

ВЛИЯНИЕ ОДНОКРАТНОЙ ИММОБИЛИЗАЦИИ РАЗЛИЧНОЙ ИНТЕНСИВНОСТИ НА РЕАКЦИИ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА

Игорь Ильич ШАХМАТОВ^{1,2}

¹ГБОУ ВПО Алтайский государственный медицинский университет Минздравсоцразвития РФ
656038, г. Барнаул, пр. Ленина, 40

²Алтайский филиал НИИ физиологии СО РАМН
656031, г. Барнаул, ул. Папанинцев, 126

На 126 крысах линии Wistar установлено, что однократная 3-часовая иммобилизация различной интенсивности (умеренная иммобилизация в пенале, «водно-иммерсионное погружение» в пенале, иммобилизация на спине с фиксацией конечностей) при увеличении интенсивности воздействия либо появлении дополнительного стрессора сопровождается нарастанием неблагоприятных сдвигов со стороны системы гемостаза. При этом на смену сочетанной активации свертывающей и фибринолитической систем на фоне увеличения антикоагулянтных свойств плазмы крови приходит клиническая картина тромбинемии с развитием претромботического состояния.

Ключевые слова: гемостаз, гиподинамия, иммобилизация, стресс, адаптация, крысы.

Роль гипокинезии как социально значимого стрессорного фактора современности становится все более актуальной [1, 2]. Снижение двигательной активности рассматривается в качестве одного из факторов риска развития атеросклероза, ишемической болезни сердца, сахарного диабета и других заболеваний [1]. Еще более выраженным стрессирующим воздействием является полная иммобилизация [3]. Между тем, как показали исследования последних лет в области гемостазиологии, различные стрессорные влияния способны смещать гемостатический потенциал крови [4, 5] вплоть до развития синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания [1, 5, 6]. При этом представление о направленности и выраженности реакций со стороны системы гемостаза при изменении параметров стрессорного воздействия сформировано не достаточно полно.

Целью экспериментов, описанных в данной работе, явилось изучение влияния на реакции системы гемостаза иммобилизационного воздействия различной интенсивности.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследования были выполнены на 126 разнополых крысах линии Wistar.

Однократная 3-часовая иммобилизация различной интенсивности моделировалась у животных, объединенных в три экспериментальные группы.

В первой серии экспериментов ($n = 13$, группа «Опыт 1») анализировалось состояние системы гемостаза после однократного 3-часового умеренного ограничения подвижности в индивидуальных пластиковых пеналах, значительно снижающих двигательную активность крыс.

Во второй серии экспериментов животные ($n = 20$, группа «Опыт 2») подвергались однократной 3-часовой иммобилизации в тех же индивидуальных пеналах, что были использованы в предыдущей серии. При этом для увеличения интенсивности стрессорного воздействия иммобилизованные животные погружались в воду по мечевидный отросток грудины (модель «водно-иммерсионного погружения» [7]).

В третьей серии экспериментов животные ($n = 23$, группа «Опыт 3») подвергались однократной жесткой иммобилизации на спине (модель «нервно-мышечного напряжения» по Г. Селле), максимально ограничивающей двигательную активность экспериментальных крыс [7].

Сразу по окончании воздействия, после предварительной наркотизации животных раствором тиопентала натрия из расчета 50–100 мг/кг массы тела путем его внутривенного введения, кровь для исследования забирали из печеночного синуса. Контролем служили показатели гемостаза, полученные у крыс контрольной группы ($n = 70$). Оценка показателей гемостаза производилась с помощью методик, позволяющих исследовать состояние тромбоци-

тарного гемостаза, внутренний и внешний путь активации коагуляционного гемостаза, конечный этап образования фибринового сгустка, состояние антикоагулянтного звена, а также фибринолитической системы, в соответствии с имеющимися отечественными руководствами [6, 8]. Все параметры системы гемостаза оценивались с помощью диагностических наборов фирмы «Технология-Стандарт» (Россия). Эксперименты на крысах осуществляли в соответствии с Европейской конвенцией по охране позвоночных животных, используемых в эксперименте (Директива 86/609/ЕЕС). Обезболивание и умерщвление животных проводилось в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных». Коагулограмму исследовали при помощи коагулометра Миналаб 701 (ЗАО «Юнимед», Россия). Количество тромбоцитов подсчитывали на гематологическом анализаторе Coulter («Beckman Coulter», США).

Статистическая обработка проводилась с учетом распределения признаков в группах с использованием критерия Шапиро–Уилка. В зависимости от распределения применяли *t*-критерий Стьюдента для неравных дисперсий или непараметрический U-критерий Ман-

на–Уитни. Данные представлены в виде $X \pm m$, где X – среднее арифметическое в выборочной совокупности, m – стандартная ошибка средней арифметической. Критический уровень значимости (p) при проверке статистических гипотез в данном исследовании принимали равным 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ результатов, зарегистрированных в ходе трех серий экспериментов с 3-часовым иммобилизационным стрессом различной интенсивности, выявил существенные отличия в реакциях системы гемостаза в ответ на действие раздражителя (см. таблицу).

Оценка состояния тромбоцитарного гемостаза показала, что умеренное однократное 3-часовое ограничение подвижности не вызывало изменения агрегационной функции кровяных пластинок. При увеличении интенсивности воздействия (в первом случае – за счет усиления психоэмоционального компонента (нахождение в водной среде), во втором – за счет усиления иммобилизации путем фиксации конечностей) по истечении трех часов регистрировалось снижение агрегационной функции тромбоцитов. Учитывая тот факт, что 30-минутная иммобилизация в тех же условиях сопровождалась рос-

Динамика изменений показателей системы гемостаза, зарегистрированных при различных по интенсивности однократных 3-часовых иммобилизационных воздействиях ($X \pm m$)

Показатель	Контроль ($n = 70$)	Опыт 1 ($n = 13$)	Опыт 2 ($n = 20$)	Опыт 3 ($n = 23$)
Содержание тромбоцитов, $\times 10^9$ л	$772,1 \pm 23,9$	$767,2 \pm 32,2$	$683,4 \pm 38,2$	$628,3 \pm 40,7^{**,\#\#}$
Индукцированная агрегация тромбоцитов, с	$21,7 \pm 0,5$	$21,5 \pm 1,4$	$29,4 \pm 1,4^{***,\#\#\#}$	$27,4 \pm 1,4^{***,\#\#}$
Силиконовое время, с	$220,4 \pm 5,7$	$174,8 \pm 11,4^*$	$112,2 \pm 10,3^{***,\#\#\#}$	$102,1 \pm 8,4^{***,\#\#\#}$
Каолиновое время, с	$84,1 \pm 2,2$	$81,9 \pm 2,0$	$54,3 \pm 3,0^{***,\#\#\#}$	$59,4 \pm 5,0^{***,\#\#\#}$
ИДКА, %	$60,7 \pm 1,2$	$51,3 \pm 2,6^{**}$	$46,4 \pm 3,7^{***}$	$41,6 \pm 3,4^{***,\#}$
АПТВ, с	$21,8 \pm 0,4$	$20,5 \pm 0,7$	$19,3 \pm 0,9^*$	$18,6 \pm 1,1^{**}$
Протромбиновое время, с	$13,9 \pm 0,2$	$13,9 \pm 0,2$	$12,1 \pm 0,4^{***,\#\#\#}$	$10,8 \pm 0,5^{***,\#\#\#,^{\wedge}}$
Тромбиновое время, с	$28,1 \pm 0,7$	$26,7 \pm 1,3$	$19,0 \pm 0,9^{***,\#\#\#}$	$23,2 \pm 1,3^{**,\wedge}$
Эхитоксовое время, с	$22,7 \pm 0,5$	$24,8 \pm 1,3$	$26,0 \pm 0,7^{***}$	$25,4 \pm 0,9^*$
Содержание РФМК, мг/100 мл	$3,3 \pm 0,1$	$3,3 \pm 0,3$	$10,6 \pm 2,5^{***,\#\#}$	$12,2 \pm 1,9^{***,\#\#\#}$
Содержание фибриногена, г/л	$1,77 \pm 0,07$	$1,97 \pm 0,16$	$1,35 \pm 0,06^{***,\#\#\#}$	$1,21 \pm 0,18^{***,\#\#\#}$
Антитромбиновый резерв плазмы, %	$103,0 \pm 1,9$	$103,2 \pm 0,9$	$69,2 \pm 1,4^{***,\#\#\#}$	$70,3 \pm 1,9^{***,\#\#\#}$
Содержание антитромбина III, %	$97,3 \pm 1,4$	$92,4 \pm 4,1$	$79,9 \pm 1,7^{***,\#\#}$	$82,8 \pm 1,9^{***,\#}$
Спонтанный эуглобулиновый фибринолиз, мин	$332,1 \pm 14,0$	$255,1 \pm 32,2^*$	$509,5 \pm 20,1^{***,\#\#\#}$	$427,0 \pm 25,8^{***,\#\#\#,^{\wedge}}$

Примечание. Курсивом обозначены признаки, не подчиняющиеся нормальному распределению; отличие от величины соответствующего показателя в контрольной группе достоверно: * – при $p < 0,05$, ** – при $p < 0,01$, *** – при $p < 0,001$ соответственно; отличие от величины соответствующего показателя в группе «Опыт 1» достоверно: # – при $p < 0,05$, ## – при $p < 0,01$, ### – при $p < 0,001$ соответственно; отличие от величины соответствующего показателя в группе «Опыт 2» достоверно: ^ – при $p < 0,05$.

том функциональной активности тромбоцитов (показано в предыдущих исследованиях [3]), можно предположить, что 3-часовое воздействие более выраженного по силе стрессора приводило уже к некоторому истощению описываемой функции.

На примере показателей, оценивающих состояние контактной фазы свертывания крови (силиконовое и каолиновое время свертывания, индекс диапазона контактной активации (ИДКА)), наглядно видно, что по мере увеличения интенсивности иммобилизационного стресса нарастает как само количество тестов, отреагировавших на воздействие, так и степень активации контактных факторов, запускающих гемокоагуляционный каскад по внутреннему пути.

Динамика показателей, характеризующих состояние внутреннего (активированное парциальное тромбопластиновое время свертывания (АПТВ)) и внешнего (протромбиновое время свертывания) путей гемокоагуляции, наблюдавшаяся в ходе возрастающего по интенсивности 3-часового иммобилизационного стресса, также подтверждает обнаруженную ранее тенденцию. Если умеренная иммобилизация не сопровождалась изменением АПТВ и протромбинового времени, то последовательное увеличение интенсивности воздействия приводило к нарастанию гиперкоагуляции как по внутреннему, так и по внешнему путям активации свертывания крови.

Со стороны конечного этапа образования фибринового сгустка при умеренной иммобилизации не отмечалось динамики ни одного из исследуемых показателей. Однако увеличение интенсивности воздействия приводило к отклонению от исходных величин сразу всех четырех тестов. Тромбиновое время свертывания стабильно укорачивалось, а эхитоксовое время – удлинялось. Удлинение последнего теста может быть объяснено появлением в кровотоке патологических форм фибриногена, менее подверженных полимеризации под действием коагуляционно активных компонентов яда эфы песчаной (*Echis multisquamatus*).

Снижение уровня фракций фибриногена, свертываемых тромбином, и такой же пропорциональный рост содержания растворимых фибрин-мономерных комплексов (РФМК) в плазме крови у животных, подвергавшихся более серьезному иммобилизационному воздействию, говорит о существенных сдвигах в системе гемостаза, приведших к потреблению фибриногена вследствие активного тромбиногенеза,

подтверждением чему являлись обнаруженные нами в большом количестве РФМК.

Более выраженное воздействие сочетанной и жесткой иммобилизации на организм животных подтверждалось и динамикой показателей противосвертывающей системы крови. Так, слабый активирующий эффект умеренной иммобилизации на гемокоагуляцию не вызывал изменения гепарин-кофакторной активности плазмы крови (по показателю антитромбинового резерва плазмы) и уровня основного антикоагулянта – антитромбина III. Воздействие же сочетанной и жесткой иммобилизации, сопровождавшееся установленными признаками тромбинемии, приводило к явному снижению антикоагулянтных свойств плазмы, что делало ситуацию еще более угрожающей с точки зрения возможного тромбообразования.

И, наконец, динамика фибринолитической активности плазмы крови также подтверждала наличие серьезных отклонений в системе гемостаза, регистрируемых при увеличении интенсивности иммобилизационного воздействия. Если умеренная иммобилизация сопровождалась активацией фибринолиза, делая комплексную реакцию со стороны системы гемостаза сбалансированной, то угнетение фибринолиза, выявляемое в ходе двух последних серий экспериментов, окончательно сдвигало неустойчивое равновесие в системе в сторону гиперкоагуляции.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, анализ изменений со стороны системы гемостаза, зарегистрированных при различных по интенсивности однократных 3-часовых иммобилизационных воздействиях, показал, что увеличение силы стрессора либо появление дополнительного стрессора наряду с уже имеющимся сопровождается нарастанием неблагоприятных сдвигов со стороны практически всех звеньев исследуемой системы.

Так, умеренная иммобилизация характеризовалась сбалансированной ответной реакцией со стороны системы гемостаза, зафиксированной лишь наиболее чувствительными тестами и характеризующейся сочетанной активацией процессов свертывания крови и фибринолиза. Появление дополнительного стрессора при прежнем уровне иммобилизации либо более жесткое ограничение подвижности животного существенно отягощало общую гемостазиологическую реакцию. Более интенсивное воздействие вызывало и более выраженные сдвиги в состоянии системы гемостаза. В ответную реакцию оказались вовлечены все звенья коа-

гуляционного процесса, а также пути его активации. При этом процесс активации свертывания уже не ограничивался начальными этапами, что имело место при слабой интенсивности воздействия, а шел до конечного этапа – образования фибрина в сосудистом русле. Отсюда понятно снижение у таких животных антикоагулянтной активности плазмы крови. Полное рассогласование в работе системы подтверждается и угнетением фибринолиза. Все это в совокупности с вышеописанными гиперкоагуляционными сдвигами делает системную картину крайне опасной с точки зрения возможности развития синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови [6, 8, 9].

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Агаджанян Н.А., Баевский Р.М., Береснева А.П. Учение о здоровье и проблемы адаптации. Ставрополь: Изд-во СГУ, 2000. 203 с.
2. Агаджанян Н.А., Баевский Р.М., Береснева А.П. Theory of health and problems of adaptation. Stavropol'. Izd-vo SGU, 2000. 203 p.
3. Зубаиров Д.М. Молекулярные основы свертывания крови и тромбообразования. Казань: Фэн, 2000. 367 с.
4. Зубаиров Д.М. Molecular basis of blood coagulation and thrombosis. Kazan: Fen, 2000. 367 p.
5. Шахматов И.И. Влияние различной продолжительности однократной физической нагрузки и иммобилизации на реакции системы гемостаза // Фундам. исслед. 2010. (3). 144–150.
6. Shakhmatov I.I. Single physical exercises and immobilization of varying duration impact to haemostatic system response. // Fundamental issled. 2010. (3). 144 – 150.
7. Burns P., Wilmink T., Fegan C. et al. Exercise in claudicants is accompanied by excessive thrombin generation // Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg. 2003. 26. (2). 150–155.
8. Gardner A.W., Killewich L.A. Association between physical activity and endogenous fibrinolysis in peripheral arterial disease: a cross-sectional study // Angiology. 2002. 53. (4). 367–374.
9. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. М.: Ньюдиамед, 2008. 292 с.
10. Barkagan Z.S., Momot A.P. Diagnosis and controlled therapy of hemostatic disorders. M.: N'yudia-med, 2008. 292 p.
11. Selye H. Stress in health and disease. Boston; London: Butterworths, 1976. 138. (3479). 32.
12. Долгов В.В., Свиринов П.В. Лабораторная диагностика нарушений гемостаза. М.; Тверь: Триада, 2005. 227 с.
13. Dolgov V.V., Svirin P.V. Laboratory diagnostics of disorders of hemostasis. M.; Tver': Triada, 2005. 227 p.
14. Система гемостаза / Ред. Петрищев Н.Н. СПб., 2003. 175 с.
15. The system of haemostasis / Ed. Petrishcev N.N. SPb., 2003. 175 p.

THE INFLUENCE OF A SINGLE IMMOBILIZATION OF VARYING INTENSITY ON HEMOSTASIS SYSTEM RESPONSE

Igor Il'ich SHAKHMATOV^{1,2}

¹Altai State Medical University,
656038, Barnaul, Lenin av., 40

²Altai Affiliation of the Institute of Physiology, SB RAMS,
656031, Barnaul, Papanintsev str., 126

In experiments with 126 Wistar line rats it has been established that a single 3-hour immobilization of varying intensity (moderate immobilization in a box, "water immersion" in a box, immobilization in supine position with extremities fixation) is followed by the growth of adverse shifts of hemostatic system with the increase of exposure intensity or the appearance of additional stressor. At the same time the clinical picture of thrombinemia with developing prethrombosis state replaces the combined activation of coagulation and fibrinolytic systems with increased anticoagulant properties of blood plasma.

Key words: hemostasis, hypodynamia, immobilization, stress, adaptation, rats.

Shakhmatov I.I. – candidate of medical sciences, assistant professor of the chair for normal physiology, senior researcher, e-mail: iish59@yandex.ru