

КОРРЕКЦИЯ ИЗМЕНЕНИЙ ГЕМОСТАЗА ПРИ ГИПЕРТЕРМИЧЕСКОМ ВОЗДЕЙСТВИИ КОМПЛЕКСОМ ВИТАМИНОВ–АНТИОКСИДАНТОВ

Самойлов А.В., Соловьёв В.Г., Белкина Д.С., Астахова Т.Ю., Рокина О.А.,
Калашникова С.П.

*Ханты-Мансийская государственная медицинская академия, кафедра
медицинской и биологической химии, г. Ханты-Мансийск, Россия.*

Ключевые слова: Стресс, тромбинемия, витамины, тромбоциты, плазмокоагуляция.

Резюме. С целью коррекции последствий теплового стресса изучено влияние комплекса витаминов (КВ) на состояние гемостаза. Животные опытной группы в течение двух недель дополнительно получали комплекс витаминов. После гипертермического воздействия оценивали состояние гемостаза. Дополнительное введение КВ ограничивает последствия эндогенной тромбинемии, спровоцированной однократным тепловым воздействием.

Resume In order to correct the effects of heat stress, the effect of a complex of vitamins (CV) on the state of hemostasis was studied. The animals of the experimental group additionally received a complex of vitamins for two weeks. After hyperthermic exposure, hemostasis was assessed. The additional administration of CV limits the effects of endogenous thrombinemia, triggered by a single thermal exposure.

Актуальность. В настоящее время большое количество патологических состояний, связанных с функциональными нарушениями системы гемостаза и сопровождающихся смещением физиологического равновесия в сторону про- или антикоагуляции, приводит к серьезными последствиям. Как известно, влияние на организм стресс фактора приводит к развитию реакции, с определённым компенсаторным пределом. К одному из таких факторов относится гипертермия [5,6]. Непрерывное внутрисосудистое свертывание крови (НВСК) при его запредельной активации и невозможности коррекции переходит в состояние диссеминированного внутрисосудистого свертывания (ДВС). Среди неспецифических средств для снижения последствий гемокоагуляционного стресса используют, в том числе, витамины–антиоксиданты [7]. Известно, что их предварительное введение животным в дозах, эквивалентных лечебным, повышает способность адекватно реагировать на воздействия, ускоряющие тромбинообразование. Выяснилось, что эффекты введения суммируются: $A+E, E+B_{12}, E+A+C = E+A+P > A+C+P$, исключая сочетания с витамином С в дозах, проявляющих прооксидантные свойства [4]. Избыток в сбалансированном рационе ретинола и токоферола вызывает замедление липидпероксидации и рост антиоксидантного потенциала тромбоцитов, снижение их высвобождающей способности и плазменного уровня маркеров НВСК, активацию фибринолиза и повышение толерантности к тромбину (ТкТР) [8]. Избыток в рационе кобаламина (КБ) в количестве, эквивалентном лечебным дозам, замедляет ЛПО, уменьшает интенсивность НВСК, ускоряет ф. XIIa-зависимый фибринолиз и увеличивает ТкТР. Отсутствие КБ в рационе влияет на ТкТР в равной степени как отсутствие в рационе витаминов А, Е, B_5 и С, а по степени влияния их избытка на ТкТР витамины располагаются так: $A > E > B_{12} > C > B_5$ [3]. Витамин B_{12} , помимо

Фундаментальная медицина

всего, участвует в обмене метионина - при его недостатке, а также витамина В₆ и В₉, происходит накопление гомоцистеина (ГЦ), продукта метаболизма метионина. Известно, что повышенный уровень ГЦ оказывает тромбогенное действие и является фактором развития тромбофилии. В реакциях биотрансформации ГЦ принимают участие три витамина группы В - В₆, В₉ и В₁₂, что обуславливает необходимость одновременного применения комплекса витаминов В₆, В₉ и В₁₂ для снижения концентрации ГЦ в плазме крови [1]. Витамин Р оказывает антиоксидантное и мембраностабилизирующее действие, сравнимое с другими природными антиоксидантами, а в условиях окислительного стресса, обладает антирадикальными свойствами и стимулирует ферменты антиоксидантной защиты, что связано со способностью индукции гемоксигеназы-1 [9, 10]. Доказано также, что большие дозы рутина не оказывают прооксидантного и токсического действия [2].

Цель. Изучить влияние комплекса витаминов (КВ) на состояние гемостаза в условиях гипертермического воздействия.

Задачи. Оценка гемостаза при дополнительном введении КВ. Оценка изменений гемостаза при стресс воздействии. Оценка коррекции изменений гемостаза после гипертермического воздействия.

Материал и методы исследования.

В эксперименте использовались нелинейные белые крысы-самцы 4-х месячного возраста, весом 350-400 г. Число особей в группах сравнения составляло 12.

Животные содержались на сбалансированном рационе, с содержанием белков, липидов, углеводов и микроэлементов в количествах суточной потребности. Интактные животные КВ не получали. Крысам опытных групп в течение 14 суток до воздействия дополнительно вводили витамин А (ретинола ацетат - 800 МЕ), витамин Е (альфа-токоферола ацетат - 6 мг), витамин В₆ (пиридоксина гидрохлорид - 8 мг), витамин В₉ (фолиевая кислота - 4 мг), витамин В₁₂ (цианокобаламин - 4 мкг), витамин Р (рутин - 800 мг). Дозы изучаемых субстанций для животных были адекватны рекомендуемым лечебным дозам для человека, не вызывающих токсических эффектов. Активацию свертывания крови моделировали путем теплового стресса: животных помещали в воздушный термостат (температура +45⁰С) продолжительностью 30 минут [5].

Контрольная группа витаминизированных животных находилась в термостате при комнатной температуре.

При проведении эксперимента авторы руководствовались «Европейской Конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях».

Болезненные манипуляции производили, подвергая животных наркозу этиксиэтаном. Пробы крови брали в шприц из обнаженной овальным разрезом яремной вены. Кровь для коагулологических исследований стабилизировали 3,8% раствором цитрата натрия в соотношении 1:9. Отбор проб, их последующая обработка, соответствовали требованиям, принятым для коагулологических исследований.

Оценка плазменного гемостаза (АЧТВ - активированное частичное тромбопластиновое время; ПТВ - протромбиновое время; ТВ - тромбиновое время;

Фундаментальная медицина

АТ–III - активность антитромбина–III; ФГ - содержание фибриногена; РФМК – содержание растворимых фибрин-мономерных комплексов) осуществлялась согласно инструкциям к наборам фирмы «Технология-стандарт» (г. Барнаул) на коагулографе «ACL-200» (США). Определение количества тромбоцитов (PLT) проводили на гематологическом анализаторе «Dixion Гемалайт 1260» (Россия).

Результаты исследований анализировали методом вариационной статистики для малых рядов наблюдений. Для оценки достоверности отличий вычисляли доверительный коэффициент Стьюдента (t) и степень вероятности (p). Различия считали достоверными при значениях $p < 0,05$.

Результат исследования и их обсуждение.

У животных опытной группы гипертермическое воздействие вызывало достоверное укорочение АЧТВ, которое нивелировалось у группы животных, получавших КВ. Заметно уменьшилось и тромбиновое время, что свидетельствовало о наличии гиперкоагуляционных изменений, изменившееся при дополнительном введении витаминов. Вместе с тем наблюдалось удлинение ПТВ, что свидетельствовало об ускоренном потреблении факторов внешнего пути запуска плазмокоагуляции, практически не происходящем в витаминизированной группе. Незначительно снижалась активность АТ-III, а в опытной группе, она, напротив, выросла. Фактом, подтверждающим интенсивность тромбинемии явилось снижение содержания фибриногена и количества тромбоцитов что проявлялось в меньшей степени под действием дополнительного введения витаминов. В целом, все выше перечисленное, учитывая достаточный прирост содержания РФМК, свидетельствовало о

наличии запредельной активации тромбиногенеза в контрольной группе, что компенсировалось введением КВ (Таб. 1).

Табл. 1 - Состояние гемостаза при гипертермическом стрессе

Показатели	Интактные	Витамины	Стресс без витаминов	Стресс + витамины
Тр./PLT, $1 \times 10^9 / \text{л}$	515±17	592±27* P=0,03	301±28* P=0,01	568±27** P=0,01
АЧТВ/АРТТ, с	27,0±0,5	39,2±0,9* P=0,01	17,2±0,9* P=0,01	27,2±0,9** P=0,01
ПТВ/РТТ, с	8,0±0,6	9,3±0,9 P=0,24	22,9±0,5* P=0,01	10,1±0,9** P=0,01
ТВ/ТТ, с	45,0±5,0	38,2±2,7 P=0,24	17,5±1,3* P=0,02	29,0±1,34** P=0,01
РФМК/RFMC, мг%	5,9±0,2	3,0±2,3 P=0,22	13,8±2,3* P=0,02	9,1±0,4** P=0,04
АТ-III, %	96,0±1,7	117,0±1,3* P=0,01	92,8±2,8 P=0,34	122,0±1,3** P=0,01
ФГ/FG, г/л	7,1±1,6	3,4±0,8* P=0,04	1,3±0,3* P=0,01	1,7±0,3 P=0,35

Примечания: Знаком «*» показаны достоверные отличия по сравнению с интактным контролем, знаком «**» - по сравнению с показателями четвертой колонки.

Фундаментальная медицина

Выводы. Результаты исследования свидетельствуют о том, что дополнительное предварительное введение животным в течение двух недель комплекса витаминов - витамин А (ретинола ацетат - 800 МЕ), витамин Е (альфа-токоферола ацетат - 6 мг), витамин В₆ (пиридоксина гидрохлорид - 8 мг), витамин В₉ (фолиевая кислота - 4 мг), витамин В₁₂ (цианокобаламин - 4 мкг), витамин Р (рутин - 800 мг), ограничивает последствия эндогенной тромбинемии, спровоцированной однократным тепловым воздействием.

Литература

1. Андрианова, М.Ю. Патогенетическое и клиническое обоснование комплексной профилактики гипергомоцистеинемии / Андрианова М.Ю., Ройтман Е.В., Исаева А.М. и др. // Архив внутренней медицины. – 2014. - № 4(18). – С. 32 – 38.
2. Балакина, А. С. Влияние рутина и гесперидина на экспрессию гена Nrf2 и активность гемоксигеназы-1 и NAD(P)H-хиноноксидоредуктазы при их раздельном и совместном действии / Балакина А. С., Трусов Н. В., Авреньева Л. И. и др. // Вопросы питания. – 2016. - № 3. – С. 18 -27.
3. Бышевский, А.Ш. Витамин В₁₂ и гемостаз / Бышевский А.Ш., Волосатов А.А., Карпова И.А. и др. // Фундаментальные исследования. – 2013. - № 2-1. С. 221 – 226.
4. Бышевский, А.Ш. Влияние сочетаний витаминов-антиоксидантов на толерантность к тромбину / Бышевский А.Ш., Шаповалова Е.М. // Вестник ЮУрГУ. Сер. «Образование, здравоохранение, физическая культура». – 2009. Вып. 20, №27. – С. 77 – 80.
5. Николаев В.Ю., Шахматов И.И., Киселёв В.И., Улитина О.М., Алексеева О.В., Бондарчук Ю.А., Николаева К.С., Гемостазиологический профиль крыс в постгипертермическом периоде после общей гипертермии высокого уровня // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2016. № 11-6. С. 1068-1071.
6. Николаев В.Ю., Шахматов И.И., Киселев В.И., Вдовин В.М., Система гемостаза у крыс при различных режимах однократной гипертермической нагрузки // Современные проблемы науки и образования. 2014. № 4. С. 509
7. Ральченко, И.В. Липидпероксидация и гемостаз / Ральченко И.В., Рудзевич Е.Л., Рудзевич А.Ю. и др. // Гемостаз и перекисное окисление липидов в некоторых экспериментальных и клинических ситуациях. Тюмень 2012. – С. 138 – 144.
8. Щепетева, О.К. Эффекты отсутствия и избытка витаминов А и Е на гемостаз порознь и в сочетании при воздействиях, вызывающих гиперкоагуляцию / Щепетева О.К. // Автореферат диссертации кандидата медицинских наук. Тюмень 2011.
9. Protective effects of rutin on liver injury induced by biliary obstruction in rats / Pan P.H., Lin S.Y., Wang Y.Y, et al. // Free Radical Biology & Medicine. – 2014. - Vol. 73. - P. 106-116.
10. In vitro antioxidant properties of rutin / Yang J., Guo J., Yuan J. // LWT - Food Science and Technology. – 2008. - Vol. 41. P. 1060-1066