УДК 612.22:615.23
DOI 10.31684/25418475_2021_2_99

ВЛИЯНИЕ ГИПОКСИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ И КУРСОВОГО ПРИЕМА МЕКСИДОЛА НА РЕАКЦИЮ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА ПРИ ОДНОКРАТНЫХ ФИЗИЧЕСКИХ НАГРУЗКАХ РАЗНОЙ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ

Алтайский государственный медицинский университет, г. Барнаул

Москаленко С.В., Шахматов И.И., Вдовин В.М., Блажко А.А.

Цель работы – изучить влияние предварительной гипоксической гипоксии на фоне курсового приема мексидола на реакцию системы гемостаза при однократных физических нагрузках разной продолжительности.
Материалы и методы. В работе использовались крысы-самцы (60 особей) линии Вистар. Крысы подвергались 30-кратному ежедневному воздействию гипоксической гипоксии на фоне ежедневного введения животным мексидола (n=10). По завершении 30-дневного тренировочного цикла животные на 31-й день подвергались тестовому воздействию в виде однократной физической нагрузки длительностью 4 или 8 часов в виде навязанной ходьбы в тредбане со скоростью 6–8 м/мин.
Результаты. 30-дневное воздействие гипоксической гипоксии на фоне введения мексидола, предшествующее однократной 4-часовой физической нагрузке, способствовало восстановлению большинства параметров, характеризующих систему гемостаза. 30-дневное воздействие гипоксической гипоксии на фоне введения мексидола, по прошествии которого животные подвергались однократной 8-часовой физической нагрузке, обеспечивало снижение активности тромбоцитарного звена гемостаза, уровня РФМК и повышение антикоагулянтной активности по сравнению с группой контрольных животных.
Выводы. Предварительные тренировки гипоксической гипоксией на фоне введения мексидола, предшествующие однократной 4-часовой физической нагрузке, способствуют исчезновению риска развития тромботической готовности, зафиксированного при аналогичной физической нагрузке без предшествующей тренировки. При этом аналогичный режим тренировок, предшествующий однократной 8-часовой физической нагрузке, полностью риск тромбообразования не устранял.
Ключевые слова: *гемостаз, гипоксия, мексидол, физическая нагрузка.*

INFLUENCE OF HYPOXIC HYPOXIA AND THE COURSE INTAKE OF MEXIDOL ON THE HEMOSTASIS SYSTEM RESPONSE AT SINGLE PHYSICAL LOADS OF VARIOUS DURATION

Altai State Medical University, Barnaul

S.V. Moskalenko, I.I. Shakhmatov, V.M. Vdovin, A.A. Blazhko

The work objective was to study the influence of preliminary hypoxic hypoxia against the background of the course intake of mexidol on the hemostasis system response at single physical loads of various duration.
Materials and methods. Male rats (60 individuals) of the Wistar line were used in the work. The animals were subjected to 30-fold daily exposure to hypoxic hypoxia against the background of daily administration of mexidol to the animals (n=10). At the end of the 30-day training cycle, on the 31st day, the animals were subjected to a test exposure in the form of a single physical load lasting 4 or 8 hours in the form of forced walking in a treadmill at a speed of 6–8 m/min.
Results. A 30-day exposure to hypoxic hypoxia against the background of the introduction of Mexidol, preceding a single 4-hour physical activity, contributed to the restoration of most of the parameters characterizing the hemostatic system. A 30-day exposure to hypoxic hypoxia against the background of the introduction of Mexidol, after which the animals were subjected to a single 8-hour physical exercise, provided a decrease in the activity of the platelet hemostasis link, the level of SFMC and an increase in anticoagulant activity in comparison with the group of control animals.
Conclusions. Preliminary training with hypoxic hypoxia against the background of the introduction of mexidol, preceding a single 4-hour physical load, contributes to the disappearance of the risk of thrombotic readiness, recorded during a similar physical load without prior training. At the same time, a similar training regimen preceding a single 8-hour physical load did not completely eliminate the risk of thromboformation.
Keywords: *hemostasis, hypoxia, mexidol, physical load.*

Одна из научных проблем, затрагиваемых исследователями, изучавшими адаптационные изменения в организме под воздействием различных факторов и взаимовлияние этих изменений на различные функции организма, – проблема «перекрестной адаптации» [1].

Выполнение физических нагрузок сопровождается перестройкой системы гемостаза в организме [2].

Так, в частности, установлено, что однократная 4-часовая нагрузка способствовала повышению нагрузки на систему крови, в том числе на систему гемостаза. Стоит отметить активацию на протяжении всего каскада свертывания, кроме того, было отмечено угнетение фибринолитической активности. Важно заметить, что при данном воздействии отмечалось повышение уровня растворимых комплексов фибрин-мономера (РКФМ). По истечении 8-часового воздействия были зафиксированы признаки состояния тромботической готовности [2]. Таким образом, однократная физическая нагрузка по мере увеличения длительности вызывает последовательно нарастающие признаки развития дистресса со стороны системы гемостаза.

В литературе имеются данные о том, что гипоксия может быть использована в качестве фактора, обеспечивающего процесс адаптации в организме [3].

Для медикаментозной коррекции состояний, сопровождающихся гипоксическим компонентом, в клинике используется группа фармакологических препаратов антигипоксантов, в том числе препарат мексидол [4].

Исходя из вышеизложенного, целью работы явилось изучение влияния гипоксической гипоксии (ГГ) в различных режимах на фоне курсового приема мексидола на реакцию системы гемостаза при однократных физических нагрузках разной продолжительности.

Материалы и методы

Эксперименты выполнены на 60 крысах-самцах линии Вистар (масса 239,0±36,8 г). Все животные были разделены на 5 групп: интактная (n=20), а также 2 контрольные (n=10) и 2 опытные (n=10) группы.

Интактная группа не подвергалась предварительным воздействиям. Опытные и контрольные группы на протяжении 30 дней ежедневно подвергались: 1-я и 2-я опытные группы – воздействию ГГ в барокамере (7000 м – 1 час) на фоне введения мексидола (50 мг/кг); 1-я и 2-я контрольные группы в таком же режиме помещались в барокамеру в условиях нормоксии и нормобарии и подвергались введению 0,9% раствора NaCl в том же объеме, что и мексидол.

На 31-день после завершения тренировочных циклов все опытные и контрольные группы животных подвергались мышечной нагрузке в виде навязанной ходьбы в тредбане со скоростью 6–8 м/мин; 1-я и 3-я – в течение 4 часов, 2-я и 4-я – 8 часов.

Моделирование ГГ осуществлялось в барокамере на высоту 7000 м на протяжении 1 часа, что соответствовало ГГ сильной интенсивности [5]. Крысы контрольных групп находились в течение того же времени в барокамере, но в условиях проточной воздухоподачи и обычного атмосферного давления.

Гипоксическую гипоксию проводили на фоне ежедневного введения фармакологического препарата – антигипоксанта «Мексидол» (50 мг/кг) («Фармасофт», Москва). Препарат вводили внутрибрюшинно в течение 30 дней [6].

Эксперименты выполняли в соответствии с Европейской конвенцией по охране позвоночных животных и Директивами – 2010/63/EU. Обезболивание и лишение жизнеспособности животных проводили в соответствии с известными правилами [7].

Кровь для исследования у животных забиралась сразу после окончания однократного воздействия 4- и 8-часовой физической нагрузки после завершения предварительных тренировочных циклов.

Животные наркотизировались путем внутрибрюшинного введения раствора золетила в дозе 5 мг/100 г.

Анализ функционирования системы гемостаза включал в себя ряд методов, позволяющих оценить тромбоцитарную и коагуляционную составляющую этой системы, а также антикоагулянтную и фибринолитическую активность стабилизированной цитратом натрия крови. Для соответствующих измерений использовались тест-системы производства фирмы «Технология–Стандарт» (Россия), полуавтоматические коагулометры «Trombostat-2» (Германия) и «Минилаб» (Россия). Определение числа тромбоцитов осуществлялось с помощью счетчика клеток крови «Drew-3» (США). Определение агрегационной активности тромбоцитов было выполнено с применением лазерного агрегометра «Биола» (Россия). Активность антитромбина III устанавливалась амидолитически при помощи спектрофотометра «СФ-46» (Россия).

Все цифровые данные, полученные в ходе исследования, прошли статистическую обработку с применением программ Jmp Statistical Discovery v 6.1.2 и Biostat 5.03. Полученные результаты приведены в виде Me [Q_{25}; Q_{75}], где Me – медиана в выборочной совокупности; [Q_{25}; Q_{75}] – 25-й и 75-й перцентиль.

Достоверность различий устанавливалась с помощью непараметрического U-критерия Манна-Уитни (достоверность при статистической значимости $p<0,05$).

Результаты и обсуждение

Результаты исследования параметров системы гемостаза, зарегистрированных после однократной физической нагрузки различной продолжительности по завершении тренировочных режимов ГГ на фоне мексидола, приведен в таблице 1.

Таблица 1

Показатели системы гемостаза плазмы крови у интактных животных и при однократной 4- и 8-часовой физической нагрузке после тренировочных режимов гипоксической гипоксии и мексидола (Me [Q_{25}; Q_{75}])

Показатель	Интактная группа (n=20)	Ежедневное предварительное 30-кратное тренировочное воздействие гипоксической гипоксии (1 ч – 7000 м) + мексидол (50 мг/кг)	
		На 31-й день – физическая нагрузка (V=6–8 м/мин)	
		4-часовая (n=10) 1 группа	8-часовая (n=10) 2 группа
Количество тромбоцитов в крови, ×10⁹/л	491,0 [468,0÷498,0]	468,0 [461,2÷489,5]	459,0 [452,3÷489,3]
Агрегация тромбоцитов с АДФ, макс. значение	25,4 [23,6÷27,7]	15,2## [18,2÷20,7]	26,8*** [23,5÷28,4] (-11%)
АПТВ, с	14,9 [14,2÷15,6]	15,7* [15,2÷16,1] (+8%)	11,6# [10,8÷13,1]
Протромбиновый тест, с	22,4 [21,7÷23,3]	23,7** [21,4÷25,6] (+13%)	22,4 [21,6÷23,6]
ВПФМ, с	63,3 [58,6÷66,0]	64,8 [59,7÷69,8]	50,2### [48,3÷54,0]
Содержание фибриногена, г/л	2,9 [2,7÷2,9]	3,1 [3,0÷3,4]	1,9### [1,7÷2,4]
РКФМ, мг/100 мл	3,0 [3,0÷3,0]	3,0*** [3,0÷3,5] (-14%)	10,1**# [8,5÷11,5] (-25%)
Активность антитромбина III, %	95,0 [92,6÷98,8]	96,7** [89,7÷102,2] (+15 %)	84,4***### [80,2÷91,6] (+9%)
АРП, %	83,2 [79,6÷86,4]	89,1 [84,3÷98,4]	72,6### [68,5÷76,9]
Спонтанный лизис эуглобулиновой фракции плазмы, мин	600,0 [570,0÷630,0]	630,0 [607,5÷690,0]	810,0### [750,0÷900,0]

Примечания: обозначены статистически значимые отличия от соответствующих показателей группы контроля: * – при p<0,05; ** – при p<0,01; *** – при p<0,001; отличия от соответствующих показателей интактной группы: # – при p<0,05; ## – при p<0,01; ### – при p<0,001. В скобках приведены статистически значимые изменения величин показателей относительно величин в контроле (в процентах). АДФ – аденозиндифосфат, АПТВ – активированное парциальное тромбопластиновое время, ВПФМ – время полимеризации фибрин-мономеров, РКФМ – растворимые комплексы фибрин-мономера, АРП – антитромбиновый резерв плазмы.

Установлено, что однократное 4-часовое воздействие физической нагрузки после тренировочного режима ГГ и мексидола, по сравнению с группой контрольных животных, сопровождалось гипокоагуляцией по обоим путям свертывания крови. Кроме того, наличие предварительного тренировочного цикла приводило к снижению РФМК и повышению уровня АТ III в ответ на однократную физическую нагрузку.

По сравнению с показателями интактных животных, отмечалось лишь угнетение агрегации тромбоцитов на 40% (p<0,01).

8-часовое однократное воздействие физической нагрузки после тренировочного режима ГГ и мексидола по сравнению с контрольной группой сопровождалось снижением агрегационной функции тромбоцитов и концентрации РФМК. Важно отметить рост уровня АТ III без изменения гепарин-кофакторной активности плазмы крови. Со стороны плазменного звена системы гемостаза и фибринолитической системы изменений зарегистрировано не было.

В отличие от интактных животных опытных крыс состояние коагуляционного звена гемостаза характеризовалось гиперкоагуляцией по внутреннему пути и на конечном этапе свертывания (укорочением активированного тромбопластинового времени (АПТВ) на 22% (p<0,05) и укорочением времени полимеризации фибрин-мономерных комплексов (ВПФМ) на 21%

(p<0,001)). В плазме крови было зафиксировано снижение концентрации фибриногена на 35% (p<0,001) и рост уровня РФМК на 62% (p<0,01). Кроме того, было отмечено снижение концентрации АТ III на 12% (p<0,001) и антитромбинового резерва плазмы (АРП) на 13% (p<0,001), а также угнетение фибринолиза на 62% (p<0,01).

Таким образом, 4-часовая физическая нагрузка по прошествии ежедневного 30-кратного тренировочного цикла, моделирующего ГГ на фоне введения антигипоксанта, в системе гемостаза приводила к формированию гипокоагуляционных сдвигов, а также к исчезновению большинства маркеров тромбинемии по сравнению с интактной группой. Данная гемостазиологическая картина является показателем завершенной перекрестной адаптации к гипоксическому воздействию в ходе однократной физической нагрузки.

8-часовая физическая нагрузка после завершения 30-дневного тренировочного цикла ГГ сильной интенсивности на фоне мексидола по сравнению с интактной группой приводила к восстановлению активности тромбоцитарного звена гемостаза. Со стороны коагуляционного звена нормализация параметров до уровня интактных животных не произошла. Кроме того, концентрация РФМК оставалась еще чрезмерно высокой по сравнению с данными интактной группы. Однако стоит отметить, что отмечается повышение антикоагулянтной активности при низкой фибринолитической активности. Таким образом, полной долговременной адаптации к столь сильному стрессору зафиксировано не было.

В адаптационных эффектах, зарегистрированных в описанных выше сериях экспериментов, определенный вклад обусловлен и непосредственным фармакологическим действием мексидола. Показано, что мексидол нормализует все компоненты, участвующие в системе гемостаза [8].

А.Г. Рачков и соавт. (1990) рассматривают гипокоагуляцию в условиях гипоксии как своеобразную адаптацию, приводящую к улучшению микроциркуляции на фоне гипоксической полиглобулии [9]. Однако ранее было установлено, что на большой высоте регистрируется начальное гиперкоагуляционное состояние, которое сохраняется в течение нескольких недель, но затем медленно регрессирует со временем, по мере развития акклиматизации. Показано также, что это связано с временным увеличением уровня факторов свертывания крови и дисфункцией тромбоцитов [10].

Существует позиция, согласно которой в условиях гипоксии происходит повышение выработки уровня гепарина в плазме крови [11].

Снижение фибринолитической активности по данным Zhang Zheng Gang et al. (1999) может являться показателем угнетением этой системы в условиях гипоксического фактора, что может быть обусловлено увеличением в кровотоке ингибитора фибринолиза, активируемого тромбином (TAFI). Кроме того, можно принять во внимание, что гипоксия стимулирует синтез ингибитора активатора плазминогена 1 типа (PAI-1), способного замедлять лизис фибриновых сгустков [12].

Заключение

Предварительные тренировки гипоксической гипоксией на фоне введения мексидола, предшествующие однократной 4-часовой физической нагрузке, способствуют минимизации риска развития тромботической готовности, зафиксированной при аналогичной физической нагрузке без предшествующей тренировки. При этом аналогичный режим тренировок, предшествующий однократной 8-часовой физической нагрузке, способствовал сохранению риска тромбообразования.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы:

1. Gibson O.R., Taylor L., Watt P.W., Maxwell N.S. Cross-Adaptation: Heat and Cold Adaptation to Improve Physiological and Cellular Responses to Hypoxia. *Sports Med*. 2017; (9): 1751-1768.
2. Шахматов И.И., Алексеева О.В. Реакции системы гемостаза у крыс на однократную физическую нагрузку в зависимости от уровня исходной тренированности. *Российский медико-биологический вестник им. академика И.П. Павлова.* 2007; 15(4): 12-18.
3. Шевченко Ю.Л. *Гипоксия. Адаптация, патогенез, клиника.* СПб: издательство «Элби», 2000. 384 с.
4. Александров О.В., Стручков П.В., Виницкая Р.С. и др. Клинико-функциональный эффект курса интервальной нормобарической гипокситерапии у больных хроническим обструктивным бронхитом и бронхиальной астмой. *Терапевтический архив*. 1999; 3: 28–32.
5. Мамадалиева Н.И., Саатов Т.С., Хайбуллина З.Р., Умеров О.И. Влияние фармакоррекции на активность ферментов защиты от активных форм кислорода в сердце при адаптации к гипоксии различной интенсивности и длительности. *Вестник НГПУ*. 2014; 1: 221–229.
6. Хабриев Р.У. *Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ*, 2-е издание. М.: Медицина, 2005. 832 с.
7. *Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes*. OJEU L 276, 2010: 33.

8. Масягин В.А., Сипров А.В., Тютяев Е.В. *Влияние средств с антиоксидантным действием на структурный и функциональный статус гемоглобина при комбинированной антибластомной химиотерапии в эксперименте*. 2015; 5. [Электронный ресурс]: https://www.science-education.ru/ru/article/view?id=22341 (дата обращения 12.03.2019)

9. Рачков А.Г., Рачкова Л.Г., Данияров С.Б. Влияние острой кровопотери на гемостаз у неадаптированных к условиям высокогорья собак. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 1990; 5: 28-30.

10. Hudson JG., Bowen AL, Navia P, Rios-Dalenz J, Pollard AJ, et al. The effect of high altitude on platelet counts, thrombopoietin and erythropoietin levels in young Bolivian Armymen visiting the Andese. *Int J Biometerol*. 1999; (43): 85-90.

11. Меерсон Ф.З., Пшенникова М.Г. *Адаптация к стрессорным ситуациям и физическим нагрузкам*. М.: Медицина, 1988. 256 с.

12. Zhang Zheng Gang, Chopp Michael, Goussev Anton, Lu Dunyue, Morris Daniel, Tsang Wayne et al. Cerebral microvascular obstruction by fibrin is associated with upregulation of PAI–1 acutely after onset of focal embolic ischemia in rats. *J. Neurosci*. 1999; (24): 10898–10907.

References:

1. Gibson O.R., Taylor L., Watt P.W., Maxwell N.S. Cross-adaptation: heat and cold adaptation to improve physiological and cellular responses to hypoxia. *Sports Med*. 2017; (9): 1751-1768.

2. Shakhmatov I.I., Alekseeva O.V. Reactions of the hemostasis system in rats to a single physical load depending on the level of initial fitness. *Russian Medical and Biological Bulletin named after him. academician I.P. Pavlov*. 2007; 15(4): 12-18. (In Russ.).

3. Shevchenko Yu.L. *Hypoxia. Adaptation, pathogenesis, clinic*. St. Petersburg: Elbi Publishing House-St. Petersburg, 2000. 384. (In Russ.).

4. Alexandrov O.V., Struchkov P.V., Vinitskaya R.S., etc. Clinical and functional effect of the course of interval normobaric hypoxytherapy in patients with chronic obstructive bronchitis and bronchial asthma. *Therapeutic archive*. 1999; 3: 28-32. (In Russ.).

5. Mamadalieva N.I., Saatov T.S., Khaibullina Z.R., Umerov O.I. Influence of pharmacorrection on the activity of enzymes protecting against reactive oxygen species in the heart during adaptation to hypoxia of different intensity and duration. *The Novosibirsk State Pedagogical University Bulletin*. 2014; (1): 221-229. (In Russ.).

6. Khabriev R.U. *Guide to the experimental (preclinical) study of new pharmacological substances*. Moscow: OAO Meditsina Publishing House, 2005. 832. (In Russ.).

7. *Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes.* OJEU L 276, 20 October 2010: 33.

8. Mosyagin V.A., Siprov A.V., Tyutyaev E.V. *Influence of drugs with antioxidant effect on the structural and functional status of hemoglobin in combined antiblastoma chemotherapy in an experiment*. 2015; (5). [Electronic resource]. Available at: https://www.science-education.ru/ru/article/view?id=22341 (accessed 12.03.2019). (In Russ.).

9. Rachkov A.G., Rachkova L.G., Daniyarov S.B. Influence of acute blood loss on hemostasis in dogs unadapted to the conditions of high mountains. *Pathological physiology and experimental therapy*.1990; (5): 28-30. (In Russ.).

10. Hudson JG., Bowen AL, Navia P, Rios-Dalenz J, Pollard AJ, et al. The effect of high altitude on platelet counts, thrombopoietin and erythropoietin levels in young Bolivian Armymen visiting the Andese. *Int J Biometerol* 1999; (43): 85-90.

11. Meerson F.Z., Pshennikova M.G. *Adaptation to stressful situations and physical loads.* Moscow: OAO Meditsina Publishing House, 1988. 256. (In Russ.).

12. Zhang Zheng Gang, Chopp Michael, Goussev Anton, Lu Dunyue, Morris Daniel, Tsang Wayne et al. Cerebral microvascular obstruction by fibrin is associated with upregulation of PAI–1 acutely after onset of focal embolic ischemia in rats. *J. Neurosci*. 1999; (24): 10898–10907.

Контактные данные

Автор, ответственный за переписку:
Москаленко Светлана Валерьевна, преподаватель кафедры нормальной физиологии Алтайского государственного медицинского университета, г. Барнаул.
656031, г. Барнаул, ул. Папанинцев, 126.
Тел.: +79059873308.
E-mail: sunrisemsv@gmail.com
https://orcid.org/0000-0002-8944-7380

Информация об авторах

Шахматов Игорь Ильич, д.м.н., профессор, заведующий кафедрой нормальной физиологии Алтайского государственного медицинского университета, г. Барнаул.
656031, г. Барнаул, ул. Папанинцев, 126.
Тел.: +7 (3852) 566928.
E-mail: iish59@yandex.ru
https://orcid.org/0000-0002-0979-8560

Вдовин Вячеслав Михайлович, к.м.н., доцент, заведующий кафедрой патологической физиологии Алтайского государственного медицинского университета, г. Барнаул.
656031, г. Барнаул, ул. Папанинцев, 126.
Тел.: +7 (3852) 241962.
E-mail: erytrab@gmail.com
https://orcid.org/0000-0002-4606-3627

Блажко Александр Александрович, к.м.н., доцент кафедры нормальной физиологии Алтайского государственного медицинского университета, г. Барнаул.
656031, г. Барнаул, ул. Папанинцев, 126.
Тел.: +7 (3852) 566928.
E-mail: blazhko_1990@mail.ru
https://orcid.org/0000-0003-2578-6858

Поступила в редакцию 17.03.2021
Принята к публикации 16.04.2021
Для цитирования: Москаленко С.В., Шахматов И.И., Вдовин В.М., Блажко А.А. Влияние гипоксической гипоксии и курсового приема мексидола на реакцию системы гемостаза при однократных физических нагрузках разной продолжительности. *Бюллетень медицинской науки*. 2021;2(22): 99–104.

Citation: Moskalenko S.V., Shakhmatov I.I., Vdovin V.M., Blazhko A.A. Influence of hypoxic hypoxia and the course intake of mexidol on the hemostasis system response at single physical loads of various duration. *Bulletin of Medical Science*. 2021;2(22): 99–104. (In Russ.)