

Изучение тканевых факторов свертывания нативного и консервированного костного мозга

К настоящему времени влияние костного мозга на свертывание крови изучено недостаточно. Гусейнов и соавт. [2] отмечают, что несмотря на более высокую фибринолитическую активность костного мозга, в целом функциональная активность факторов свертывания в костномозговом содержимом значительно выше, чем таковая в плазме периферической крови, что должно учитываться при применении трансплантации костного мозга в клинике при лечении больных с геморрагическим синдромом. Циценжапов [6] изучал влияние внутривенного введения красного костного мозга на свертывающую систему крови у собак и пришел к выводу, что плазма красного костного мозга содержит такие же про- и антикоагулянты, как и в периферической крови, но их функциональная активность выше.

Факторы свертывания самой костномозговой ткани практически не изучены. Когут и соавт. [3] установили, что нативный и криоконсервированный костный мозг обладает выраженной тромбопластиновой активностью. Авторы сделали заключение, что введение костного мозга в сосудистое русло может вызывать нарушение состояния системы свертывания крови по типу гиперкоагуляции или тромбгеморрагического синдрома в зависимости от исходного состояния показателей коагулограммы.

Целью нашей работы явилось детальное изучение тканевых факторов свертывания костного мозга.

Методика

В опыты брали костный мозг (нативный и консервированный) нормальных кроликов. Тромбопластиновое действие изучали, используя метод тромбопластиновой активности тканей на бестромбоцитарной субстратной плазме [4], основанный на том, что время свертывания обедненной тромбоцитами плазмы удлиняется за счет удаления тромбопластина крови, находящегося в тромбоцитах. Добавление к субстратной плазме тромбопластических компонентов приводило к сокращению времени свертывания. Из отмытых кусочков костного мозга кроликов готовили 10%-ный гомогенат (0,2 г ткани костного мозга и 1,8 мл физиологического раствора), который центрифугировали 10 мин 1500 мин⁻¹. Затем из надосадочной жидкости готовили разведения: 1:100, 1:200, 1:500, 1:1000, 1:2000, 1:5000, 1:10000. В качестве субстрата использовали бестромбоцитарную цитратную донорскую плазму, заготовленную на Киевской городской станции переливания крови. Контролем при определении тромбопластиновой активности служила бестромбоцитарная субстратная плазма на физиологическом растворе, время свертывания которой при добавлении 0,277%-ного хлористого кальция составило 110—130 с. В опытах вместо физиологического раствора добавляли по 0,1 мл тканевого гомогената [5].

Антитромбиновое действие определяли по влиянию гомогенатов на свертывание субстратной плазмы, богатой тромбоцитами, полученной обычным способом, стандартным раствором тромбина. Раствор тромбина готовили с таким расчетом, чтобы в контрольных пробах время свертывания в среднем было 30 с. В наших опытах концентрация тромбина колебалась в пределах 10—17 мг/мл.

Антигепариновую активность определяли с помощью метода Yürgens [7], предложенного для выявления 4-го антигепаринового фактора кровяных пластинок, несколько модифицированного [4, 5]. Субстратом служила бестромбоцитарная плазма. Стандартный раствор тромбина готовили из расчета 40—60 мг/мл — концентрация, которая вызывала свертывание через 13—15 с (контроль стандартного тромбина).

Контролем при определении антигепариновой активности служила гепаринизированная субстратная плазма на физиологическом растворе, тромбиновое время которой (при добавлении к ней 0,1 мл гепарина фирмы «Рихтер» в концентрациях от 0,25 до 0,45 ед/мл) составляло 45—50 с. Ход определения изучаемых показателей заключался в установлении времени свертывания инкубационной смеси, состоящей из 0,1 мл соответствующей субстратной плазмы и 0,1 мл физиологического раствора (контроль) или гомогената (опыт) при добавлении к ней (после 10 с прогрева на водяной бане при 37 °C) 0,1 мл 0,277%-ного раствора кальция или тромбина соответствующей концентрации. Если тканевые экстракты обладают тромбопластиновой или антигепариновой активностью, то время свертывания соответствующей субстратной плазмы должно укорачиваться, а если они обладают антитромбиновой активностью, то удлиняться. Разница в секундах между временем свертывания соответствующей субстратной плазмы до и после прибавления гомогената отражает его активность. Полученные цифровые данные обработаны методом вариационной статистики [1] и представлены в таблице.

Результаты и их обсуждение

Как видно из таблицы, при прибавлении к субстратной плазме экстрактов из костного мозга время свертывания существенно сокращалось. Даже при максимальном разведении экстракта в 10 000 раз разница между временем свертывания субстратной плазмы ($119 \pm 2,7$ с) и консервированного ($93 \pm 2,7$ с) костного мозга статистически достоверна ($P < 0,01$).

Таким образом, даже в наибольшем разведении экстракты костного мозга кроликов обладают достаточно стойкой тромбопластиновой активностью. При меньших разведениях тромбопластиновые свойства более выражены и время свертывания смеси бестромбоцитарной субстратной плазмы с экстрактами костного мозга еще более значительно сокращается. При сравнении нативного и консервированного костного мозга обнаружено, что нативный костный мозг обладает более выраженной тромбопластиновой активностью вплоть до разведения экстрактов в 1:5000 раз. При дальнейшем разведении разница во времени свертывания, отражающая тромбопластиновую активность нативного и консервированного костного мозга, статистически недостоверна ($P > 0,05$).

При изучении антигепаринового действия обнаружено, что время свертывания обычной субстратной плазмы составляло $14 \pm 1,6$ с. После

Тромбопластиновая активность нативного и консервированного костного мозга кроликов ($n=12$, $M \pm m$)

Показатель	Разведения тканевых экстрактов						
	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:5000	1:10000
Время свертывания бестромбоцитарной субстратной плазмы (контроль), с	$119 \pm 2,7$	$119 \pm 2,7$	$119 \pm 2,7$	$119 \pm 2,7$	$119 \pm 2,7$	$119 \pm 2,7$	$119 \pm 2,7$
Время свертывания субстратной плазмы с экстрактом костного мозга, с:							
нативным	$29 \pm 2,7$	$34 \pm 2,7$	$41 \pm 2,7$	$45 \pm 2,4$	$56 \pm 2,3$	$73 \pm 2,3$	$94 \pm 3,0$
консервированным	$39 \pm 1,7^{**}$	$44 \pm 1,7^{***}$	$53 \pm 1,6^{**}$	$57 \pm 6,5^{**}$	$65 \pm 2,3^*$	$81 \pm 2,6$	$91 \pm 2,7$

Примечание. * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$; n—число животных.

добавления к ней гепарина в среднем до 4 с, а тромбиновое время до $45,59 \pm 7,1$ с. Однако по достоверности.

Исследование антитромбиновых проб тромбиновое добавлении нативного костного мозга при прибавлении консервированного $41 \pm 4,8$ с. Как укорочен статистически недостоверно.

Выводы

Костный мозг (нативный) стойкой к разведению тромбопластиновой и антигепариновых и антитромбиновых

G. N. Lipkan, G. I. Kogut, L. S. G. T. G'ukhenkaya, S. Ya. Kubik

STUDIES OF TISSUE COAGULATION OF THE NATIVE AND CRYOPRESERVED BONE MARROW

Status of thromboplastin, antithrombin cryopreserved bone marrow w both the native and cryopres resistant thromboplastin activity tistically unauthentic. In that may have different effects dep tion. The fact should be taken

Institute of Hematology and B Ministry of Public Health of th

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Белоус А. К., Колодяжный тических и показателя суд биологических испытания С. 17—24.
2. Гусейнов Г. А., Караджан норского костного мозга и эффективности транспланта матологии и трансфузиолог
3. Когут Г. И., Липкан Г. Н нентов в трансплантате и докл. 9-й Всесоюз. конф. п С. 232.
4. Титова К. Т., Никитин К свойства легочной ткани Вып. 17.— С. 70—73.
5. Оборина Ю. Н., Никитин же.— С. 73—76.
6. Циценжапов В. А. Влиян свертывающую систему кр Киев, 1969.— С. 164—165.
7. Yürgens J., Beller F. Klini Georg Time Verlag, 1959.—

Киев, ин-т гематологии и пеп М-ва здравоохранения УССР

добавления к ней гепарина (0,25—0,45 ед/мл) тромбиновое время удлинилось в среднем до $48 \pm 4,3$ с. Нативный костный мозг сокращал тромбиновое время до $45 \pm 4,3$ с, а консервированный — удлинял до $59 \pm 7,1$ с. Однако полученные изменения были статистически недостоверными.

Исследование антитромбинового действия показало, что в контрольных пробах тромбиновое время составляло в среднем $31 \pm 3,4$ с. При добавлении нативного костного мозга оно укорачивалось до $28 \pm 2,9$ с, а при прибавлении консервированного костного мозга — удлинялось до $41 \pm 4,8$ с. Как укорочение, так и удлинение времени свертывания было статистически недостоверным.

Выводы

Костный мозг (нативный и консервированный) обладает выраженной и стойкой к разведению тромбопластиновой активностью и не проявляет антигепариновых и антитромбиновых свойств.

G. N. Lipkan, G. I. Kogut, L. S. Mkhitarian,
G. T. Glukhenkaya, S. Ya. Kubrachenko

STUDIES OF TISSUE COAGULATION FACTORS OF THE NATIVE AND CRYOPRESERVED BONE MARROW

Status of thromboplastin, antiheparin and antithrombin characteristics of the native and cryopreserved bone marrow was studied experimentally on 12 rabbits. It is found that both the native and cryopreserved bone marrow possesses a pronounced and dilution resistant thromboplastin activity, whereas antithrombin and heparin activities were statistically unauthentic. In that connection the bone marrow injected into blood circulation may have different effects depending on the initial state of the recipient blood coagulation. The fact should be taken into account in clinics.

Institute of Hematology and Blood Transfusion,
Ministry of Public Health of the Ukrainian SSR, Kiev

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Белоус А. К., Колодяжный В. И. Упрощенный метод определения средних арифметических и показателя существенности разницы между совокупностями величин в биологических испытаниях // Фармакология и токсикология. — 1971. — Вып. 6. — С. 17—24.
2. Гусейнов Г. А., Караджанов Я. К., Касимов Г. И. Гемостатическая активность донорского костного мозга и его клиническое значение // Материалы симпозиума по эффективности трансплантации костного мозга в клинике, актуальным вопросам гематологии и трансфузиологии. — Ташкент, 1973. — С. 69—70.
3. Когут Г. И., Липкан Г. Н., Мхитарян Л. С. О наличии тромбопластических компонентов в трансплантате костного мозга // Трансплантация органов и тканей: Тез. докл. 9-й Всесоюз. конф. по пересадке органов и тканей. — Тбилиси, 5—6 окт. 1982. — С. 232.
4. Титова К. Т., Никитин Ю. П. Некоторые свертывающие и противосвертывающие свойства легочной ткани собак // Ученые записки Кемеров. пед. ин-та. — 1968. — Вып. 17. — С. 70—73.
5. Оборина Ю. Н., Никитин Ю. П. Антитромбиновая активность стенки аорты // Там же. — С. 73—76.
6. Циценжапов В. А. Влияние внутривенного введения красного костного мозга на свертывающую систему крови собак // Система свертывания крови и фибринолиз. — Киев, 1969. — С. 164—165.
7. Yürgens J., Beller F. Klinische Methoden der Blut gerinnungs — analyse. — Stuttgart: Georg Time Verlag, 1959. — 305 p.

Киев, ин-т гематологии и переливания крови
М-ва здравоохранения УССР

Материал поступил
в редакцию 23.01.89