

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ТРОМБОЦИТОВ КРОВИ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ЭЛЕКТРИЧЕСКОГО ПОЛЯ

Якунчикова К.Н., аспирант, ФГБОУ ВО СПбГАВМ

Ключевые слова: тромбоциты, адгезия, агрегация, функции, гемостаз, гальваническая ячейка. **Key words:** platelets, adhesion, aggregation, functions, hemostasis, galvanic cell.



РЕФЕРАТ

Целью этого эксперимента было выявить структурно-функциональные изменения тромбоцитов, происходящие в них под воздействием внешних факторов (электрического поля).

Создавалась гальваническая ячейка представляющая собой стеклянный капилляр с внутренним диаметром 0.628 мм длиной 75 мм (объем = 23.23 мм³) который заполнялся исследуемой жидкостью: кровью стабилизированной ЭДТА (этилендиаминтетрауксусная кислота). При создании гальванической ячейки воспроизводилась электродная пара аналогичная элементу Лекланше. В противоположные концы капилляра помещали графитовый стержень и медный проводник. Электрохимический потенциал измерялся цифровым мультиметром Digital DT-832.

Перед началом эксперимента были сделаны мазки крови. После измерения потенциала также делались мазки крови по стандартной методике, капля крови бралась со стороны графитового стержня и медного проводника. Мазки окрашивались по Майн-Грюнвальду и Романовскому-Гимзе.

Стекла с образцами крови подвергали фиксации 1.5% раствором глутаральдегида на фосфатном буфере, обезжизняли в серии спиртов возрастающей концентрации (до 100%). Дополнительно сушили переходом критической точки CO₂, напыляли золотом и просматривали в сканирующем электроном микроскопе Hitachi H-300.

В ходе эксперимента было выявлено, что под воздействием электрического поля, создаваемого при помощи гальванической ячейки, тромбоциты из клеток нормальной, дискоидной формы превращались в сфероциты, имеющие множество отростков, размер которых превышал диаметр самих тромбоцитов. Измененные тромбоциты собирались в группы по несколько штук.

Исходя из зарегистрированных изменений клеток в мазках крови, можно сделать предположение, что происходила агрегация тромбоцитов, вызванная действием электрического поля в гальванической ячейке, что привело к расплыванию тромбоцитов и усилению выработки факторов, участвующих в процессах свёртывания крови.

ВВЕДЕНИЕ

Тромбоциты – безъядерные фрагменты гигантских клеток красного костного мозга – мегакариоциты. В кровотоке они имеют дискоидную форму, их диаметр 2-3 мкм. Форма тромбоцита обеспечивается циркулярным микротубулярным кольцом. Тромбоцит имеет 4 функциональные зоны. Первая – периферическая зона, пред-

ставляющая собой двухслойную фосфолипидную мембрану и пространства, окружающие ее с двух сторон. Золь – гель зона, является вязким матриксом цитоплазмы кровяной пластинки. Третья зона – зона органелл, состоит из органелл, расположенных по всей цитоплазме неактивных тромбоцитов. И последняя зона мембран, состоит из каналов плотной тубу-

лярной системы, напоминающей структуру миоцитарного саркоплазматического ретикулума.[3] Количество тромбоцитов составляет 180-320 *10⁹ в литре крови. Время пребывания в кровотоке – 8-11 суток. Избыток тромбоцитов грозит тромбообразованием, недостаток – нарушением свертывания крови – кровотечением.[5]

В естественных условиях число кровяных пластинок подвержено значительным колебаниям. Количество их возрастает при пищеварении, тяжелой мышечной работе, беременности. Имеют место и суточные колебания: днем тромбоцитов больше, чем ночью. Основная масса старых тромбоцитов фагоцитируется макрофагами в селезенке.

Тромбоциты, или кровяные пластинки имеют очень важную роль в процессах свертывания крови и гемостаза. Роль кровяных пластинок в гемостазе заключается в ангиотрофической функции (поддержание структуры и функции микрососудов и их непроницаемости по отношению к эритроцитам), они способны выделять вазоактивные вещества (серотонин, катехоламины и др.), закупоривать поврежденные сосуды, путем образования первичной тромбоцитарной пробки (процесс, состоящий из адгезии тромбоцитов – приклеивания их к сосудистой стенке и слипания между собой – агрегации).[4] Вся эта физиологическая активность кровяных пластинок в процессах гомеостаза, связана с содержащимися в них ферментами.[1]

Целью этого эксперимента было выявить структурно-функциональные изменения тромбоцитов, происходящие в них под воздействием электрического поля. Электрическое поле моделировалось путём создания гальванической ячейки.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В проводимых экспериментах создавалась гальваническая ячейка представляющая собой стеклянный капилляр с внутренним диаметром 0.628 мм длиной 75 мм (объем = 23.23 мм³) который заполнялся исследуемой жидкостью: кровью стабилизированной ЭДТА

(этилендиаминтетрауксусная кислота). При создании гальванической ячейки воспроизводилась электродная пара аналогичная элементу Лекланше. В противоположные концы капилляра помещали графитовый стержень и медный проводник. Электрохимический потенциал измерялся цифровым мультиметром Digital DT-832.

Перед началом эксперимента были сделаны мазки крови. После измерения потенциала также делались мазки крови по стандартной методике, капля крови бралась со стороны графитового стержня и медного проводника. Мазки окрашивались по Майн-Грюнвальду и Романовскому-Гимзе.

Стекла с образцами крови подвергали фиксации 1.5% раствором глутаральдегида на фосфатном буфере, обезживали в серии спиртов возрастающей концентрации (до 100%). Дополнительно сушили переходом критической точки CO₂, напыляли золотом и просматривали в сканирующем электроном микроскопе Hitachi H-300.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В мазке крови, который делался перед началом измерения электрохимического потенциала, при его рассмотрении в электронном микроскопе по стандартной методике, эритроциты имели свою обычную форму, т.е. были нормоцитами и окрашены по Романовскому - Гимзе эозином в розовый тон. Тромбоциты имели дискоидную форму и располагались в мазке поодиночно, а цитоплазма клеток окрашивалась эозином в светло-розовый цвет с отдельными пурпурными зернами.

(Рис 1.)

В мазках крови сделанных после измерения электрокинетического потенциала, наблюдалась картина: эритроциты из нормоцитов превращались в эхиноциты, это может быть обусловлено близостью стеклянной поверхности (по всей видимости из-за локального защелачивания), а тромбоциты из дискоидной формы превратились в отростчатую форму с появившимися цитоплазматическими отростками и собирались в группы по несколько

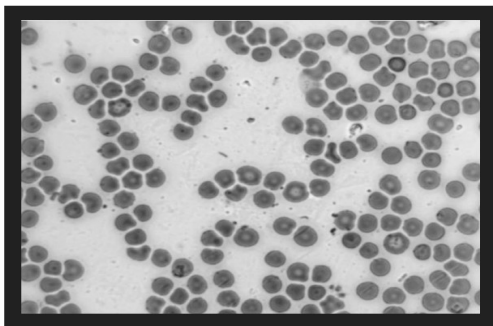


Рис. 1—Эритроциты и тромбоциты до пропускания электрического тока. Микроскопия мазков проводилась под увеличением 60.

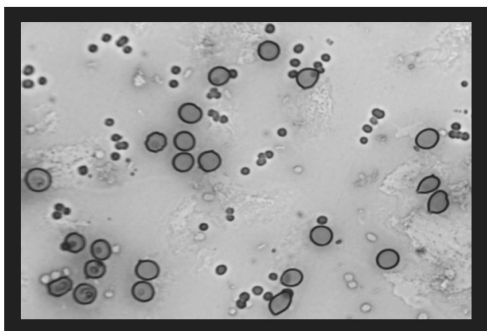


Рис. 2 - Эритроциты и тромбоциты после пропускания электрического тока со стороны медного проводника.

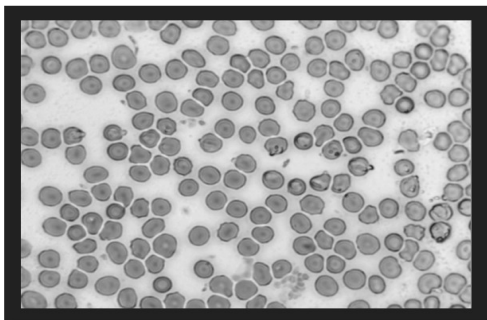


Рис. 3—Эритроциты и тромбоциты после пропускания электрического тока со стороны грифельного стержня.

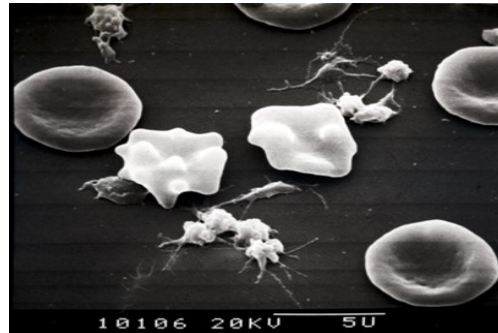


Рис. 4—Сканирующая электронная микроскопия клеток крови, полученной из положительного полюса электрокинетической ячейки, видны прикрепленные к поверхности подложки тромбоциты с многочисленными псевдоподиями.

штук. Более выраженные изменения были со стороны, где находился медный проводник, т.е. находился положительный полюс нашей гальванической ячейки. Со стороны, где находился грифельный стержень наблюдались изменения в клетках крови, но не так явно выраженные, как с противоположной стороны капилляра. (Рис. 2,3,4)

Мембрана тромбоцитов обладает высокой пластичностью и деформируемостью, в силу чего и осуществляется их основная функция – участие в тромбообразовании. Тромбоциты чрезвычайно чувствительные клетки, которые немедленно реагируют на любые воздействия. [2] При стимуляции они проявляют выраженную агрегацию, адгезию и секрецию. При контакте с чужеродной поверхностью тромбоцит активируется, изменяет свою форму путем превращения в сфероцит, который имеет множество отростков, размер их может превышать поперечник самих клеток. Изменение формы кровяных пластинок обусловлено нарастанием уровня ионов кальция в их цитоплазме, что ведет к деполимеризации тубулина. Это приводит к растворению микротубулярного кольца и ультраструктурной перестройке внутренней части тромбоцитов с форми-

рованием нитей актина. Возникновение псевдоподий способствует быстрому контакту тромбоцитов между собой, что приводит к замедлению кровотока в месте их активации. Периферическая зона кровяных пластинок осуществляет барьерную функцию, помогая поддерживать нормальную форму тромбоцита, обеспечивая сквозь неё обмен веществ, активацию и весь процесс участия кровяных пластинок в гемостазе. В зоне золь-геля расположены сократительные протеины, которые важны для ретракции агрегировавших тромбоцитов и для их реакции высвобождения. В зоне органелл, расположены гранулы, в которых находятся вещества, необходимые для процесса тромбоцитарного гемостаза – серотонин, адениновые нуклеотиды, ионы кальция, фибриноген, адреналин, фактор Виллебранда, антигепариновый фактор. В последней, четвертой функциональной зоне хранятся и синтезируются ионы кальция, необходимые для активации тромбоцита.[3]

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Из зарегистрированных изменений клеток в мазках крови, можно сделать предположение, что происходила агрегация тромбоцитов, вызванная действием электрического поля в гальванической ячейке, что привело к расплыванию тромбоцитов и усилению выработки факторов, участвующих в процессах свёртывания крови.

Structural and functional changes in blood platelets (trombocytes) when exposed to an electric field (electric field effect). Iakunchikova K.N.

ABSTRACT

The purpose of this experiment was to reveal the structural and functional changes in platelets that occur in them under the influence of external factors (electric field). A galvanic cell was constructed which was a glass capillary with an inner diameter of 0.628 mm length 75 mm (volume = 23.23 mm³) which was filled with the test liquid: the blood of stabilized EDTA (ethylenediaminetetraacetic acid). When creating a galvanic cell, the electrode pair was similar to the Leclanche element. A graphite rod and a copper conductor were placed at opposite ends of the capillary. The electrochemical potential was meas-

ured with a Digital Multimeter Digital DT-832. Before the experiment, blood smears were made. After measuring the potential, blood smears were also made according to a standard procedure, a drop of blood was taken from the side of the graphite rod and the copper conductor. The smears were painted according to Main-Grunwald and Romanovsky-Giemsa. Glasses with blood samples were fixed with 1.5% glutaraldehyde solution on phosphate buffer, dehydrated in a series of alcohols of increasing concentration (up to 100%). It was further dried by passing the CO₂ critical point, sputtered with gold, and viewed in an electron scanning electron microscope, the Hitachi H-300. In the course of the experiment it was revealed that under the influence of an electric field created by means of a galvanic cell, platelets from cells of normal, diskoid form turned into spherocytes having a number of processes larger than the diameter of the platelets themselves. The altered platelets were assembled into groups of several pieces. Based on registered changes in cells in blood smears, it can be assumed that platelet aggregation occurred due to the action of an electric field in the galvanic cell, which led to platelet fragmentation and increased production of factors involved in blood clotting processes.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кассирский И.А. Алексеев Г.А. Клиническая гематология. Изд. 4-е. исп. И. доп.; М: Медицина.-1970.
2. Лобовская Л.В. Поверхностная архитектура и электрофоретическая подвижность интактных и консервированных тромбоцитов. Автореф. дисс. на соиск. учен. степ. канд. мед. наук. М.-1985
3. Марковчин А.А. Физиологические особенности тромбоцитов// Научное обозрение. Биологические науки.-2015.-№1.
4. Медведева М. А. Клиническая ветеринарная лабораторная диагностика. Справочник для ветеринарных врачей.-М.: «Аквариум Принт», 2013. – 416 с.: ил.
5. Ноздрачев А.В. Большой практикум по физиологии человека и животных. В 2 т. Т. 2. Физиология висцеральных систем: учеб. Пособие для студ. вузов/[А.Д. Ноздрачев и др.]; под ред. А.Д. Ноздрачева.-М.: Издательский центр «Академия», 2007.-544 с.