+adrenaline, s.]	37,8±0,07	37,6±0,04	37,3±0,13	35,2±0,08*	32,6±0,09**
	АДФ+коллаген, с. [ADP+collagen, s.]	28,5±0,06	28,4±0,08	28,5±0,09	27,6±0,12*	25,2±0,16**
Адреналин+коллаген, с. [Adrenaline+collagen, s.]	32,9±0,09	32,6±0,10	32,3±0,11	31,3±0,07*	29,1±0,10*	
Агрегация <i>in vivo</i> [Aggregation <i>in vivo</i> ]	Дискоциты, % [Discocytes, %]	80,1±0,21	79,6±0,15	79,4±0,18	77,2±0,15*	70,4±0,19**
	Сумма активных форм, % [Sum of active forms, %]	19,9±0,15	20,4±0,10	20,6±0,14	22,8±0,19*	29,6±0,17**
	Число тромбоцитов в агрегатах, % [Number of platelets in the aggregates, %]	4,6±0,08	4,7±0,03	4,8±0,12	4,9±0,05*	5,9±0,09**
	Число малых агрегатов по 2–3 тромбоцита на 100 свободно лежащих тромбоцитов [Number of small aggregates of 2-3 platelets, for 100 freely lying platelets]	3,2±0,04	3,3±0,02	3,5±0,07	3,6±0,09*	5,7±0,10**
	Число средних и больших агрегатов по 4 и более тромбоцита на 100 свободно лежащих тромбоцитов [Number of medium and large aggregates of 4 and more platelets, for 100 freely lying platelets]	0,13±0,003	0,12±0,005	0,13±0,008	0,17±0,004*	0,38±0,003**

Еще более замедленно АТ возникала с  $H_2O_2$ , тромбином и адреналином, время развития с которыми также сокращалось у животных старше 12 мес. Найденное ускорение АТ у крыс при оценке с одним индуктором согласовалось с установленным фактом ускорения АТ в случае применения двух агонистов одновременно. Оценка АТ с отдельными индукторами и их сочетаниями позволила установить у крыс старше 12 мес возрастное усиление агрегативной способности кровяных пластинок. Ускорение в течение срока наблюдения АТ с сильными индукторами агрегации – коллагеном и тромбином – указывало на активизацию в них фосфолипазы С, обеспечивающей фосфоинозитольный путь стимуляции тромбоцитов через повышение количества диацилглицерола и протеинкиназы С с интенсификацией самосборки актина и миозина в кровяных пластинках [12, 19]. Сокращение времени АТ со слабыми индукторами агрегации – АДФ – и указывало на повышение доступности рецепторов к ним и/или увеличение их числа на поверхности тромбоцитов, экспрессию фибриногеновых рецепторов (GPIIb-IIIa) и повышение функциональных возможностей фосфолипазы  $A_2$ , обеспечивающей высвобождение арахидоновой кислоты из мембран кровяных пластинок для синтеза тромбоксана  $A_2$  [7].

Постепенное ускорение после 12-месячного возраста АТ в ответ на сочетания индукторов позволило пролить свет на процессы АТ у крыс в условиях, приближенных *in vivo*. Без сомнения, в основе выявленного ускорения АТ с испытанными комбинациями индукторов лежит одновременное включение ферментных систем тромбоцитов, задействованных при агрегации с отдельными агонистами [2, 10].

Выявленная при оценке *in vitro* возрастная динамика активности тромбоцитов подтверждалась результатами исследования ВАТ. Так, число дискоцитов в крови крыс до 12 мес жизни менялось слабо и составляло к этому возрасту  $79,4 \pm 0,18\%$ . Позднее этот показатель снижался, достигая у 24-месячных крыс  $70,4 \pm 0,19\%$ . Суммарное содержание в крови активных форм тромбоцитов после 12 мес постепенно повышалось до последнего возраста наблюдения на  $30,4\%$ . В крови животных в течение первого года жизни число свободноперемещающихся малых и больших агрегатов тромбоцитов оставалось стабильно невысоким, а затем увеличивалось с  $3,5 \pm 0,07$  и  $0,13 \pm 0,008$  на 100 свободно лежащих тромбоцитов в 12 мес до  $5,7 \pm 0,10$  и  $0,38 \pm 0,003$  на 100 свободнолежащих тромбоцитов в 24 мес соответственно. Количество включенных в агрегаты тромбоцитов у крыс в течение периода наблюдений возросло на  $22,0\%$ . Постепенное увеличение ВАТ у крыс в течение второго года жизни указывало на несомненное возрастзависимое усиление экспрессии на их мембранах рецепторов к фибриногену (GPIIb-IIIa) и к облигатно присутствующим в крови индукторам агрегации (АДФ, тромбин, адреналин) с активизацией интратромбоцитарных механизмов агрегации [1, 20].

## Заключение

У крыс в возрасте между 12 и 24 мес исходно стабильная способность тромбоцитов к агрегации достоверно возрастает, сопровождаясь повышением в крови суммарного количества активированных форм кровяных пластинок и свободно перемещающихся их агрегатов всех размеров. Постепенное увеличение активности тромбоцитов в течение второго года жизни указывало на несомненное возрастзависимое усиление экспрессии на их мембранах рецепторов к фибриногену (GPIIb–IIIa) и к облигатно присутствующим в крови индукторам агрегации (АДФ, тромбин, адреналин) с активизацией интратромбоцитарных механизмов агрегации.

## Литература

1. Момот А.П. Патология гемостаза. СПб. : Форма Т, 2006. 208 с.
2. Pietraforte D., Vona R., Marchesi A., de Jacobis I.T., Villani A., Del Principe D., Straface E. Redox control of platelet functions in physiology and pathophysiology // *Antioxid Redox Signal*. 2014. Vol. 21(1). P. 177–193. doi: 10.1089/ars.2013.5532.
3. Симоненко В.Б., Медведев И.Н., Гамолina О.В. Активность первичного гемостаза у больных артериальной гипертонией с нарушением толерантности к глюкозе на фоне трандолаприла // *Клиническая медицина*. 2011. № 2. С. 29–31.
4. Донцов В.И., Крутько В.Н., Труханов А.И. Медицина антистарения: фундаментальные основы. М. : КРАСАНД, 2010. 680 с.
5. Dale J. Marino. Age-Specific Absolute and Relative Organ Weight Distributions for Fischer 344 Rats // *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A: Current Issues*. 2012. Vol. 75(24). P. 1484–1516. doi: 10.1080/15287394.2012.722520.
6. Гулик Е.С., Костеша Н.Я., Борило Г.А. Влияние хитабиса и его компонентов на структурно-функциональное состояние тонкого кишечника и кроветворения облученных крыс // *Вестник Томского государственного университета. Биология*. 2012. № 3(19). С. 146–159.
7. Epel E.S., Lin J., Wilhelm F.H. et al. Cell aging in relation to stress arousal and cardiovascular disease risk factors // *Psychoneuroendocrinology*. 2006. Vol. 31, № 3. P. 277–287.
8. Громнацкий Н.И., Медведев И.Н. Коррекция нарушений тромбоцитарного гемостаза немедикаментозными средствами у больных артериальной гипертонией с метаболическим синдромом // *Клиническая медицина*. 2003. Т. 81, № 4. С. 31–34.
9. Seehuus S.C., Norberg K., Gimsa U. et al. Reproductive protein protects functionally sterile honey bee workers from oxidative stress // *Proc. nat. Acad. Sci. USA*. 2006. Vol. 103, № 4. P. 962–967.
10. Medvedev I.N., Maksimov V.I., Parakhnevich A.B., Zavalishina S.Yu., Kutafina N.V. Papid assessment of aggregation abilities and surface properties of platelets and red blood cells // *Int. J. Pharm. Bio. Sci*. 2016. Vol. 7(2): (B). P. 793–797.
11. Olas B., Wachowicz B. Role of reactive nitrogen species in blood platelet functions // *Platelets*. 2007. Vol. 18(8). P. 555–565.
12. Скорятина И.А., Кутафина Н.В. Агрегационные возможности тромбоцитов при артериальной гипертонии и дислипидемии на фоне аторвастатина и немедикаментозного воздействия // *Вестник Сургутского государственного педагогического университета*. 2015. № 1(34). С. 258–265.

13. Ferroni P., Vazzana N., Riondino S., Cuccurullo C., Guadagni F., Davini G. Platelet function in health and disease: from molecular mechanisms, redox considerations to novel therapeutic opportunities // *Antioxid Redox Signal*. 2012. Vol. 17(10). P. 1447–1485. doi: 10.1089/ars.2011.4324.
14. Кутафина Н.В., Медведев И.Н. Тромбоцитарная агрегация у клинически здоровых лиц второго зрелого возраста, проживающих в Курском регионе // *Успехи геронтологии*. 2015. Т. 28, № 2. С. 321–325.
15. Кишкун А.А. Биологический возраст и старение: возможности определения и пути коррекции. М. : ГЭОТАР-Медиа, 2008. 976 с.
16. Жукова О.Б., Зайцев К.В., Степаненко Н.П., Гостюхина А.А., Гупор С.С., Вебер И.И., Нимирская Д.А., Межеричкий С.А., Абдулкина Н.Г. Влияние экспериментального десинхроноза на липидный обмен у крыс при ожирении // *Вестник Томского государственного университета. Биология*. 2013. № 4(24). С. 145–151.
17. Гаврилов В.Б., Мишкорудная М.И. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови // *Лабораторное дело*. 1983. № 3. С. 33–36.
18. Чевари С., Андял Т., Штрэнгер Я. Определение антиоксидантных параметров крови и их диагностическое значение в пожилом возрасте // *Лабораторное дело*. 1991. № 10. С. 9–13.
19. Ермолаева Т.А., Головина О.Г., Морозова Т.В. Программа клинико-лабораторного обследования больных тромбоцитопатиями. СПб. : Изд-во РосНИИГТ, 1992. 25 с.
20. Медведев И.Н., Савченко А.П., Завалишина С.Ю., Краснова Е.Г., Кумова Т.А., Гамolina О.В., Скорятин И.А., Фадеева Т.С. Методические подходы к исследованию реологических свойств крови при различных состояниях // *Российский кардиологический журнал*. 2009. Т. 79, № 5. С. 42–45.

Поступила в редакцию 13.03.2016 г.; повторно 03.04.2016 г.;  
принята 27.04.2016 г.; опубликована 23.06.2016 г.

**Медведев Илья Николаевич** – заслуженный изобретатель РФ, д-р мед. наук, д-р биол. наук, профессор, профессор кафедры социальной работы, культуры и социального права, социально-гуманитарного факультета Курского института социального образования (филиал) Российского государственного социального университета (г. Курск, Россия).  
E-mail: [ilmedv1@yandex.ru](mailto:ilmedv1@yandex.ru)

Medvedev IN. Platelet functional activity in rats during ontogenesis. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya – Tomsk State University Journal of Biology*. 2016;2(34):150-160. doi: 10.17223/19988591/34/10 In Russian, English summary

**Илья Н. Медведев**

*Kursk Institute of Social Education (Branch) of Russian State Social University, Kursk, Russian Federation*

### **Platelet functional activity in rats during ontogenesis**

The aim of the study was to elucidate the ontogenetic dynamics of the functional platelet activity in healthy rats. We observed healthy male Wistar rats (n=143) contained under standard conditions on a standard vivarium diet, including 25 rats aged 3 months, 27 rats aged 6 months, 30 rats aged 12 months, 32 rats aged 18 months and 29 animals aged 24 months. We examined the animals by biochemical and hematological methods.

The estimation of lipid peroxidation and antioxidant protection of platelets in rats in ontogenesis demonstrated their stability between 3 and 12 months of life. At older ages, peroxidation of platelet lipids was amplified by the weakening of their

antioxidant enzymes. This was accompanied in rats by an increase in the quantitative content of platelets and their secreting ATP and ADP after 12 months. The level of actin and myosin in platelets of rats aged 3-12 months was low and stable, increasing at an older age. Similar dynamics in rats showed the severity of their additional education during activation and aggregation of platelets in the report on strong or weak coil. The originally stable aggregation in rat platelets, starting from 12 months of life experienced a gradual acceleration in response to all applied inducers, and combinations thereof. The number of discocytes in their blood up to 12 months of life was consistently high and gradually decreased by 24 months. The total content of active forms of platelets, was consistently low up to 12 months of age, and then gradually increased by 30.4%. In the blood of rats, during the first year of life, the number of freely moving small and large aggregates of platelets remained low, then increased 1.6 and 2.5 times, respectively.

Thus, in rats aged 12 to 24 months there was a steady change in the original optimal parameters of platelets: enhancing lipid peroxidation, increasing their aggregation and accumulation of the sum of their activated forms and freely moving aggregates of all sizes in the blood. This should be regarded as a consequence of increased expression on platelet membrane of receptors to fibrinogen (GPIIb-IIIa) and aggregation inducers obligatory present in the blood (ADP, thrombin, epinephrine), as well as the manifestation of activating intrathrombocytic mechanisms of aggregation.

*The article contains 2 Tables, 20 References.*

**Key words:** ontogenesis; platelets; aggregation; secretion; intravascular activity; lipid peroxidation.

### References

1. Momot AP. Patologiya gemostaza [Pathology of hemostasis]. St. Petersburg: Forma T Publ.; 2006. 208 p. In Russian
2. Pietraforte D, Vona R, Marchesi A, de Jacobis IT, Villani A, Del Principe D, Straface E. Redox control of platelet functions in physiology and pathophysiology. *Antioxid Redox Signal.* 2014;1(21):177-193. doi: [10.1089/ars.2013.5532](https://doi.org/10.1089/ars.2013.5532)
3. Simonenko VB, Medvedev IN, Gamolina OV. Primary hemostasis activity in patients with arterial hypertension and impaired glucose tolerance treated with trandolapril. *Klinicheskaya Meditsina – Clinical Medicine.* 2011;89(2):29-31. In Russian
4. Dontsov VI, Krut'ko VN, Trukhanov AI. Meditsina antistareniya: fundamental'nye osnovy [Anti-aging medicine: Fundamentals]. Moscow: KRASAND Publ.; 2010. 680 p. In Russian
5. Dale J, Marino. Age-Specific Absolute and Relative Organ Weight Distributions for Fischer 344 Rats. *J. Toxicology and Environmental Health, Part A: Current Issues.* 2012;75(24):1484-1516. doi: [10.1080/15287394.2012.722520](https://doi.org/10.1080/15287394.2012.722520).
6. Gulik ES, Kostesha NYa, Borilo GA. Influence of chitabis and its components on the functional state of the small intestine and blood indices of irradiated animals. *Tomsk State University Journal of Biology.* 2012;3(19):146-159. In Russian, English Summary
7. Epel ES, Lin J, Wilhelm FH, Wolkowitz OM, Cawthon R, Adler NE, Dolbier C, Mendes WB, Blackburn EH. Cell aging in relation to stress arousal and cardiovascular disease risk factors. *Psychoneuroendocrinology.* 2006;31(3):277-287. doi: [10.1016/j.psyneuen.2005.08.011](https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2005.08.011)
8. Gromnatsky NI, Medvedev IN. Non-pharmacological correction of impaired platelet hemostasis in hypertensive patients with metabolic syndrome. *Klinicheskaya Meditsina – Clinical Medicine.* 2003;81(4):31-34. In Russian
9. Seehuus SC, Norberg K, Gimsa U, Krekling T, Amdam GV. Reproductive protein protects functionally sterile honey bee workers from oxidative stress. *Proc Nat Acad Sci USA.* 2006;103(4):962-967. doi: [10.3410/f.1030220.360496](https://doi.org/10.3410/f.1030220.360496)

10. Medvedev IN, Maksimov VI, Parakhnevich AB, Zavalishina SYu, Kutafina NV. Papid assessment of aggregation abilities and surface properties of platelets and red blood cells. *Int J Pharm Bio Sci.* 2016;7(2):(B):793-797.
11. Olas B, Wachowicz B. Role of reactive nitrogen species in blood platelet functions. *Platelets.* 2007;18(8):555-565. doi: [10.1080/09537100701504087](https://doi.org/10.1080/09537100701504087)
12. Skorjatina IA, Kutafina NV. The aggregation capabilities of platelets in arterial hypertension and dyslipidemia on the background of atorvastatin and non-medical effects. *Vestnik Surgutskogo gosudarstvennogo pedagogicheskogo universiteta.* 2015;1(34):258-265. In Russian
13. Ferroni P, Vazzana N, Riondino S, Cucurullo C, Guadagni F, Davm G. Platelet function in health and disease: from molecular mechanisms, redox considerations to novel therapeutic opportunities. *Antioxid Redox Signal.* 2012;17(10):1447-1485. doi: [10.1089/ars.2011.4324](https://doi.org/10.1089/ars.2011.4324)
14. Kutafina NV, Medvedev IN. Platelet Aggregation in Clinically Healthy Persons of the Second Coming-of-Age Living in the Kursk Oblast. *Advances in Gerontology.* 2015;5(4):267-270. doi: [10.1134/S2079057015040141](https://doi.org/10.1134/S2079057015040141). In Russian, English summary
15. Kishkun AA. Biologicheskii vozrast i starenie: vozmozhnosti opredeleniya i puti korrektsii [Biological age and aging: identification possibilities and ways of correction]. Moscow: GJeOTAR-Media Publ.; 2008. 976. In Russian
16. Zhukova OB, Zaitsev CV, Stepanenko NP, Gostyuhina AA, Gutor SS, Veber II, Nimirskaya DA, Mezheritskiy SA, Abdulkina NG. Effect of experiment aldesynchronosis on lipid metabolism in rats with obesity. *Tomsk State University Journal of Biology.* 2013;4(24):145-151. In Russian, English Summary
17. Gavrillov VB, Mishkorudnaya MI. Spektrofotometricheskoe opredelenie sodержaniya gidroperekisey lipidov v plazme krovi [Spectrophotometric determination of lipid hydroperoxide level in blood plasma]. *Laboratornoe delo.* 1983;3:33-36. In Russian
18. Chevari S, Andyal T, Shtrenger Ya. Opredelenie antioksidantnyh parametrov krovi i ih diagnosticheskoe znachenie v pozhilom vozraste [Determination of antioxidant blood parameters and their diagnostic value in old age]. *Laboratornoe delo.* 1991;10:9-13. In Russian
19. Ermolaeva TA, Golovina OG, Morozova TV. Programma kliniko-laboratornogo obsledovaniya bol'nykh trombocitopatiyami [The program of clinical and laboratory examination of patients with thrombocytopathies]. St. Petersburg: RosNIIGT Publ.; 1992. 25 p. In Russian
20. Medvedev IN, Savchenko AP, Zavalishina SYu, Krasnova EG, Kumova TA, Gamolina OV, Skoryakina IA, Fadeeva TS. Methodology of blood rheology assessment in various clinical situations. *Russian Journal of Cardiology.* 2009;5(79):42-45. In Russian

*Received 13 March 2016; Revised 3 April 2016;  
Accepted 27 April 2016; Published 23 June 2016.*

**Author info:**

**Medvedev Ilya N**, Honored Inventor of the Russian Federation, Dr. Sci. (Med.), Dr. Sci. (Biol.), Professor, Department of Social Work, Culture and Social Right, Kursk Institute of Social Education (Branch) of Russian State Social University, 53 Karla Marksa Str., Kursk 305029, Russian Federation.  
E-mail: [ilmedv1@yandex.ru](mailto:ilmedv1@yandex.ru)