

УДК 616.211/.232-006:612.015

Ю. Бурлака, наук. співроб., Н. Гринь, наук. співроб., С. Верьовка, д-р біол. наук
ДУ "Інститут отоларингології ім. проф. О.С. Коломійченка НАМН України", Київ

ДОСЛІДЖЕННЯ АГРЕГАЦІЙНОЇ ЗДАТНОСТІ ТРОМБОЦИТІВ У ХВОРИХ НА РАК ГОРТАНІ

Провести порівняльне дослідження агрегаційної функції тромбоцитів у хворих з різними стадіями раку гортані для виявлення найбільш показових порушень та визначення найбільш інформативних відмін. Проведено порівняльну оцінку показників агрегації тромбоцитів в плазмі крові хворих на рак гортані порівняно з такою в контрольній групі умовно здорових осіб. Встановлено посилення АДФ низки показників агрегації тромбоцитів при всіх використаних концентраціях індуктора. При III-ій стадії онкологічного процесу поряд зі збільшенням частки осіб з гіперагрегацією тромбоцитів вистіачали вірогідне зменшення в крові кількості тромбоцитів та збільшення кількості осіб з тромбоцитопенією.

У хворих з II-у і III-ю стадіями раку гортані спостерігали значні зміни ступеня, швидкості та часу агрегації в бік збільшення їх рівнів відносно відповідних контрольних даних. Найбільш суттєві їх порушення відмічаються при II-й стадії онкологічного процесу.

Ключові слова: рак гортані, тромбоцити, агрегація, аденозиндифосфат.

Вступ. Відомо, що у формуванні тромбофілічного статусу у пацієнтів з онкопатологією значну роль відіграють зміни в системі зсідання крові. Доведено, що у більшості онкологічних хворих є тромбогенні порушення, котрі характеризуються гіпертромбінемією та гіперфібриногенемією, а в частині випадків гіпертромбоцитозом, дефіцитом плазміногену, підвищенням активності VIII фактора і порушенням в системі протеїну С [10].

Приживлення злоякісних клітин є багатограним процесом взаємодій в системі пухлинна клітина – кров – ендотелій мікросудин. Експериментальні дані свідчать про те, що тромбоцити в крові утворюють агрегати з пухлинними клітинами, полегшуючи їх взаємодію з ендотелієм. Важливими модулюючими факторами є продукти метаболізму арахідонової кислоти в тромбоцитах і ендотелії. Встановлено, що тромбаксан А2 збільшує, а простаглілін зменшує ступінь взаємодії пухлинних клітин і тромбоцитів [1]. Підтримка адекватного рівня мікроциркуляції також пов'язана з функціональною активністю тромбоцитів і багато в чому визначає тромборезистентність судинної стінки, а тим самим і неможливість прикріплення тромбоцитарно-пухлинного комплексу. Загальновідомо, що пухлинні клітини потрапляють в кров при некрозі первинного вогнища, при відриванні клітин дозрілих метастазів, а також при оперативному видаленні пухлини. Показано, що 93-95% пухлинних клітин, що потрапили в кровообіг, елімінуються макрофагами. Однак при збільшенні агрегаційної активності клітин крові, тромбопластичних властивостей плазми навколо пухлинних клітин утворюється тромбоцитарно-фібриногена оболонка, яка надійно захищає їх від імунного нагляду. При цьому ймовірність метастазування різко зростає [1, 8].

Найбільш достовірними методами оцінки тромбоцитарно-судинного гомеостазу є дослідження швидкості і ступеня зменшення оптичної густини тромбоцитарної плазми при додаванні індукторів агрегації [7].

Мета роботи – дослідження агрегаційної функції тромбоцитів та частоти їх гіперреактивності у хворих на рак гортані.

Об'єкт та методи досліджень. Було обстежено 35 пацієнтів ДУ "Інститут отоларингології ім. проф. О.С. Коломійченка НАМН України" (м. Київ). У дослідженні брали участь лише чоловіки з первинними злоякісними новоутвореннями гортані, віком від 45 до 65 років (середній вік складав 55 років). З них у 18 пацієнтів діагностовано плоскоклітинний ороговілий рак гортані II-ої стадії ($T_2N_0M_0$), а у 17 – III-ої стадії ($T_3N_0M_0$). Контрольну групу склали 20 умовно здорових людей. Всі групи були рандомізовані за віком та статтю.

Агрегацію тромбоцитів досліджували на фотооптичному агрегометрі AP2110 "Солар" (Білорусь). Кров для дослідження отримували з літкової вени широкою голкою в пластикові пробірки з антикоагулянтом 3,8% натрію цитратом у співвідношенні 9:1 зранку натщесерце. Багату та бідну тромбоцитами плазму крові для дослідження агрегації тромбоцитів отримували звичайними методами [4]. Агрегацію тромбоцитів досліджували упродовж перших 3 год після забору крові. В якості індуктора агрегації використовували аденозиндифосфат (АДФ) ("Технологія-Стандарт", Барнаул). Робочі розведення реактивів готували безпосередньо перед дослідженням згідно з рекомендаціями фірми-виробника.

Для оцінки процесу агрегації тромбоцитів використовували АДФ в кінцевих концентраціях: 0,625; 1,25; 2,5; 5 та 10 мкмоль/л. Реєстрували: ступінь агрегації (СА, %) – максимальний рівень світлопропускання плазми крові після внесення індуктора агрегації; швидкість агрегації (ША, %/хв) – зміна світлопропускання плазми крові після внесення індуктора агрегації; час агрегації (хв) – час досягнення максимального ступеня агрегації [3].

При додаванні індуктора агрегації до багатої тромбоцитами плазми крові спочатку відбувається зміна форми тромбоцитів (з дискоїдної на сферичну), з'являються псевдоподії, відбувається первинна зворотна агрегація (перша фаза агрегації), а потім за рахунок секреції власних біологічно активних речовин тромбоцитів виникає друга незворотна фаза агрегації [2]. При додаванні АДФ в низьких концентраціях (0,625-1,25 мкмоль/л) процес агрегації тромбоцитів завершується на першій фазі і є повністю зворотним. Використання середньої концентрації АДФ (2,5 – 5,0 мкмоль/л) дозволяє отримати незворотну двофазну агрегаційну криву, що відображає процеси первинної та вторинної агрегації. При більш високих концентраціях (10,0 мкмоль/л) АДФ викликає однофазну незворотну агрегацію, що свідчить про більш бурхливу агрегацію тромбоцитів, коли друга фаза практично на шаровується на першу [2,5].

Результати та їх обговорення. Перед проведенням досліджень агрегації тромбоцитів вимірювали їх кількість в збагаченій на тромбоцити плазмі крові. У хворих з II-ю стадією онкологічного процесу цей показник становив $322,44 \pm 20,28$ тис/мкл, а у хворих з III-ю стадією захворювання – $232,19 \pm 8,35$ тис/мкл. Нормальні її значення дорівнювали ($335,11 \pm 14,73$) тис/мкл. Таким чином встановлено, що у хворих з II-ю стадією онкологічного процесу кількість тромбоцитів наближена до показників норми, а при III-ій стадії захворювання вона вірогідно знижена ($p < 0,001$). Але слід взяти до уваги, що агрегометр підраховує лише кількість тромбоцитів, а не відсоткове співвідношення їх груп. Так, в

літературі описані випадки, коли частина незрілих або дегенеративних форм клітин перевищує норму і тоді ефективність дії тромбоцитів різко знижується, при тому, що їх кількість залишається в нормі [9]. Хворим з III-ою стадією захворювання притаманна тромбоцитопенія. Крім того встановлено достовірні відміни цього по-

казника у пацієнтів з II-ою та III-ою стадіями онкологічного захворювання ($p < 0,001$).

В результаті проведених досліджень виявлені істотні відмінності за рівнем світлопропускання плазми крові між хворими на рак гортані та здоровими особами, отримані у відповідь на різні дози індуктора (табл.1).

Таблиця 1. Кількісні параметри агрегацйogram у здорових осіб та у хворих на рак гортані

Групи	Параметри агрегацйogram		
	Ступінь агрегації, %	Швидкість агрегації, %/хв	Час,хв
Концентрація АДФ – 0,625 мкмоль/л			
Умовно здорові люди	28,07±6,10	15,90±3,39	1,15±0,31
Хворі на рак гортані II-ї ст.	66,54±8,65 $p < 0,01$	35,83±5,19 $p < 0,01$	7,13±0,98 $p < 0,001$
Хворі на рак гортані III-ї ст.	63,25±3,47 $p < 0,001$	27,3±5,61	5,95±0,77 $p < 0,001$
Концентрація АДФ – 1,25 мкмоль/л			
Умовно здорові люди	48,40±5,01	29,13±3,30	2,88±0,56
Хворі на рак гортані II-ї ст.	77,82±3,90 $p < 0,001$	47,64±4,97 $p < 0,01$	7,67±0,27 $p < 0,001$
Хворі на рак гортані III-ї ст.	68,89±6,65 $p < 0,05$	34,22±3,59 $p < 0,05$	7,25±0,54 $p < 0,01$
Концентрація АДФ – 2,5 мкмоль/л			
Умовно здорові люди	59,77±5,00	35,07±3,14	6,82±0,32
Хворі на рак гортані II-ї ст.	92,54±8,97 $p < 0,01$	50,35±6,86 $p < 0,05$	5,92±0,20 $p < 0,05$
Хворі на рак гортані III-ї ст.	76,32±5,66 $p < 0,05$	44,53±4,80	8,02±0,22 $p < 0,01$ $p_1 < 0,001$
Концентрація АДФ – 5 мкмоль/л			
Умовно здорові люди	59,21±5,54	29,26±4,02	8,71±0,20
Хворі на рак гортані II-ї ст.	86,33±6,57 $p < 0,01$	49,63±4,73 $p < 0,001$	7,20±0,43 $p < 0,01$
Хворі на рак гортані III-ї ст.	116,47±15,91 $p < 0,01$	49,35±6,57 $p < 0,02$	7,66±0,26 $p < 0,01$
Концентрація АДФ – 10 мкмоль/л			
Умовно здорові люди	67,27±5,31	49,97±5,05	7,16±0,41
Хворі на рак гортані II-ї ст.	93,32±8,44 $p < 0,02$	68,04±5,69 $p < 0,05$	8,60±0,39 $p < 0,02$
Хворі на рак гортані III-ї ст.	90,43±8,03 $p < 0,02$	72,56±8,77 $p < 0,05$	8,71±0,27 $p < 0,01$

Примітка: p – вірогідність різниці між відповідними показниками у хворих і практично здорових людей

p_1 – вірогідність різниці між відповідними показниками у хворих з різними стадіями раку гортані

Для виявлення гіпо- та гіперагрегації використовували АДФ у низьких концентраціях (0,625 та 1,25 мкг/мл). в обох групах хворих при використанні розчину АДФ в концентрації 0,625 мкг/мл спостерігали вірогідне підвищення ступеня агрегації в середньому у 2,4 рази порівняно з групою контролю ($p < 0,01$ -0,001), а при дозі агрегуючої речовини 1,25 мкг/мл цей показник також статистично вірогідно підвищувався в середньому у 1,5 рази ($p < 0,05$ -0,001). Для дослідження агрегаційних властивостей тромбоцитів використовували АДФ у концентраціях

2,5 та 5,0 мкг/мл. При концентрації індуктора 2,5 мкг/мл СА тромбоцитів у хворих на II-у і III-ю стадію раку гортані є вірогідно вищою відносно контрольної величини: відповідно (92,54±8,97) та (76,32±5,66) проти (59,77±5,00) ($p < 0,05$ -0,01). Як видно, при використанні розчину АДФ в концентрації 5,0 мкг/мл також відбувалось вірогідне підвищення СА як при II так і при III-ій стадіях онкологічного процесу у 1,5 та 2 рази відповідно ($p < 0,01$). При проведенні агрегаційних досліджень з АДФ в концентрації 10,0 мкг/мл цей показник вірогідно підвищувався в середньому у 2,4 рази в обох групах хворих порівняно з групою контролю ($p < 0,02$). Достовірних відмін СА між хворими з II-у і III-ю стадіями онкологічного захворювання при всіх використаних концентраціях агрегуючої речовини виявлено не було.

Таким чином, можна стверджувати, що хворим на рак гортані притаманна гіперреактивність тромбоцитів

(одночасно до трьох доз індуктора), яка найбільш виражена при II-ій стадії захворювання і дещо знижується з прогресуванням онкологічного процесу. За даними літератури критерієм гіперреактивності тромбоцитів є ступінь індукованої агрегації тромбоцитів, яка перевищує 60% [11,12].

Результати дослідження змін світлопропускання плазми крові після внесення індуктора агрегації у хворих на рак гортані показали наступне: при використанні розчину АДФ в концентрації 0,625 мкг/мл відбувалось вірогідне підвищення ША у хворих з II-ою стадією у 2,2 рази ($p < 0,01$). При III-ій стадії онкологічного процесу цей показник також змінювався в напрямку збільшення, але не був достовірно відмінним від такого як в порівнянні з контролем так і між групами хворих. При концентрації індуктора 1,25 мкг/мл ША тромбоцитів у хворих з II-ою стадією була прискореною порівняно з нормою ($p < 0,01$). При III-ій стадії вона в середньому був вищою за таку в контролі, але не достовірно через значні розбіжності індивідуальних показників, але в той же час статистично вірогідно нижчою порівняно з II-ою стадією онкологічного процесу ($p_1 < 0,01$). При концентрації АДФ 2,5 мкг/мл у хворих з II-ою стадією ША тромбоцитів також зростала і ставала достовірно відмінною від свого контрольного значення ($p < 0,05$), але відміна ША при III-ій стадії та між групами обстежених при цій концентрації агрегуючої речовини достовірною не була. При про-

веденні агрегаційних досліджень з АДФ в концентрації 5,0 мкг/мл цей показник вірогідно підвищувався в середньому у 1,7 рази в обох групах хворих порівняно з групою контролю ($p < 0,02-0,001$). При концентрації індуктора 10 мкг/мл ША тромбоцитів у хворих на II-у і III-ю стадії раку гортані також вірогідно вища відносно відповідного контрольного показника: $(68,04 \pm 5,69)$ та $(72,56 \pm 8,77)$ проти $(49,97 \pm 5,05)$ ($p < 0,05$).

При визначенні часу початку максимального ступеня агрегації тромбоцитів в обох групах хворих було встановлено, достовірне збільшення цього показника порівняно з контролем при найменшій концентрації АДФ : у 6,2 та 5,0 рази відповідно ($p < 0,001$). При проведенні агрегаційних досліджень з АДФ в концентрації 1,25 мкг/мл цей показник також вірогідно підвищувався в середньому у 2,5 рази в обох групах хворих порівняно з групою контролю ($p < 0,01-0,001$). При концентрації індуктора 2,5 та 5 мкг/мл встановлено вірогідне зниження часу максимального ступеня агрегації ($p < 0,05-0,001$) у хворих з II-ю стадією онкологічного процесу на тлі підвищення цього показника у хворих з III-ю стадією порівняно з відповідним контролем ($p < 0,05-0,01$). Крім того, встановлено достовірні відмінності цього показника між II-у і III-ю стадіями онкологічного захворювання ($p < 0,001$) при використанні розчину АДФ в концентрації 2,5 мкг/мл. При проведенні агрегаційних досліджень з АДФ в концентрації 10,0 мкг/мл цей показник вірогідно підвищувався в середньому у 1,2 рази в обох групах хворих порівняно з групою контролю ($p < 0,02-0,01$).

Таким чином, проведені нами дослідження продемонстрували значні порушення агрегаційної функції тромбоцитів у хворих на рак гортані. З досліджуваних параметрів агрегатограм найбільш відмінності між групами виявлено у пацієнтів з II-ю стадією в ступені та швидкості агрегації і менші – за часом агрегації тромбоцитів, зокрема при використанні індуктора в концентрації 2,5 мкг/мл цей показник дещо знижений порівняно як з групою контролю так і з III-ю стадією онкологічного процесу. Типовим для хворих з III-ю стадією раку гортані є посилення відповіді тромбоцитів на стимуляцію їх АДФ та тромбоцитопенія.

Виявлене порушення агрегації тромбоцитів, у хворих на рак гортані може поглиблюватись з віком (середній вік пацієнтів 55 років). Оскільки з даних літератури відомо, що після 45-річного віку навіть у здорових людей поступово підвищується агрегаційна активність тромбоцитів. Це призводить до збільшення вмісту в їх крові активних форм кров'яних пластинок, що, в свою чергу, призводить до підвищення кількості циркулюючих агрегатів різноманітних розмірів. При цьому може посилюватись негативний вплив на організм факторів середовища, сприяючи реалізації спадкової схильності до різноманітних захворювань. Виявлене з віком прискорення агрегації тромбоцитів при використанні слабких агоністів (АДФ та адреналін), що взаємодіють з рецепторами їх мембрани та стимулюють експресію фібриногенових рецепторів (GPIIb-IIIa) та активність фосфоліпази A2, безперечно пов'язане з підвищенням виходу з фосфоліпідів арахідонової кислоти та посиленням утворення тромбосана A2 [6].

Висновки.

1. У хворих на рак гортані з II-у і III-ю стадіями спостерігаються досить виражені зміни ступеня, швидкості та часу агрегації в бік збільшення їх рівнів відносно відповідних контрольних даних. Найбільш суттєві їх порушення відмічаються при II-й стадії онкологічного процесу.

2. У хворих на рак гортані II-ої стадії тромбоцити виявляли гіперреактивність одночасно до всіх використа-

них концентрацій індуктора, незважаючи на те, що їх кількість наближена до показників норми. Це може бути пов'язано із збільшенням вмісту в популяції кров'яних пластинок незрілих або дегенеративних форм клітин, що різко знижує ефективність дії тромбоцитів.

3. Поряд з встановленою гіперагрегацією тромбоцитів у хворих з III-ю стадією захворювання відзначають вірогідне зниження в крові кількості тромбоцитів та збільшення кількості осіб з тромбоцитопенією.

Список використаних джерел.

1. Афанасьєва А.Н. Исследование функциональной активности тромбоцитов в онкологической практике / А.Н. Афанасьєва // Сибирский онкологический журнал. – 2002. – №2. – С. 67 – 68.
2. Волков Г.Л., Платонова Т.Н., Савчук А.Н., Горницкая О.В., Чернышенко Т.М., Краснобрижая Е.Н. Современные представления о системе гемостаза – К.. Научная думка 2005. 292 с.
3. Инструкция по определению агрегационной активности тромбоцитов на анализаторе AP 2110 (Под ред. Чещевик М.А.) – Минск, 1995. – С. 22.
4. Лабораторные методы исследования в клинике. Справочник. (Под ред. Меншиков В.В.) – Москва, Медицина, 1987. – 368 с.
5. Люсов В.А. К методу определения агрегации тромбоцитов и эритроцитов. / В.А. Люсов, Ю.Б. Белоусов, М.П. Савенков // Лаб. дело. – 1976. – № 8. – С. 463-468.
6. Медведев И.Н. Агрегационная активность тромбоцитов у здоровых лиц второго зрелого возраста / И.Н. Медведев, Н.В. Кутафина // Fundamental Research. – 2012. – №8. – С.362–366.
7. Парахонский А.П. Агрегационные свойства тромбоцитов при хронической ишемической болезни сердца / А.П. Парахонский // Modern High Technologies. – 2012. – №9. – С. 52 – 53.
8. Тропин С.В. Анализ осложнений комбинированного лечения немелкоклеточного рака легкого / С.В. Тропин, С.В. Миллер, С.А. Тузилов, А.А. Завьялов [и др] // Сибирский онкологический журнал. – 2007. – №4. – С. 50 – 56.
9. Шевчук С.В. Характеристика stanu агрегаційної здатності тромбоцитів у хворих на системний червоний вовчак // С.В. Шевчук // Український ревматологічний журнал. – 2007. – №2(28). – С. 32 – 36.
10. Шилова А.Н. Функциональная активность тромбоцитов у онкобольных / А.Н. Шилова, А.Ф. Лазарев, Е.Ф. Котовщикова // Сибирский онкологический журнал. – 2011. – Приложение №1. – С. 123–124.
11. Yee D.L. Aggregometry detects platelet hyperreactivity in healthy individuals / D.L. Yee, C.W. Sun, Bergeron, J.F. Dong, P.F. Bray // Blood. – 2005. – №106(8). – P. 2723 – 2729.
12. Yee D.L. Platelet hyperreactivity generalizes to multiple forms of stimulation / D.L. Yee, C.W. Sun, Bergeron, J.F. Dong, P.F. Bray // J. Thromb Haemost. – 2006. – №4(9). – P. 2043 – 2050.

References

1. Afanasyeva A.N. The study of the functional activity of platelets in oncology practice / A.N. Afanasyeva // Siberian Journal of Oncology. – 2002. – №2. – P. 67 – 68.
2. Volkov G.L., Platonov T.N., Savchuk A.N., Gornitskaya O.V., Chernyshenko T.M., Krasnobrizhaya E.N. Modern ideas about the system of hemostasis – K.. Naukova Dumka 2005. 292 p.
3. Instructions for determining the platelet aggregation activity analyzer AP2110 (Ed Cheschevik M.A.) – Minsk, 1995. – p. 22.
4. Laboratory Methods in clinic. Directory. (Ed Menshikov V.V.) – Moscow, Medicine, 1987. – 368 p.
5. Lyusov V.A. To the method of determination of platelet and erythrocytes aggregation / V.A. Lyusov, Y.B. Belousov, M.P. Savenkov // Lab.work. – 1976. – № 8. – P. 463-468.
6. Medvedev I.N. Platelet aggregation in healthy individuals a second mature age / I.N. Medvedev, N.V. Kutafin // Fundamental Research – 2012. – №8. – P.362–366.
7. Parakhonsky A.P. Aggregation of platelets in patients with chronic ischemic heart disease / A.P. Parakhonsky // Modern High Technologies. – 2012. – №9. – P. 52 – 53.
8. Tropin S.V. Analysis of the combined treatment of complications of non-small cell lung cancer / S.V. Tropin, S.V. Miller, S.A. Tuzikov, A.A. Zavyalov, [at all] // Siberian Journal of Oncology. – 2007. – №4. – P. 50 – 56.
9. Shevchuk S.V. Characteristics of platelet aggregation in patients with systemic lupus erythematosus // S.V. Shevchuk // Ukrainian Journal of Rheumatology. – 2007. – №2(28). – P. 32 – 36.
10. Shilova A.N. The functional activity of platelets in cancer patients / A.N. Shilova, A.F. Lazarev, E.F. Kotovschikova // Siberian Journal of Oncology. – 2011 – Ap. №1. – P. 123-124.
11. Yee D.L. Aggregometry detects platelet hyperreactivity in healthy individuals / D.L. Yee, C.W. Sun, Bergeron, J.F. Dong, P.F. Bray // Blood. – 2005. – №106(8). – P. 2723 – 2729.
12. Yee D.L. Platelet hyperreactivity generalizes to multiple forms of stimulation / D.L. Yee, C.W. Sun, Bergeron, J.F. Dong, P.F. Bray // J. Thromb Haemost. – 2006. – №4(9). – P. 2043 – 2050.

Ю.Бурлака, науч. сотр., Н. Гринь, науч. сотр., С.Верева, д-р биол. наук
ГУ "Институт отоларингологии им. проф. А.С. Коломийченко НАМН Украины", Киев, Украина

ИССЛЕДОВАНИЕ АГРЕГАЦИИ ТРОМБОЦИТОВ У БОЛЬНЫХ РАКОМ ГОРТАНИ

Исследовали агрегационную функцию тромбоцитов у больных с разными стадиями рака гортани для выявления наиболее показательных нарушений и определения наиболее информативных отличий. Проведена сравнительная оценка показателей агрегации тромбоцитов в плазме крови больных раком гортани по сравнению данными в контрольной группе условно здоровых лиц. Установлено усиление АДФ ряда показателей агрегации тромбоцитов при всех использованных концентрациях индуктора. При III-й стадии онкологического процесса наряду с увеличением количества лиц с гиперагрегацией тромбоцитов отмечали достоверное уменьшение в крови количества тромбоцитов и увеличение числа лиц с тромбоцитопенией. У больных с II-ой и III-й стадиями рака гортани наблюдаются значительные изменения степени, скорости и времени агрегации в сторону увеличения их уровней относительно соответствующих контрольных данных. Наиболее существенные нарушения отмечаются при II-й стадии онкологического процесса.

Ключевые слова: рак гортани, тромбоциты, агрегация, аденозиндифосфат.

Iu. Burlaka, fellow researcher, N. Gryn', fellow researcher, S. Verevka, head of laboratory, Dr.Sci. Biol
National Academy of Medical Sciences of Ukraine prof. O.S. Kolomyichenko Institute of Otolaryngology, Kyiv, Ukraine

INVESTIGATION OF PLATELET AGGREGATION IN PATIENTS WITH LARYNGEAL CANCER

A comparative study of the induced platelet aggregation in patients with laryngeal cancer to determine the most revealing informative violations. It was compared evaluation of results of platelet aggregation in the blood plasma of patients with laryngeal cancer compared to the healthy persons. It was found intensification of ADP induced platelet aggregation in the concentration range which was used. At the same time with the increase the number of patients with platelet hyperaggregation reliable platelet decrease in blood and increase of patients with thrombocytopenia at the III-rd stage of laryngeal cancer are observed. In patients with II-nd and III-rd stage of laryngeal cancer was found increase in the level, rate and aggregation time compared to the healthy persons. The most significant violations observed in the II-nd stage of the cancer process.

Keywords: laryngeal cancer, platelet, aggregation, ADP.

УДК [57.044:546.59]:591.463.2

В. Калиновський, асп., А. Пустовалов, канд. біол. наук, М. Дзержинський, д-р біол. наук
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ,
Г. Гродзюк, канд. хім. наук, Н. Андрюшина, канд. хім. наук
ТОВ "Наномедтех", Київ

ВПЛИВ НАНОЧАСТИНОК ТА ЙОНІВ ЗОЛОТА НА МОРФО-ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН СІМ'ЯНИКІВ СТАТЕВОНЕЗРІЛИХ ЩУРІВ

Досліджували вплив золота у формі колоїду та солі на функціонування сім'яників статевонезрілих щурів. Встановлено, що йони золота стимулюють проліферативні процеси в сперматогенному епітелії, а також підвищують функціональну активність інтерстиціальних клітин. Наночастинки золота, навпаки, пригнічували ендокринну функцію сім'яника, а також гальмували статеве дозрівання. Таким чином, не зважаючи на стимулюючий характер солі золота, при переході до нанорозмірного класу цей метал набуває токсичних властивостей.

Ключові слова: Наночастинки, золото, сім'яник.

Вступ. Препарати золота традиційно застосовуються для лікування аутоімунних захворювань, у першу чергу ревматоїдного артриту [14]. Хоча золото традиційно вважається металом з низькою біологічною активністю, у ряді досліджень було показано можливість його накопичення в ендокринних органах [12]. Дані ж щодо впливу солей золота на активність репродуктивної системи є суперечливими [4].

Наночастинки золота є перспективним матеріалом сучасної нанобіотехнології та наномедицини. Специфічні фізико-хімічні властивості зумовлюють розробку підходів щодо застосування нанорозмірного золота у різноманітних системах детекції [11], для розробки вакцин [13], адресної доставки лікарських засобів, фототермальної терапії онкологічних захворювань [5, 6]. Але широке застосування наночастинок золота у медицині обмежене потенційним токсичним впливом цього агента. У дослідженнях *in vitro* було показано можливість ушкодження різних клітин внаслідок дії колоїдного золота [9]. В той же час літературні і дані щодо подібних досліджень *in vivo* є дуже обмеженими, особливо це стосується дослідження репродуктивної токсичності наноматеріалів [10]. Зважаючи на те, що у дослідженнях фармакокінетики наночастинок золота було показано можливість перетину ними гематотестикулярного бар'єру, питання впливу препаратів колоїдного золота на процеси сперматогенезу та тестикулярного стероїдогенезу є вкрай актуальним [3].

Тому метою нашої роботи було порівняння впливу йонів та наночастинок золота на репродуктивну систему статевонезрілих самців щурів.

Матеріали і методи. Розчини наночастинок золота отримували шляхом відновлення тетрахлораурату (III) натрію (NaAuCl_4) аскорбіновою кислотою у лужному середовищі, у присутності поліфосфату натрію. Для цього у водний розчин Au^{3+} 1×10^{-3} моль/л додавали, при інтенсивному перемішуванні, $2,5 \times 10^{-4}$ моль/л водного розчину поліфосфату натрію, 1×10^{-2} моль/л гідроксиду натрію та 1×10^{-3} моль/л аскорбінової кислоти. Перемішування продовжували протягом 10 хв. Отримані колоїди зберігали при кімнатній температурі без попадання прямих сонячних променів. Розчин наночастинок досліджували методом растрової електронної мікроскопії за допомогою растрового мікроскопа LMU Mira3 Tescan (Tescan a.s., Чеська Республіка) при напрузі прискорення 5–20 кВ. Мікроскоп був обладнаний приставкою Oxford X-MAX 80 мм для енергодисперсійної рентгенівської спектроскопії (Oxford Instruments, США). Розмір отриманих частинок визначали методом лазерної фотокореляційної спектроскопії здійснювали на приладі Zeta Sizer Nano S (Malvern, Великобританія). Колоїди опромінювали гелій-неоновим лазером з $\lambda = 633$ нм, розсіяне світло реєстрували під кутом 173° .

Дослідження проведено на 32 самцях білих нелінійних щурів з початковою масою 80-100 г. Вік тварин на початку експерименту становив 21 день, що відповідає віку статевонезрілих тварин. Щурів утримували в умовах віварію на стандартному раціоні.