

*Л.И.Трухачева, М.Н.Бородовицына,
А.Д.Брездынюк, Н.С.Преображенская*
**СИСТЕМА РЕГУЛЯЦИИ АГРЕГАТНОГО СОСТОЯНИЯ
КРОВИ КРЫС ПРИ ДЕЙСТВИИ ЭЛЕКТРОАКТИВИРОВАННЫХ
ВОДНЫХ РАСТВОРОВ**

Кафедра фармакологии ВГМА им.Н.Н.Бурденко

Резюме. В экспериментах на белых крысах исследовано состояние системы РАСК при введении электроактивированных растворов. Показано, что анолит на 7-е сутки введения вызывает некоторое увеличение коагуляционных свойств крови, но усиливает процессы фибринолиза. Католит на 14-е и 30-е сутки незначительно активизирует процессы коагуляции.

Ключевые слова: электроактивированные водные растворы, белые крысы, агрегатное состояние крови.

Актуальность. Существует много убедительных данных о том, что различные заболевания у человека сопровождаются нарушением функционирования систем свертывания и фибринолиза. При этом наиболее часто в клинике имеют место нарушения именно на конечном этапе фибрино- и тромбиногенеза. Примерами могут служить ДВС-синдром, ишемическая болезнь сердца, инфаркт миокарда, инсульт головного мозга, тромбоз глубоких вен, тромбоэмболия легочных артерий, различные формы гемофилии. Эти виды патологии очень часты и доминируют среди причин скоростной гибели людей и их ранней инвалидности. С ними неразрывно связаны не только наиболее распространенные сердечно-сосудистые заболевания, но и катастрофические исходы общехирургических, ортопедических и онкологических вмешательств, течение диабета. Немаловажную роль играют нарушения гемостаза и в акушерской патологии, поскольку многие виды фетоплацентарной недостаточности и внутриутробной гибели плода обусловлены микротромбообразованием и облитерацией сосудов плаценты и ее ложа.

Наибольшее значение система гемостаза имеет для поддержания нормального кровотока, предупреждения и купирования кровотечений. Поэтому от совершенства функционирования указанной системы в значительной степени зависят эффективность кровоснабжения тканей, предупреждение и купирование геморрагий, тромбозов, ишемий и инфарктов органов.

Гемостаз осуществляется тремя взаимодействующими между собой функционально-структурными компонентами:

- а) стенками кровеносных сосудов;
- б) плазменными ферментными (протеолитическими) системами – свертывающей, плазминовой (фибринолитической), калликреин-кининовой и комплимента.

Первыми на повреждение реагируют кровеносные сосуды и клетки крови (тромбоциты и, отчасти, эритроциты) При гибели эндотелиальных клеток обнажается субэндотелий, содержащий большое количество коллагена, в контакте с которым

происходит активация, адгезия и распластывание тромбоцитов, а также активация системы свертывания крови.

Тромбоцит окружен двухслойной фосфолипидной мембраной, в которую встроены рецепторные гликопротеиды (ГП), взаимодействующие со стимуляторами адгезии и агрегации клеток. Из мембранных ГП наиболее важны ГП I_b, взаимодействующий с фактором Виллебранда и коллагеном, и ГП II_b/III_a, связывающиеся с АДФ (аденозиндифосфатом), адреналином и агонистами агрегации. Адгезивно-агрегационная функция тромбоцитов зависит от транспорта ионов кальция в эти клетки, а также от образования из мембранных фосфолипидов арахидоновой кислоты и циклических производных простагландинов. В тромбоцитах образуется стимулятор агрегации и ангиоспазма – тромбоксан A₂, а в эндотелиальных клетках – антиагрегант и вазодилататор – простаглицлин (PGI₂).

Свертывание крови – многоступенчатый (каскадный) ферментный процесс, в котором участвуют белки- протеазы, неферментные белковые акцелераторы процесса и конечный субстратный белок – фибриноген.

Важной особенностью гемокоагуляционного каскада является то, что активация и взаимодействие факторов свертывания крови почти на всех этапах процесса происходят на свободных плазмменных фосфолипидных мембранах.

Как и другие плазмменные протеолитические системы, свертывание крови может функционировать по двум механизмам:

а) внутреннему, в котором наблюдается последовательная активация факторов XII, XI, IX+VIII, X+V и II;

б) внешнему (быстрому), который запускается поступлением извне тканевого фактора (фактор III или TF), в состав которого входят анопотеин III и фосфолипид. TF + фактор VII_a образуют активный комплекс, под влиянием которого активируются в присутствии ионов кальция и фосфолипидных мембран X+V и II. Активированный фактор X не только переводит протромбин (фактор II) в тромбин (фактор II_a), но ретроградно активирует комплекс TF + фактор VII_a.

Оба пути замыкаются на факторе X, вслед за чем они смыкаются и вплоть до образования фибрина сливаются в единый поток.

Конечная фаза свертывания крови характеризуется трансформацией растворенного в плазме фибриногена в волокна фибрина, которые образуют основной каркас сгустка крови. На первом этапе отщепление тромбином от молекулы фибриногена двух фибринопептидов А и двух фибринопептидов В, в результате чего образуются фибрин-мономеры. На втором этапе процесс полимеризации фибрин-мономеров вначале в димеры, затем в тетрамеры и более крупные олигомеры. На третьем этапе образуется сгусток фибрина и стабилизируется фактором XIII_a.

В системе свертывания крови действуют силы не только самоускорения, но и последующего самоторможения, в силу чего факторы свертывания крови и их метаболиты приобретают антикоагулянтные свойства.

Ферментная система, вызывающая прогрессирующее асимметричное расщепление фибриногена и фибрина обозначается как фибринолитическая или плазминовая система. Главным действующим началом этой системы является протеолитический фермент плазмин, содержащийся в плазме в виде профермента (плазминогена).

Плазминовая система в значительно большей степени адаптирована к лизису фибрина и растворимых фибрин-мономерных комплексов, чем к лизису фибриногена, но при очень сильной активации этой системы, регистрируются как фибринолиз, так и фибриногенолиз. (З.С.Баркаган, А.П.Момот, 2001)

Таким образом, исследование динамики системы гемостаза приобретает важное клиническое значение. При этом учитывается, что при одних видах тромбозов и ишемий органов, как и при лежащих в их основе тромбофилий, преобладает активация тромбоцитарного гемостаза и тромбозов артерий, при других – нарушения коагуляционного гемостаза и венозные тромбозы, при третьих – как коагуляционные, так и тромбоцитарные нарушения.

В силу этих обстоятельств дальнейшие поиски новых, более эффективных способов медикаментозной профилактики и терапии тромбозов приобретают в наши дни все большее и большее значение. При этом особенно актуальной является проблема создания и испытания таких стабильно действующих средств, которые могут длительно применяться во внебольничной, в том числе и в домашней обстановке. Возрастающая актуальность этой проблемы связана с тем, что список заболеваний, требующих длительного (многочесного или даже пожизненного) использования антитромботических средств, пополнился за счет, например, ряда форм коронарной болезни сердца, мерцательной аритмии склеротического генеза и др.

Актуальна эта проблема при операциях пластики клапанов сердца.

Все медикаментозные средства антитромботического действия условно можно разделить на следующие основные группы:

1. Ингибиторы функции тромбоцитов – ацетилсалициловая кислота и клопидогрель (плавикс).

2. Препараты антикоагулянтного действия, которые подразделяются на следующие группы:

а) Ингибиторы синтеза в печени витамина К – зависимых факторов свертывания (факторов VII, X, IX и II), к которым принадлежат кумарины (синкумар, пелентал, варфарин и др.) и фенилиндандионы (фенилин). Это препараты непрямого действия (АНД);

б) Антикоагулянты гепаринового ряда к которым принадлежит получаемый из слизистой оболочки кишечника свиней нефракционированный гепарин (НГ) и его фракции – низкомолекулярные гепарины (НМГ);

в) Синтетические пентасахариды (фондапаринукс илиарикстраи др), ингибирующие целенаправленно активированный X фактор свертывания;

г) Ингибиторы тромбина прямого действия, к которым принадлежит гирудин и его производные.

3. Средства, ослабляющие метаболические и воспалительные повреждения сосудистого эндотелия. К этой разнородной группе относятся витаминные препараты, устраняющие гипергомоцистеинемию, нормализующие липидный обмен (статины и фибраты); средства повышающие синтез в эндотелии NO (R – аргинин и др.) и ингибирующие образование эндотелина-1; препараты ослабляющие действие противовоспалительных агентов (острофазовых белков, интерлейкинов и др.) на эндотелий.

4. Группа антитромботических средств представлена тромболитическими препаратами:

а) Прямого действия – фибринолизин (плазмин);

б) Непрямого действия (активаторы плазминогена: актилизе, стрептокиназа, стрептодеказа, урокиназа).

Лекарственные средства, способствующие свертыванию крови, а значит остановке кровотечений – гемостатики делятся на следующие основные группы:

1. Коагулянты (средства, стимулирующие образование фибриновых тромбов):

а) Прямого действия (тромбин, фибриноген);

б) Непрямого действия (викасол, фитоменадион).

2. Ингибиторы фибринолиза:

а) Синтетического происхождения (аминокапроновая, транексаливая кислоты, амбен);

б) Животного происхождения (контрикал, апротинин, пантрипин, гордокс).

3. Стимуляторы агрегации тромбоцитов (серотонина адипинат, хлористый кальций).

4. Средства, понижающие проницаемость сосудов:

а) Синтетические (адроксон, этамзилат);

б) Препараты витаминов (аскорбиновая кислота, рутин, кверцетин);

в) Препараты растительного происхождения (крапивы, тысячелистника, водяного перца и др.). (З.С. Баркаган, 2005, 2003).

Несмотря на то, что в медицинской практике имеется достаточный арсенал представленных выше лекарственных препаратов, влияющих на все фазы свертывания крови, проблема лечения многих заболеваний, сопровождающихся нарушением гемостаза, остается достаточно актуальной.

Широкое применение электроактивированных растворов воды (ЭАР) практически во всех областях медицины и, особенно, в стоматологии,

отоларингологии, хирургии, гастроэнтерологии послужило поводом для научного исследования этих растворов с фармакологической точки зрения.

Вода, получаемая у отрицательно заряженного катода, называется католит и имеет рН более 9, т.е. приобретает щелочную реакцию и ее окислительно-восстановительный потенциал (ОВП) резко снижается. Католит - мутная, серая жидкость, без запаха, со щелочным вкусом. Это отличный тонизатор, стимулятор.

Вода, получаемая у положительно заряженного анода, называется анолит и имеет рН менее 5, т.е. кислотность увеличивается, ОВП возрастает. Анолит - бесцветная, прозрачная, кисловатая жидкость с характерным запахом хлора. Он отличный бактерицид, дезинфектор. Она замедляет биопроцессы в организме человека и животных, снижает кровяное давление, снижает боли в суставах рук и ног, т.к. обладает растворяющим действием. Анолит используется для дезинфицирования белья, бинтов, одежды, обуви, различной тары. (Прилуцкий В.И., Бахир В.М. 1995).

В доступной нам литературе мы не встретили данных о влиянии электроактивированных растворов воды (ЭАР) на систему регуляции агрегатного состояния крови.

Наиболее распространенным способом применения лекарственных средств является прием их внутрь. Многие заболевания сопровождаются нарушениями кровообращения, поэтому целью настоящего исследования является изучение показателей функционирования системы регуляции агрегатного состояния крови через 7, 14 и 30 дней после введения ЭАР внутрь белым крысам.

Материал и методы исследования. Эксперименты проводились в осенне-зимнее время на нелинейных белых крысах- самцах, массой 180-250 граммов. Крысы находились в стандартных условиях вивария. Исследовались электрокоагулографические показатели 50-ти крыс, распределенных на 3 группы:

1. Контрольная группа – В - вода (n= 10);
2. К – католит (n=20: 7-ой и 14-й день – 10 крыс, 30 день – 10);
3. А – анолит (n=20: 7-ой и 14-й день – 10 крыс, 30 день – 10).

Запись электрокоагулограмм проводилась на самопишущем коагулографе Н334. Исследовались 17 электрокоагулографических показателей из них 12 показателей расшифровываются, а 5 рассчитываются по формулам. Полученные данные обрабатывались статистически с установлением достоверности изменений по непараметрическому критерию Т – Вилкоксона ($p \leq 0,05$) (Е.В. Гублер А.А., Генкин 1973г.).

Полученные результаты и их обсуждение. При применении анолита через 7 дней анализ электрокоагулограмм показал, что достоверно увеличилось время начала свертывания крови (Т1) на 12% ($p \leq 0,05$), уменьшилось время конца свертывания крови (Т2) на 27% ($p \leq 0,05$), уменьшилась максимальная амплитуда электрокоагулограмм (Am) на 19% ($p \leq 0,05$), уменьшилась скорость ретракции и фибринолиза на 5-ой минуте

(V1) на 67% ($p \leq 0,05$), амплитуда фибринолиза (A1) на 10-ой минуте уменьшилось на 52% ($p \leq 0,05$).

Кроме того, отмечалось достоверное увеличение коагуляционной активности (КА) на 37% ($p \leq 0,05$), снижение степени фибринолиза (СФ) и фибринолитического потенциала (ФП) соответственно на 45% и 48% ($p \leq 0,05$).

Анализ коагулограмм при применении анолита через 14 дней показал достоверное увеличение длительности кровотечения (T1) на 30% ($p \leq 0,05$), уменьшение максимальной амплитуды (Am) на 15% ($p \leq 0,05$) и увеличение времени существования сгустка (T4) на 26% ($p \leq 0,05$).

Через 30 дней отмечалось достоверное увеличение скорости свертывания крови на 2-ой минуте (Vc2) на 63% ($p \leq 0,05$) и снижение скорости ретракции и фибринолиза сгустка (V1) за первые 5 минут на 44% ($p \leq 0,05$). Остальные показатели достоверно не менялись (таблица 1).

Таблица 1.

Показатели электрокоагулограммы при введении животным анолита

Показатели	Контроль	1 неделя	2 недели	1 месяц
T1	78,00±2,7	87,00 ± 4,16*	101,50 ± 4,83*	77,00 ± 3,59
T2	191,50 ± 14,39	139,50 ± 12,48*	187,00 ± 6,33	168,50 ± 8,70
T	108,40 ± 6,61	93,00 ± 7,60	101,00 ± 9,48	104,00 ± 6,53
Vc1	1,17 ± 0,24	1,08 ± 0,16	1,16 ± 0,06	1,35 ± 0,26
Vc2	1,01 ± 0,25	0,58 ± 0,24	0,35 ± 0,19	2,35 ± 0,16
Vc3	0,29 ± 0,2	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
T3	608,00 ± 69,4	696,00 ± 27,26	733,50 ± 38,93	691,00± 46,78
V1	0,18 ± 0,03	0,06 ± 0,01*	0,13 ± 0,02	0,10 ± 0,01*
Am	3,17 ± 0,06	2,57 ± 0,09*	2,70 ± 0,06*	3,35 ± 0,07
Ao	0,08 ± 0,01	0,10 ± 0*	0,11 ± 0,01	0,11 ± 0,01*
A1	1,22 ± 0,17	0,59 ± 0,07*	0,99 ± 0,09	1,20 ± 0,10
T4	449,50 ± 56,95	516,00 ± 24,00	566,00 ± 43,62*	525,00± 43,42
СК%	94,00 ± 1,28	95,20 ± 0,59	95,70 ± 0,40	95,90 ± 0,50
КА	0,52 ± 0,05	0,71 ± 0,05*	0,51 ± 0,02	0,58 ± 0,03
СФ%	38,60 ± 4,86	21,30 ± 3,58*	34,90 ± 3,96	33,30 ± 3,30
ФП	2,08 ± 0,32	1,09 ± 0,17*	1,79 ± 0,19	1,76 ± 0,19
ГП	0,07 ± 0,01	0,17 ± 0,04*	0,11 ± 0,04	0,06 ± 0,01

При анализе электрокоагулограмм через 7 дней применения католита практически достоверных изменений не отмечалось; через 14 дней достоверно уменьшилось время конца свертывания крови (T2) на 20% ($p \leq 0,05$) и уменьшение максимальной амплитуды (Am) на 16% ($p \leq 0,05$), а через 30 дней достоверно уменьшилось время начала свертывания крови (T1) на 13% ($p \leq 0,05$), уменьшилось время конца свертывания крови (T2) на 18% ($p \leq 0,05$) и на первой минуте увеличилась скорость свертывания крови (Vc1) на 62% ($p \leq 0,05$) (таблица 2.).

Таблица 2

Показатели электрокоагулограммы при введении животным католита

Показатели	Контроль	1 неделя	2 недели	1 месяц
T1	78,00 ± 2,7	81,00 ± 2,76	85,00 ± 4,94	67,50 ± 2,38*
T2	191,50 ± 14,39	163,00 ± 11,55	154,00 ± 7,52*	157,50 ± 7,87*
T	108,40 ± 6,61	97,00 ± 12,82	96,00 ± 6,36	104,00 ± 6,00
VC1	1,17 ± 0,24	1,39 ± 0,21	1,33 ± 0,21	1,89 ± 0,22*
Vc2	1,01 ± 0,25	1,01 ± 0,26*	0,43 ± 0,22	1,03 ± 0,19
Vc3	0,29 ± 0,2	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
T3	608,00 ± 69,4	493,00 ± 39,67	497,00 ± 23,72	566,00 ± 61,70
V1	0,18 ± 0,03	0,15 ± 0,02	0,16 ± 0,01	0,21 ± 0,05
Am	3,17 ± 0,06	2,92 ± 0,12	2,68 ± 0,07*	3,41 ± 0,08
Ao	0,08 ± 0,01	0,16 ± 0,02*	0,13 ± 0,01*	0,10 ± 0*
A1	1,22 ± 0,17	1,00 ± 0,09	1,04 ± 0,08	1,17 ± 0,13
T4	449,50 ± 56,95	360,00 ± 28,16	378,00 ± 33,52	422,00 ± 66,04
СК%	94,00 ± 1,28	93,70 ± 0,84	95,30 ± 0,62	96,00 ± 0,60
КА	0,52 ± 0,05	0,59 ± 0,04	0,61 ± 0,03	0,60 ± 0,03
СФ%	38,60 ± 4,86	31,60 ± 4,24	35,10 ± 3,27	33,20 ± 4,68
ФП	2,08 ± 0,32	1,93 ± 0,23	2,18 ± 0,23	2,02 ± 0,26
ГП	0,07 ± 0,01	0,06 ± 0,02	0,06 ± 0,01	0,08 ± 0,02

Выводы:

1. В результате эксперимента установлено, что как католит, так и анолит оказывают влияние на систему регуляции агрегатного состояния крови.
2. При применении белыми крысами католита через 14 и 30 дней по некоторым показателям отмечается тенденция к активации коагулирующих свойств крови.

3. Введение анолита, особенно через 7 дней вызвало повышение коагуляционной активности крови и снижение фибринолитической активности животных.

Литература

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза, «Ньюдиамед» М.,2001, 285 с.

2. Баркаган З.С. Пути совершенствования и пролонгации антитромботической профилактики и терапии (систематический обзор и итоги 50-летнего личного опыта автора). Ж. Гематология и трансфузиология, 2005, т.50, №4, с. 3-10.

3. Баркаган З.С., Момот А.П., Тараненко И.А., Шойхет Я.Н. Основы пролонгированной профилактики и терапии тромбозов антикоагулянтами непрямого действия (показания, подбор доз, лабораторный мониторинг). Методические указания. «Ньюдиамед» М.,2003, 41 с.

4. Прилуцкий В.И., Бахир В.М. Электрохимически активированная вода: аномальные свойства, механизм биологического действия. М., 1995, 228 с.

Abstract

L. I. Trukhacheva, M. N. Bordovitsyna, A. D. Bresdinuk, N. S. Preobrajenskaia
THE SYSTEM REGULATING THE AGGREGATE STATE
THE BLOOD OF RATS UNDER THE ACTION OF ELECTROACTIVATED
WATER SOLUTIONS
Voronezh State Medical Academy

In experiments on white rats studied the state of the system RUSK with the introduction of electroactivated solutions. It is shown that the anolyte on the 7th day of the introduction causes a slight increase in coagulation properties of the blood, but enhances the processes of fibrinolysis. Catholyte 14-th and 30-th day slightly activates the coagulation.
Keywords: electroactivated aqueous solutions, a white rat, the aggregate state of blood