

## Реакция системы гемостаза в ответ на гиперкапническую гипоксию максимальной интенсивности в зависимости от различных видов прекондиционирования

Светлана Валерьевна Москаленко<sup>1,2\*</sup>, Игорь Ильич Шахматов<sup>1,2</sup>,  
Игорь Викторович Ковалёв<sup>3</sup>, Клавдия Игоревна Шахматова<sup>4</sup>,  
Вячеслав Михайлович Вдовин<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Алтайский государственный медицинский университет, г. Барнаул, Россия;

<sup>2</sup>Научно-исследовательский институт физиологии и фундаментальной  
медицины, г. Новосибирск, Россия;

<sup>3</sup>Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск, Россия;

<sup>4</sup>Отделенческая клиническая больница на ст. Барнаул  
ОАО «Российские железные дороги», г. Барнаул, Россия

### Реферат

**Цель.** Изучить адаптационные реакции системы гемостаза на гиперкапническую гипоксию максимальной интенсивности у крыс, подвергшихся предварительному многократному воздействию этилметилгидроксипиридина сукцината и гиперкапнической гипоксии субмаксимальной интенсивности.

**Методы.** В эксперименте использованы крысы-самцы (80 особей) линии Вистар. Тренировочные циклы: 30-кратное ежедневное воздействие гиперкапнической гипоксии субмаксимальной интенсивности (20 мин —  $9,0 \pm 0,5\% \text{ O}_2$ ,  $7,0 \pm 0,5\% \text{ CO}_2$ ); введение животным этилметилгидроксипиридина сукцината (50 мг/кг) на протяжении 30 дней; сочетанное воздействие двух описанных режимов. Тестовое экспериментальное воздействие моделировали в виде однократной гиперкапнической гипоксии максимальной интенсивности (20 мин —  $5,0 \pm 0,5\% \text{ O}_2$ ,  $5,0 \pm 0,5\% \text{ CO}_2$ ) по завершении каждого из трёх 30-дневных тренировочных циклов.

**Результаты.** Предварительное 30-дневное воздействие как изолированной гиперкапнической гипоксии субмаксимальной интенсивности, так и сочетанного воздействия с этилметилгидроксипиридина сукцинатом способствует гипокоагуляционному сдвигу в системе гемостаза и снижению уровня маркёров претромботического состояния в ответ на однократную гиперкапническую гипоксию максимальной интенсивности. Состояние системы гемостаза после завершения 30-дневного цикла изолированного применения антигипоксанта характеризуется угнетением сосудисто-тромбоцитарного звена системы гемостаза и сохранением гиперкоагуляционных сдвигов в его плазменном звене. Полученные результаты позволяют предположить, что как предварительное изолированное воздействие гиперкапнической гипоксии субмаксимальной интенсивности, так и комбинированное воздействие гиперкапнической гипоксии и этилметилгидроксипиридина сукцината повышает устойчивость системы гемостаза экспериментальных животных к острой гиперкапнической гипоксии максимальной интенсивности по сравнению с крысами контрольных групп. Это подтверждалось угнетением сосудисто-тромбоцитарного звена системы гемостаза, гипокоагуляцией в плазменном звене, снижением уровня маркёров тромботической готовности и повышением антикоагулянтной активности системы крови по сравнению с контролем. В то же время изолированное курсовое применение этилметилгидроксипиридина сукцината не вызывало в том же объёме адаптивных изменений к гиперкапнической гипоксии максимальной интенсивности, поскольку были зарегистрированы лишь угнетение тромбоцитарного звена гемостаза и гипокоагуляция по внутреннему пути свёртывания.

**Вывод.** Изолированное воздействие гиперкапнической гипоксии субмаксимальной интенсивности и комбинированное её воздействие с этилметилгидроксипиридина сукцинатом повышают устойчивость системы гемостаза к острой гиперкапнической гипоксии максимальной интенсивности; изолированное курсовое применение этилметилгидроксипиридина сукцината не вызывает в том же объёме адаптивных изменений.

**Ключевые слова:** гемостаз, гиперкапническая гипоксия, этилметилгидроксипиридина сукцинат.

Для цитирования: Москаленко С.В., Шахматов И.И., Ковалёв И.В. и др. Реакция системы гемостаза в ответ на гиперкапническую гипоксию максимальной интенсивности в зависимости от различных видов preconditionирования. *Казанский мед. ж.* 2019; 100 (4): 642–649. DOI: 10.17816/KMJ2019-642.

## Reaction of the hemostatic system in response to hypercapnic hypoxia of maximum intensity depending on different types of preconditioning

S.V. Moskalenko<sup>1,2</sup>, I.I. Shakhmatov<sup>1,2</sup>, I.V. Kovalev<sup>3</sup>, K.I. Shakhmatova<sup>4</sup>, V.M. Vdovin<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Altai State Medical University, Barnaul, Russia;

<sup>2</sup>Research Institute of Physiology and Fundamental Medicine, Novosibirsk, Russia;

<sup>3</sup>Siberian State Medical University, Tomsk, Russia;

<sup>4</sup>Otdelenchesky clinical hospital at the station Barnaul of JSC “Russian Railways”, Barnaul, Russia

### Abstract

**Aim.** To study the adaptation reactions of the hemostasis system to hypercapnic hypoxia of maximum intensity in rats subjected to preliminary multiple exposure to ethylmethylhydroxypyridine succinate and hypercapnic hypoxia of submaximal intensity.

**Methods.** In the experiment, Wistar male rats (80 individuals) were used. Training cycles: 30-fold daily exposure to hypercapnic hypoxia of submaximal intensity (20 minutes —  $9.0 \pm 0.5\% \text{ O}_2$ ,  $7.0 \pm 0.5\% \text{ CO}_2$ ); administration of ethylmethylhydroxypyridine succinate (50 mg/kg) to animals for 30 days; combined effects of the two described modes. Tested experimental exposure was simulated as a single hypercapnic hypoxia of maximum intensity (20 minutes —  $5.0 \pm 0.5\% \text{ O}_2$ ,  $5.0 \pm 0.5\% \text{ CO}_2$ ) at the end of each of three 30-day training cycles.

**Results.** Preliminary 30-day exposure to both isolated hypercapnic hypoxia of submaximal intensity and combined exposure to ethylmethylhydroxypyridine succinate contributes to hypocoagulation shift in the hemostasis system and reduces the level of the markers of pre-thrombotic state in response to a single hypercapnic hypoxia of maximum intensity. The state of the hemostasis system after 30-day cycle of isolated use of an antihypoxant is characterized by the inhibition of the vascular-platelet system of the hemostasis system and preserved hypercoagulation shifts in its plasma unit. The obtained results suggest that both preliminary isolated effect of hypercapnic hypoxia of submaximal intensity and the combined effect of hypercapnic hypoxia and ethylmethylhydroxypyridine succinate increase the resistance of the hemostasis system in experimental animals to acute hypercapnic hypoxia of maximum intensity compared to rats of the control group. This was confirmed by the inhibition of the vascular-platelet system, hypocoagulation in the plasma unit, decrease in the level of thrombotic readiness markers and increase in the anticoagulant activity of the blood system compared to the control. At the same time, isolated course administration of ethylmethylhydroxypyridine succinate did not cause the same amount of adaptive changes to maximum intensity hypercapnic hypoxia, since only platelet suppression of the hemostasis and hypocoagulation via the internal coagulation pathway were registered.

**Conclusion.** Isolated exposure of hypercapnic hypoxia of submaximal intensity and its combined exposure with ethylmethylhydroxypyridine succinate increase the resistance of the hemostasis system to acute hypercapnic hypoxia of maximum intensity; isolated course administration of ethylmethylhydroxypyridine succinate does not cause the same amount of adaptive changes.

**Keywords:** hemostasis, hypercapnic hypoxia, ethylmethylhydroxypyridine succinate.

**For citation:** Moskalenko S.V., Shakhmatov I.I., Kovalev I.V. et al. Reaction of the hemostatic system in response to hypercapnic hypoxia of maximum intensity depending on different types of preconditioning. *Kazan medical journal.* 2019; 100 (4): 642–649. DOI: 10.17816/KMJ2019-642.

Один из вариантов развития гиперкапнической гипоксии (ГКГ) — длительное нахождение в небольших замкнутых помещениях при неисправности кислородного обеспечения в кабинах летательных аппаратов и подводных лодках [1]. При этом ГКГ достаточно широко используют в медицине для лечения заболеваний нервной [2] и дыхательной [3] систем, желудочно-кишечного тракта [4], а также для устранения тканевой гипоксии [5].

Известно, что адаптация к ГКГ вызывает ряд функциональных и биохимических изменений в организме, направленных в конечном счёте на обеспечение увеличения доставки кислорода тканям. В данном процессе участвуют все органы и системы организма, в частности система гемостаза [6, 7].

Установлено, что первичной реакцией системы коагуляционного гемостаза на однократную 20-минутную ГКГ ( $9\text{--}11\% \text{ O}_2$ ,  $7\text{--}8\% \text{ CO}_2$ ) бывает

гиперкоагуляция [6, 7]. Ранее было установлено, что при различных патологических воздействиях на поверхности эндотелиальных клеток индуцируется экспрессия тканевого фактора, что может способствовать гиперкоагуляционным сдвигам в системе гемостаза [8]. Однако более длительное воздействие характеризуется компенсаторным увеличением активности системы фибринолиза при сохранившихся антикоагулянтных резервах, что способствует уменьшению риска развития внутрисосудистого свёртывания [6, 7].

Один из вариантов решения проблемы повышения устойчивости системы гемостаза к ГКГ — возможность применения тренировочных воздействий ГКГ. Препрекондиционирование как способ формирования ишемической и гипоксической толерантности организма представляет собой перспективное научное направление в медицине. Возможна регуляция адаптивных реакций на воздействие гипоксии с помощью фармакологических препаратов, что позволяет проводить фармакологическое препрекондиционирование [9].

Следует отметить, что в литературе есть ряд работ, демонстрирующих, что тренировки гипоксией в сочетании с гиперкапнией обладают значительно бóльшим по сравнению с изолированной гипоксией адаптогенным потенциалом [5, 10, 11]. Кроме того, возможно осуществление и фармакологической коррекции для повышения выживаемости животных [12]: использование антигипоксантов [13]. В исследованиях Д.В. Срубиллина и соавт. (2011) показано, что антигипоксанты значительно увеличивают время жизни животных при использовании острой ГКГ [14].

Одним из антигипоксантов, широко используемых в отечественной медицине, служит этилметилгидроксипиридина сукцинат, эффект которого связан с активацией энергосинтезирующей функции митохондрий, способствующей доставке в дыхательную цепь энергетических субстратов (в данном случае сукцината) и выполняющих роль срочного адаптационного механизма при гипоксии [15].

Цель работы — изучить адаптационные реакции системы гемостаза к ГКГ максимальной интенсивности у крыс, подвергшихся предварительному многократному воздействию этилметилгидроксипиридина сукцината и ГКГ субмаксимальной интенсивности.

Эксперименты выполнены на 80 крысах-самцах линии Вистар со средней массой тела  $246,0 \pm 32,0$  г. Экспериментальные животные были разделены на семь групп: группа ин-

тактных животных ( $n=20$ ), три контрольные и три опытные группы (по 10 крыс в каждой).

Интактная группа животных находилась на свободном пищевом рационе и не подвергалась каким-либо предварительным воздействиям. Остальные шесть групп (три опытных и три контрольных) на протяжении 30 дней ежедневно подвергали следующим воздействиям:

- первая опытная группа — ГКГ в газовой среде, содержащей  $9,0 \pm 0,5\%$   $O_2$ ,  $7,0 \pm 0,5\%$   $CO_2$  в течение 20 мин;

- первая контрольная группа — воздействию нормоксии в специальных камерах в течение 20 мин;

- вторая опытная группа — введению внутривенно этилметилгидроксипиридина сукцината (50 мг/кг);

- вторая контрольная группа — введению 0,9% раствора NaCl в том же объёме;

- третья опытная группа — сочетанному воздействию ГКГ ( $9,0 \pm 0,5\%$   $O_2$ ,  $7,0 \pm 0,5\%$   $CO_2$ ) в течение 20 мин и этилметилгидроксипиридина сукцината (50 мг/кг);

- третья контрольная группа — нахождению в условиях нормоксии в течение 20 мин в специальной камере с введением 0,9% раствора NaCl в том же объёме, что и раствора этилметилгидроксипиридина сукцината у опытных групп.

На 31-й день, после завершения тренировочных режимов, все опытные и контрольные группы подвергались однократному тестовому воздействию — ГКГ максимальной интенсивности на протяжении 20 мин с концентрацией  $O_2$   $5,0 \pm 0,5\%$  и  $CO_2$   $5,0 \pm 0,5\%$ .

Для моделирования ГКГ использовали проточную камеру, в которую при помощи компрессора подавали заданную смесь газов со скоростью 15 л/мин.

Тренировочный режим — ГКГ субмаксимальной интенсивности ( $9,0 \pm 0,5\%$   $O_2$ ,  $7,0 \pm 0,5\%$   $CO_2$  в течение 20 мин на протяжении 30 дней) для эффективной адаптации к ГКГ — был выбран, исходя из литературных данных [11]. Тестовый режим — ГКГ максимальной интенсивности ( $5,0 \pm 0,5\%$   $O_2$  и  $5,0 \pm 0,5\%$   $CO_2$  в течение 20 мин однократно) — был подобран экспериментальным путём, исходя из предельно допустимых концентраций кислорода и углекислого газа, при которых ещё была зарегистрирована 100% выживаемость животных.

Контрольную группу также помещали в камеру при аналогичных условиях, однако вместо газовой смеси компрессором нагнетали атмосферный воздух. Контроль газового состава камеры производили при помощи газоанали-

затора «Microlux O<sub>2</sub>+CO<sub>2</sub>» (ООО «Микролюкс», Екатеринбург, Россия).

С целью адаптации к условиям вивария всех крыс помещали в стандартные условия содержания за неделю до начала экспериментальных воздействий.

Проведение экспериментов на крысах осуществляли в соответствии с Европейской конвенцией по охране позвоночных животных, используемых в эксперименте, и директивами 86/609/ЕЕС. Обезболивание и умерщвление животных проводили в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» [16]. Работа была одобрена этическим комитетом Алтайского государственного медицинского университета, протокол №1 от 29.01.2018.

Для коррекции гипоксических нарушений, кроме тренировочного режима ГКГ, использовали фармакологический препарат-антигипоксиксантилметилгидроксипиридина сукцинат (мексидол, 50 мг/кг; «Фармасофт», Москва). Препарат вводили экспериментальным животным внутрибрюшинно ежедневно в течение 30 дней. Объём введения для каждой крысы был индивидуален и рассчитывался, исходя из массы тела. Дозы препаратов для крыс подбирали из расчёта 5 мг на 100 г массы тела животного с применением констант биологической активности [17].

Кровь для исследования у опытных и контрольных животных забирали сразу после окончания однократного воздействия ГКГ максимальной интенсивности по завершении 30-дневных предварительных тренировочных циклов.

Забор крови у всех групп животных выполняли на фоне наркотизации путём внутрибрюшинного введения раствора золазепама в дозе 5 мг/100 г. Кровь для исследования забирали из печёночного синуса в объёме 5 мл.

Комплекс методик, позволяющий оценить состояние системы гемостаза, включал исследование агрегационной активности тромбоцитов, коагуляционного звена гемостаза, антикоагулянтной активности и фибринолитической системы крови.

В качестве реагентов для оценки системы гемостаза были выбраны диагностические наборы фирмы «Технология-Стандарт» (Россия) с использованием коагулометров «Минилаб» (Россия) и «Trombostat-2» (Германия). Подсчёт количества тромбоцитов периферической крови осуществляли при помощи гематологического анализатора «Drew-3» (США). Определение агрегационной активности тромбоцитов выполняли при помощи агрегометра «Биола»

(Россия). Уровень антитромбина III оценивали при помощи спектрофотометра «СФ-46» (Россия).

Все цифровые данные, полученные в ходе исследования, подвергали статистической обработке. Данные исследований представлены в виде  $Me [Q_{25}; Q_{75}]$ , где  $Me$  — медиана в выборочной совокупности;  $[Q_{25}; Q_{75}]$  — 25-й и 75-й перцентили.

Исходя из того, что не все наблюдаемые признаки подчинялись нормальному распределению, достоверность различий оценивали при помощи непараметрического U-критерия Манна–Уитни. Различия считали значимыми при  $p < 0,05$ .

Для обработки и хранения полученного экспериментального материала создавали базы данных с использованием редактора электронных таблиц Microsoft Excel 2010. Статистическую обработку полученных результатов осуществляли при помощи программ математической статистики Jmp Statistical Discovery v. 6.1.2 и Biostat 5.03 на персональном компьютере.

Сравнительный анализ результатов исследования показателей системы гемостаза, зарегистрированных после тестового воздействия ГКГ максимальной интенсивности, которому подвергали животных по завершении 30-дневного тренировочного изолированного и сочетанного воздействий ГКГ и этилметилгидроксипиридина сукцината, приведён в табл. 1.

Для оценки эффективности того или иного адаптационного режима, используемого в данной работе, повышающего толерантность к ГКГ, необходимо знать, какое влияние на систему гемостаза оказывает однократная ГКГ максимальной интенсивности без предварительного тренировочного воздействия. Ранее нами было установлено, что реакцией системы гемостаза на однократное 20-минутное воздействие ГКГ максимальной интенсивности бывает активация сосудисто-тромбоцитарного и коагуляционного звеньев гемостаза на фоне активации фибринолитической системы крови [18].

В ходе описываемых в статье экспериментов выявлено, что в ответ на однократную ГКГ максимальной интенсивности, последовавшую сразу по завершении предварительного 30-кратного ежедневного цикла изолированных воздействий ГКГ тренировочного режима (первая опытная группа), были зафиксированы (по сравнению с контрольной группой) разнонаправленные изменения в сосудисто-тромбоцитарном звене системы гемостаза, что характеризовалось повышением количества

**Таблица 1.** Показатели системы гемостаза плазмы крови интактных животных и крыс после изолированного и сочетанного воздействий гиперкапнической гипоксии и этилметилгидроксипиридина сукцината (Ме [Q<sub>25</sub>; Q<sub>75</sub>])

Показатель	Интактная группа (n=20)	Ежедневное предварительное 30-кратное тренировочное воздействие + гиперкапническая гипоксия 5,0±0,5% O <sub>2</sub> , 5,0±0,5% CO <sub>2</sub> , 20 мин на 31-й день					
		Гиперкапническая гипоксия: 9,0±0,5% O <sub>2</sub> , 7,0±0,5% CO <sub>2</sub> , 20 мин		Мексидол (50 мг/кг)		Гиперкапническая гипоксия: 9,0±0,5% O <sub>2</sub> , 7,0±0,5% CO <sub>2</sub> , 20 мин + мексидол (50 мг/кг)	
		Контроль №1 (n=10)	Опыт №1 (n=10)	Контроль №2 (n=10)	Опыт №2 (n=10)	Контроль №3 (n=10)	Опыт №3 (n=10)
Содержание тромбоцитов, ×10 <sup>9</sup> /л	491,0 [468,0÷498,0]	434,0 <sup>###</sup> [426,8÷453,0]	515,0 <sup>***</sup> [510,0÷519,5]	436,5 <sup>#</sup> [427,5÷455,0]	427,5 <sup>#</sup> [418,3÷434,8]	437,5 <sup>###</sup> [429,0÷447,5]	480,0 <sup>**</sup> [469,8÷495,5]
Индукцированная АДФ-агрегация тромбоцитов, макс. значение	25,4 [23,6÷27,7]	31,8 <sup>#</sup> [30,7÷32,5]	21,7 <sup>***</sup> [20,2÷22,5]	32,3 <sup>###</sup> [31,6÷37,5]	14,3 <sup>***,###</sup> [13,0÷15,7]	31,9 <sup>###</sup> [31,4÷33,2]	18,0 <sup>**</sup> [17,0÷18,5]
АПТВ, с	14,9 [14,2÷15,6]	10,0 <sup>###</sup> [9,6÷10,6]	15,4 <sup>***</sup> [15,0÷15,7]	10,5 <sup>###</sup> [9,9÷10,8]	12,2 <sup>**</sup> [11,5÷13,3]	10,8 <sup>#</sup> [9,8÷11,9]	16,0 <sup>**</sup> [15,7÷16,8]
Протромбиновое время, с	22,4 [21,7÷23,3]	20,0 <sup>###</sup> [19,3÷20,5]	21,2 <sup>**</sup> [20,6÷22,3]	21,4 <sup>#</sup> [20,4÷22,5]	22,2 [21,5÷23,5]	21,7 <sup>###</sup> [20,7÷22,3]	21,5 [20,6÷22,6]
ВПФМ, с	63,3 [58,6÷66,0]	44,9 <sup>###</sup> [42,4÷48,0]	62,8 <sup>***</sup> [60,6÷64,8]	45,2 <sup>###</sup> [42,5÷48,6]	52,3 <sup>#</sup> [51,5÷53,2]	47,3 <sup>###</sup> [45,6÷48,6]	67,1 <sup>**</sup> [65,5÷68,0]
Содержание фибриногена, г/л	2,9 [2,7÷2,9]	1,8 <sup>###</sup> [1,7÷2,0]	2,9 <sup>***</sup> [2,7÷3,0]	2,1 <sup>###</sup> [1,8÷2,2]	2,4 <sup>**</sup> [2,3÷2,6]	1,9 <sup>###</sup> [1,8÷2,4]	3,0 <sup>**</sup> [3,0÷3,5]
Содержание РФМК, мг/100 мл	3,0 [3,0÷3,0]	6,0 <sup>###</sup> [5,5÷6,5]	3,5 <sup>***,###</sup> [3,5÷4,0]	6,3 <sup>###</sup> [4,8÷6,9]	4,3 <sup>**###</sup> [3,6÷5,3]	6,0 <sup>###</sup> [5,0÷6,9]	3,3 <sup>**</sup> [3,0÷3,5]
Антитромбин III, %	95,0 [92,6÷98,8]	92,5 [92,0÷94,0]	98,5 <sup>**</sup> [97,3÷99,4]	94,4 [93,6÷96,7]	94,3 [93,4÷95,2]	95,2 [93,7÷98,4]	107,1 <sup>***#</sup> [104,3÷112,2]
Спонтанный эуглобулиновый фибринолиз, мин	600,0 [570,0÷630,0]	525,0 <sup>#</sup> [480,0÷592,5]	630,0 <sup>*</sup> [600,0÷652,5]	525,0 <sup>#</sup> [510,0÷540,0]	705,0 <sup>*,###</sup> [690,0÷720,0]	510,0 <sup>#</sup> [480,0÷562,5]	660,0 <sup>**</sup> [607,5÷690,0]

Примечание: статистически значимые отличия от соответствующих показателей группы контроля — \*p <0,05; \*\*p <0,01; \*\*\*p <0,001; отличия от соответствующих показателей интактной группы — #p <0,05; ##p <0,01; ###p <0,001; АДФ — аденозиндифосфат; АПТВ — активированное парциальное тромбопластиновое время; ВПФМ — время полимеризации фибрин-мономеров; РФМК — растворимые фибрин-мономерные комплексы.

тромбоцитов на 19% (p <0,001) при снижении АДФ-агрегации тромбоцитов на 32% (p <0,001). Однако при сравнении показателей тромбоцитарного звена опытной группы с интактными животными было установлено отсутствие достоверных различий, что свидетельствует о нормализации данных параметров.

Со стороны плазменного гемостаза (по сравнению с контрольной группой) регистрировалась гипокоагуляция по внутреннему и внешнему путям, а также на конечном этапе свёртывания. Эти данные подтверждались увеличением активированного парциального тромбопластинового времени на 54% (p <0,001), протромбинового времени — на 6% (p <0,01), времени полимеризации фибрин-мономеров — на 40% (p <0,01). Концентрация фибриногена увеличивалась на 61% (p <0,001), уровень растворимых фибрин-мономерных комплексов снижался на 42% (p <0,001).

Описанные изменения сопровождались повышением антикоагулянтной активности на 6% (p <0,01) и угнетением фибринолитической — на 20% (p <0,05). По сравнению с показателями интактной группы у опытных животных был незначительно повышен (на 17%) только уровень растворимых фибрин-мономерных комплексов (p <0,001). Остальные показатели коагулограммы не отличались от исходных.

Многokратное изолированное применение этилметилгидроксипиридина сукцината (вторая опытная группа) и воздействие ГКГ максимальной интенсивности приводили (по сравнению с контрольной группой) к угнетению тромбоцитарного звена гемостаза — снижалась агрегационная активность тромбоцитов на 56% (p <0,001). В показателях опытной группы в отличие от интактных крыс отмечено угнетение сосудисто-тромбоцитарного звена: снижение на 13% (p <0,01) количества тромбо-

цитов и на 44% ( $p < 0,001$ ) — их агрегационной активности.

В плазменном звене при сравнении опытной группы с контрольной отмечено увеличение времени свёртывания по внутреннему пути — удлинение активированного парциального тромбопластинового времени на 16% ( $p < 0,01$ ). В плазме крови было обнаружено снижение уровня растворимых фибрин-мономерных комплексов на 32% ( $p < 0,01$ ), повышение концентрации фибриногена на 14% ( $p < 0,01$ ). Наряду с этим активность фибринолиза снижалась на 34% ( $p < 0,01$ ).

При сравнении данных с интактными животными со стороны плазменного звена зарегистрирована гиперкоагуляция на конечном этапе свёртывания, о чём свидетельствовало укорочение на 17% ( $p < 0,01$ ) времени полимеризации фибрин-мономеров, а также были зафиксированы повышение на 43% уровня растворимых фибрин-мономерных комплексов ( $p < 0,001$ ) и угнетение на 18% ( $p < 0,05$ ) спонтанного эуглобулинового фибринолиза.

Предварительное совместное использование тренировочных режимов (третья опытная группа) в ответ на экспериментальное воздействие ГКГ приводило к достаточно серьёзным изменениям в системе гемостаза у группы опытных животных по сравнению с контрольными и интактными. Так, описываемое воздействие сопровождалось (по сравнению с контрольной группой) повышением количества тромбоцитов на 9% ( $p < 0,001$ ) и снижением на 42% их агрегационной функции ( $p < 0,001$ ).

Со стороны свёртывающей системы зафиксировано угнетение внутреннего механизма образования протромбиназы, на что указывало увеличение на 48% активированного парциального тромбопластинового времени ( $p < 0,001$ ). На конечном этапе свёртывания в опытной группе происходило повышение на 42% времени полимеризации фибрин-мономеров ( $p < 0,001$ ). Кроме того, по сравнению с контрольной группой выявлены повышение на 58% концентрации фибриногена ( $p < 0,001$ ), снижение на 45% уровня растворимых фибрин-мономерных комплексов ( $p < 0,001$ ), повышение на 13% содержания антитромбина III ( $p < 0,001$ ) и угнетение на 29% системы фибринолиза ( $p < 0,001$ ).

При сравнении данных опытной и интактной групп установлено отсутствие достоверных различий между показателями, характеризующими тромбоцитарное и коагуляционное звенья системы гемостаза. Однако по сравнению с группой интактных крыс в группе опытных животных установлено лишь повышение уров-

ня антитромбина III на 13% ( $p < 0,01$ ), остальные же показатели коагулограммы возвращались под воздействием данного режима тренировок к исходному уровню.

Из результатов экспериментов следует, что у опытных животных тренировочный режим ГКГ вызывает нормализацию большинства параметров гемостаза (при сравнении с группой интактных животных), а сочетанный тренировочный режим ГКГ с этилметилгидроксипиридина сукцинатом не только приводит к восстановлению всех показателей системы гемостаза, но и способствует повышению антикоагулянтной активности плазмы крови. Данный эффект, по-видимому, можно расценить как действие антигипоксанта.

Кроме того, после сочетанных 30-кратных воздействий ГКГ в тренировочном режиме и этилметилгидроксипиридина сукцината отмечены угнетение сосудисто-тромбоцитарного звена (один из фармакологических эффектов препарата [19]) и исчезновение всех признаков состояния тромботической готовности, регистрируемой по окончании однократного воздействия ГКГ максимальной интенсивности в группе контрольных животных.

Можно сделать вывод о том, что применение ГКГ способствует существенному снижению риска развития претромботического состояния. Это подтверждается отсутствием маркёров состояния тромботической готовности (снижение уровня растворимых фибрин-мономерных комплексов) после эксперимента, а также гипокоагуляционными сдвигами в системе гемостаза.

Полученные данные подтверждаются А.Г. Рачковым и соавт. (1990). Гипокоагуляцию в системе гемостаза при экспериментальной гипоксии рассматривают как проявление адаптации, что приводит к улучшению микроциркуляции на фоне гипоксической полиглобулии и в условиях первоначальной активации тромбогенных факторов [20]. Другие же авторы видят в гипокоагуляции, регистрируемой при данном воздействии, одну из фаз синдрома диссеминированного внутрисосудистого свёртывания, когда происходит истощение факторов свёртывания крови [21]. Зафиксированное повышение концентрации фибриногена может свидетельствовать об отсутствии потребления фибриногена в организме в ходе тромбообразования у опытных крыс после гипоксического прекоагулирования.

При этом важно отметить повышение уровня антитромбина III, поскольку антикоагулянтная активность плазмы крови — один из наиболее чувствительных компонентов системы

гемостаза, реагирующей на стрессорное воздействие [22].

Также повышается содержание тромбоцитов, при этом их функциональная активность снижается. По литературным данным известно, что количество тромбоцитов в условиях кислородной недостаточности увеличивается. Установлено, что ГКГ стимулирует деятельность мегакариоцитов [23], а это приводит к повышению количества тромбоцитов.

В то же время установлено, что в ходе эксперимента снижается активность фибринолитической системы крови. Это может быть обусловлено более длительным периодом, необходимым для восстановления фибринолиза. Кроме того, по данным Z.G. Zhang (1999), острая гипоксия стимулирует синтез ингибитора активатора плазминогена 1-го типа, способного замедлять лизис фибриновых сгустков [24].

Состояние системы гемостаза, зарегистрированное после однократного воздействия ГКГ максимальной интенсивности, которому предшествовал 30-дневный цикл приёма этилметилгидроксипиридина сукцината, характеризуется угнетением сосудисто-тромбоцитарного звена системы гемостаза. В плазменном звене происходит лишь гипокоагуляционный сдвиг по внутреннему пути свёртывания.

Выявленные эффекты могут быть обусловлены обнаруженной у этилметилгидроксипиридина сукцината способностью подавлять агрегацию тромбоцитов. Этот препарат ингибирует фосфодиэстеразу циклических нуклеотидов тромбоцитов, а также защищает клетки крови при травме [21].

## ВЫВОДЫ

1. Состояние системы гемостаза при тренировочном режиме применения гиперкапнической гипоксии субмаксимальной интенсивности на протяжении 30 дней, а также при сочетанном воздействии гиперкапнической гипоксии и этилметилгидроксипиридина сукцината характеризуется полноценной нормализацией параметров и развитием адаптации со стороны системы гемостаза к данному виду стрессора.

2. Курсовое 30-кратное применение этилметилгидроксипиридина сукцината приводит к развитию наиболее выраженных адаптационных резервов лишь в тромбоцитарном звене системы гемостаза, нормализация же остальных параметров в коагулограмме обусловлена действием гипоксического preconditionирования.

*Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов по представленной статье.*

## ЛИТЕРАТУРА

1. Малкова Я.Г., Кальченко Г. Использование различных моделей гипоксии в экспериментальной фармакологии. *Молодой учёный*. 2010; (3): 318–319. [Malkova Ya.G., Kal'chenko G. The use of various models of hypoxia in experimental pharmacology. *Molodoy uchenyy*. 2010; (3): 318–319. (In Russ.)]

2. Суховершин А.В., Пантин А.В., Суховершин Р.А. и др. Восстановительное лечение больных неврастенией с применением гиперкапнической гипоксии в условиях бальнеологического курорта. *Сибирский вестн. психиатр. и наркол.* 2009; (1): 127–129. [Sukhovershin A.V., Pantin A.V., Sukhovershin R.A. et al. Rehabilitation treatment of patients with neurasthenia with the use of hypercapnic hypoxia in the conditions of a spa resort. *Sibirskiy vestnik psikiatrii i narkologii*. 2009; (1): 127–129. (In Russ.)]

3. Данилов А.Н., Лобанов Ю.Ф., Сероштанова Е.В. и др. Клиническое наблюдение за течением бронхиальной астмы у ребёнка дошкольного возраста, тренирующегося в условиях гиперкапнической гипоксии на тренажере «карбоник». *Соврем. пробл. науки и образования*. 2013; (6): 594–603. [Danilov A.N., Lobanov Yu.F., Seroshtanova E.V. et al. Clinical observation of the course of bronchial asthma in a preschool child training in hypercapnic hypoxia on a carbonic simulator. *Sovremennyye problemy nauki i obrazovaniya*. 2013; (6): 594–603 (In Russ.)]

4. Печкина К.Г., Куликов В.П., Щербakov П.Л., Лобанов Ю.Ф. Лечение хронического эрозивного гастроэнтероидита у детей с использованием гиперкапнической гипоксии. *Гастроэнтерол. эксперим. и клин.* 2011; (1): 28–30. [Pechkina K.G., Kulikov V.P., Shcherbakov P.L., Lobanov Yu.F. Treatment of chronic erosive gastroenteroiditis in children using hypercapnic hypoxia. *Gastroenterologiya eksperimental'naya i klinicheskaya*. 2011; (1): 28–30. (In Russ.)]

5. Сенин И.П., Мишустин Ю.Н. Гиперкапническая тренировка как средство устранения тканевой гипоксии. *Ж. ГрГМУ*. 2006; (1): 81–83. [Senin I.P., Mishustin Yu.N. Hypercapnic training as a means of eliminating tissue hypoxia. *Zhurnal of GrSMU*. 2006; (1): 81–83. (In Russ.)]

6. Шахматов И.И., Вдовин В.М., Киселёв В.И. Состояние системы гемостаза при различных видах гипоксического воздействия. *Бюлл. СОРАМН*. 2010; (2): 131–138. [Shakhmatov I.I., Vdovin V.M., Kiselev V.I. The state of the hemostasis system in various types of hypoxic exposure. *Bulleten' SORAMN*. 2010; (2): 131–138. (In Russ.)]

7. Schobersberger W., Hoffmann G., Gunga H. Interaktionen von Hypoxie und Hämostase — Hypoxie als prothrombotischer Faktor in der Höhe? *Wien. Med. Wochenschr*. 2005; 155: 157–162. DOI: 10.1007/s10354-005-0163-7.

8. Кузник Б.И. *Клеточные и молекулярные механизмы регуляции системы гемостаза в норме и патологии*. Чита: Экспресс-издательство. 2010; 832 с. [Kuznik B.I. *Kletochnyye i molekulyarnyye mekhanizmy regulyatsii sistemy gemostaza v norme i patologii*. (Cellular and molecular mechanisms of hemostatic system regulation in norm and pathology.) Chita: Ekspress izdatel'stvo. 2010; 832 p. (In Russ.)]

9. Новиков В.Е., Левченкова О.С., Пожилова Е.В. Preconditioning как способ метаболической адаптации организма к состояниям гипоксии и ишемии. *Вестн. Смоленской гос. мед. академии*. 2018; (1): 69–79. [Novikov V.E., Levchenkova O.S., Pozhilova E.V. Preconditioning as a method of metabolic adaptation of the organism to conditions of hypoxia and ischemia. *Vestnik*

*Smolenskoj gosudarstvennoj meditsinskoj akademii.* 2018; (1): 69–79. (In Russ.)]

10. Беспалов А.Г., Куликов В.П., Лепилов А.В. Тренировки с гипоксической гиперкапнией как средство увеличения толерантности головного мозга к ишемии. *Патол. кровообращения и кардиохирург.* 2004; (3): 60–64. [Bespalov A.G., Kulikov V.P., Lepilov A.V. Training with hypoxic hypercapnia as a means of increasing brain tolerance to ischemia. *Patologiya krovoobrashcheniya i kardiokhirurgiya.* 2004; (3): 60–64. (In Russ.)]

11. Куликов В.П., Беспалов А.Г., Якушев Н.Н. Эффективность гиперкапнической гипоксии в повышении толерантности головного мозга к ишемии. *Вестн. восстановит. мед.* 2009; (5): 22–31. [Kulikov V.P., Bespalov A.G., Yakushev N.N. The effectiveness of hypercapnic hypoxia in increasing the tolerance of the brain to ischemia. *Vestnik vosstanovitel'noy meditsiny.* 2009; (5): 22–31. (In Russ.)]

12. Москаленко С.В. Система гемостаза у крыс при изолированном и сочетанном воздействии мексидола и гипоксической гипоксии с использованием метода тромбозластографии. *Фундаментал. и прикладные исслед.* 2016; (27): 34–43. [Moskalenko S.V. The hemostasis system in rats with isolated and combined effects of Mexidol and hypoxic hypoxia using the method of thromboelastography. *Fundamental'nye i prikladnye issledovaniya.* 2016; (27): 34–43. (In Russ.)]

13. Стратиенко Е.Н., Петухова Н.Ф. Поиск средств фармакологической коррекции гипоксических состояний. *Вестн. Брянского гос. ун-та.* 2012; 4 (2): 232–234. [Stratienko E.N., Petukhova N.F. Search for means of pharmacological correction of hypoxic states. *Vestnik Bryanskogo gosudarstvennogo universiteta.* 2012; 4 (2): 232–234. (In Russ.)]

14. Срубиллин Д.В., Еникеев Д.А., Мышкин В.А. Антирадикальная и антиоксидантная активность комплексного соединения 5-окси-6-метилурацила с янтарной кислотой и его эффективность при гипоксических состояниях. *Фундаментал. исслед.* 2011; (6): 166–170. [Srubilin D.V., Enikeev D.A., Myshkin V.A. Antiradical and antioxidant activity of the complex compound of 5-hydroxy-6-methyluracil with succinic acid and its efficacy in hypoxic conditions. *Fundamental'nye issledovaniya.* 2011; (6): 166–170. (In Russ.)]

15. Яснецов В.В., Смирнов Л.Д. Эффективность новых производных 3-гидрокси-пиридина, обладающих антиоксидантной активностью, при различных видах гипоксии. Труды международной конференции Биоантиоксидант. Москва. 2006; 292–293. [Yasnetsov V.V., Smirnov L.D. The effectiveness of new 3-hydroxypyridine derivatives with antioxidant activity, with various types of hypoxia. *Proceedings of the international conference Bio-antioxidant.* Moscow. 2006; 292–293. (In Russ.)]

16. Council Directive of 24 November 1986 on the Approximation of Laws, Regulations of the Member States Regarding the Protection of Animals Used for Experimental and Other Purposes Directive (86/609/EEC). *Official J. Eur. Communities L.* 262; 1–29.

17. Хабриев Р.У. *Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ.* М.: Медицина. 2005; 832 с. [Khabriev R.U. *Rukovodstvo po eksperimental'nomu (doklinicheskomu) izucheniyu novykh farmakologicheskikh veshchestv.* (Manual on experimental (preclinical) study of new pharmacological substances.) Moscow: Meditsina. 2005; 832 p. (In Russ.)]

18. Москаленко С.В., Шахматов И.И., Бондарчук Ю.А. и др. Реакция системы гемостаза при гиперкапнической гипоксии после курсового применения мексидола с использованием метода тромбозластографии. *Казанский мед. ж.* 2018; 99 (6): 919–924. [Moskalenko S.V., Shakhmatov I.I., Bondarchuk Yu.A. et al. The reaction of the hemostasis system in hypercapnic hypoxia after the course of the application of Mexidol using the method of thromboelastography. *Kazanskiy Meditsinskiy Zhurnal.* 2018; 99 (6): 919–924. (In Russ.)] DOI: 10.17816/KMJ2018-936.

19. Чукаев С.А. Оценка фармакотерапевтической эффективности мексидола в качестве средства коррекции гипоксических ишемических и реоксигенационных повреждений. *Вестн. Бурятского гос. ун-та.* 2014; (12): 19–24. [Chukaev S.A. Evaluation of the pharmacotherapeutic efficacy of Mexidol as a means of correcting hypoxic ischemic and reoxygenation damages. *Vestnik Buryatskogo gosudarstvennogo universiteta.* 2014; (12): 19–24. (In Russ.)]

20. Рачков А.Г., Рачкова Л.Г., Данияров С.Б. Влияние острой кровопотери на гемостаз у неадаптированных к условиям высокогорья собак. *Патол. физиол. и эксперим. терап.* 1990; (5): 28–30. [Rachkov A.G., Rachkova L.G., Daniyarov S.B. The effect of acute blood loss on hemostasis in dogs unadapted to the conditions of high mountains. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya.* 1990; (5): 28–30. (In Russ.)]

21. Шевченко Ю.Л. *Гипоксия. Адаптация, патогенез, клиника.* СПб.: Элби-СПб. 2000; 384 с. [Shevchenko Yu.L. *Gipoksiya. Adaptatsiya, patogenez, klinika.* (Hypoxia. Adaptation, pathogenesis, clinic.) Saint. Petersburg: Elbi-SPb. 2000; 384 p. (In Russ.)]

22. Шахматов И.И., Носова М.Н., Бондарчук Ю.А. Антикоагулянтные свойства элеутерококка. *Химия растительного сырья.* 2011; (3): 179–182. [Shakhmatov I.I., Nosova M.N., Bondarchuk Yu.A. Anticoagulant properties of Eleutherococcus. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya.* 2011; (3): 179–182. (In Russ.)]

23. Черешнев В.А., Юшков Б.Г., Климин В.Г., Лебедева Е.В. *Имунофизиология.* Екатеринбург: УрОРАН. 2002; 260 с. [Chereshnev V.A., Yushkov B.G., Klimin V.G., Lebedeva E.V. *Immunofiziologiya.* (Immunophysiology.) Ekaterinburg: UrORAN. 2002; 260 p. (In Russ.)]

24. Zhang Z.G., Chopp M., Goussev A. et al. Cerebral microvascular obstruction by fibrin is associated with up-regulation of PAI-1 acutely after onset of focal embolic ischemia in rats. *J. Neurosci.* 1999; 19 (24): 10 898–10 907. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.19-24-10898.1999.