

УДК 612.115: 612.010. 424.4

**МЕМБРАННЫЙ МЕХАНИЗМ ВЛИЯНИЯ ПОСТОЯННОГО
ЭЛЕКТРИЧЕСКОГО ТОКА МАЛОЙ ВЕЛИЧИНЫ НА ПРОЦЕССЫ
СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ И ФИБРИНОЛИЗА**

Мищенко С. В.

В последние годы одной из важнейших проблем теоретической и клинической медицины является изучение микроциркуляции крови, лимфы, тканевых жидкостей в различных физиологических и патологических условиях. В симптомокомплексе нарушений периферического кровообращения выделяют расстройства микроциркуляции, которые определяются как первоначальный пусковой механизм практически любых патологических процессов. Это связано с тем, что гемореологические нарушения могут быть предвестниками тромбозов и эмболии. Изменения в гемореологии наблюдаются при нарушении целостности биологических тканей и клеток. Но при этом необходимо учитывать, что при изменении структуры тканей возникают местные токи повреждения, которые могут изменить ход химических реакций, нарушать обменные процессы, вызывать конформационные перестройки ферментов в клеточных мембранах [1].

Предполагается, что упорядоченное расположение форменных элементов крови и устойчивость пространственно-динамической структуры движущейся крови в здоровом организме связаны с магнитными и электрическими полями, возникающими между форменными элементами крови и ее факторами свертывания. При нарушении целостности клеточных мембран, например, сосудистой стенки, могут существенно измениться электродинамические условия в кровотоке. Из мембран клеток, прежде всего, эндотелия сосудов будут выходить в кровоток физиологически активные вещества, влияющие на агрегацию тромбоцитов, свертывание крови и фибринолиз. Это, как известно, реально при действии многих как физиологических, так и физических факторов [1, 2, 3].

Нашими прежними исследованиями [4, 5] доказано, что постоянный электрический ток малой величины (10 мкА) усиливает агрегацию тромбоцитов, особенно в присутствии таких физиологически активных веществ как АДФ, фибриноген, тромбин и других. Однако наши исследования были проведены в условиях *in vitro*. Кроме того, они касались только изучения агрегации тромбоцитов. Поэтому интересно было выяснить, сохраняются ли подобные действия при влиянии постоянного электрического тока на агрегацию тромбоцитов в условиях *in vivo*, и повлечет ли это за собой изменения в реакциях свертывания крови и фибринолиза.

Целью настоящего исследования было изучение механизма влияния постоянного электрического тока малой величины на процесс агрегации тромбоцитов, свертывание крови и фибринолиз в эксперименте на животных

МЕМБРАННЫЙ МЕХАНИЗМ ВЛИЯНИЯ ПОСТОЯННОГО ЭЛЕКТРИЧЕСКОГО ТОКА МАЛОЙ ВЕЛИЧИНЫ НА ПРОЦЕССЫ СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ И ФИБРИНОЛИЗА

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперименты проведены на 20 белых крысах, массой 150-210 г, линии Вистар, в условиях гексеналового наркоза (100 мг на 1 кг массы). Для изучения влияния постоянного электрического тока на показатели крови у 15 крыс обнажали яремную вену, на которую накладывали один из электродов (в одних опытах анод, в других катод), а другой втыкали в бедренную мышцу. Тонкой иглой производили забор крови в шприц до и после 10-минутной экспозиции постоянного электрического тока в 10 мкА. Полученные порции крови смешивали с 3,8% цитратом натрия в соотношении 9:1. В дальнейшем кровь центрифугировали при 1500 об/мин в течение 10 минут для получения плазмы. В плазме определяли агрегацию тромбоцитов с использованием фотоэлектрокалориметра и следующие показатели, характеризующие свертывание крови и фибринолиз: время рекальцификации, тромбиновое время, протромбиновое время, АЧТВ, фибриноген, фибринолиз эуглобулинов. Определение изучаемых показателей заимствовано из [6].

После проведения эксперимента животных забивали передозировкой наркоза и у них иссекали яремную вену. В последующем из тканей вены готовили гомогенат в физиологическом растворе хлорида натрия в разведении 1:50. После их центрифугирования при 1500 об/мин в течение 5 минут получали надосадочную жидкость, которую и использовали в эксперименте для изучения наличия в ней физиологически активных веществ, влияющих на свертывание и фибринолиз субстратной бестромбоцитной плазмы. Последнюю готовили из крови крыс путем центрифугирования при 3000 об/мин в течение 30 минут. В качестве контроля в этих опытах служила интактная сосудистая стенка, полученная от животных (5 крыс) таким же способом и при тех же условиях, что и опытная. У этих же животных получали кровь для приготовления субстратной плазмы.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Наши исследования показали, что под влиянием постоянного электрического тока происходит увеличение агрегационных свойств тромбоцитов в области анода (таблица 1). Об этом свидетельствует как возрастание времени, высоты агрегации, так и ее угла. На катоде такие изменения практически отсутствовали, за исключением времени агрегации, которое также возросло, но на меньшую величину, чем на аноде.

Таблица 1.

Влияние постоянного электрического тока (10 мкА) на агрегацию тромбоцитов в яремной вене у крыс ($M \pm m$)

Изучаемые показатели	На аноде		На катоде	
	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
Время агрегации (мин)	12,8 ± 0,51	19,4 ± 1,1 *	12,9 ± 0,6	16,1 ± 2,2
Угол агрегации (градус)	61,0 ± 1,6	72,1 ± 1,4 *	63,2 ± 2,3	64,2 ± 1,8
Высота агрегации (мм)	42,8 ± 1,02	49,4 ± 1,1 *	43,1 ± 1,1	44,6 ± 1,4
Суммирующий индекс агрегации	68,7 ± 2,55	72,1 ± 1,8	68,4 ± 1,6	69,9 ± 1,4

Примечание: * - $P < 0.05$

Увеличение агрегации тромбоцитов на аноде можно объяснить тем, что создавая положительное поле у сосуда он способствует появлению сил сближения между тромбоцитами и сосудистой стенкой. Кроме того, появление положительного заряда сопровождается на поверхности эндотелия потерей стержневых факторов ингибирования агрегаций тромбоцитов простаглицлина и оксида азота. Это происходит в результате того, что их синтез уменьшается изоформами ферментов. (На неповрежденном эндотелии экспрессированы экто-аденозинофосфатаза, которая расщепляет АДФ и препятствует агрегации тромбоцитов и гликозаминогликаны, которые являются кофакторами антитромбина) [7].

На аноде происходит активация процесса свертывания крови и фибринолиза (таблица 2). Доказательством тому является более короткое время рекальцификации, протромбиновое, тромбиновое время и активированное частичное тромбопластиновое время в сравнении с контролем. Происходило уменьшение и времени растворения эуглобулиновой фракции фибринового сгустка, что свидетельствует об активации фибринолиза. На катоде изучаемые показатели существенных изменений не претерпевали.

Таблица 2.

Влияние постоянного электрического тока (10 мкА)
на свертывание крови и фибринолиз в яремной вене у крыс ($M \pm m$)

Изучаемые показатели	На аноде		На катоде	
	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
Время рекальцификации (с)	68,0 ± 1,2	54,0 ± 1,4 *	69,0 ± 1,6	62,0 ± 1,8
Протромбиновое время (с)	18,0 ± 1,1	14,1 ± 1,0 *	18,2 ± 1,2	16,2 ± 1,4
АЧТВ (с)	44,2 ± 2,4	36,7 ± 2,1 *	46,2 ± 1,8	44,4 ± 1,6
Тромбиновое время (с)	14,5 ± 0,2	12,0 ± 0,4 *	14,9 ± 0,6	13,1 ± 0,4
Фибриноген (г/л)	2,4 ± 0,2	2,6 ± 0,3	2,5 ± 0,3	2,4 ± 0,4
Фибринолиз эуглобулинов (мин)	182,0 ± 6,4	146,0 ± 5,8 *	176,7 ± 9,4	159,8 ± 9,8

Примечание: * - $P < 0.05$

Можно было полагать, что на аноде в результате накопления положительно заряженных ионов происходило такое перераспределение зарядов, которое вело к освобождению из сосуда веществ, активирующих свертывание крови и фибринолиз. Такая возможность выделения прокоагулянтов и фибринолитических компонентов из стенки сосуда в ответ на действие физических факторов (электрического тока, электромагнитных полей) была ранее продемонстрирована отдельных работах [1,8].

Чтобы убедиться в этом, мы изучали активность прокоагулянтов и фибринолитических компонентов непосредственно в самой сосудистой стенке до и после воздействия на нее постоянного электрического тока (в одних случаях анодом, в других – катодом). Результаты этих исследований приведены в таблице 3.

Из таблицы следует, что во всех изучаемых гомогенатах яремной вены имеются вещества, способные усиливать свертывающую активность субстратной бестромбоцитной плазмы, но особенно тех, которые выделены из области анода. Эти данные свидетельствуют о том, что в области анода повышалась активность как прокоагулянтов, так и активаторов фибринолиза.

МЕМБРАННЫЙ МЕХАНИЗМ ВЛИЯНИЯ ПОСТОЯННОГО ЭЛЕКТРИЧЕСКОГО ТОКА МАЛОЙ ВЕЛИЧИНЫ НА ПРОЦЕССЫ СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ И ФИБРИНОЛИЗА

Таблица 3.

Влияние постоянного электрического тока (10 мкА) на активность тканевых факторов гемокоагуляции и фибринолиза в яремной вене у крыс ($M \pm m$)

Исследуемые показатели	плазма+физиологический раствор	плазма+гомогенат сосуда (контроль)	плазма+гомогенат сосуда из под анода	плазма+гомогенат сосуда из под катода
Время рекальцификации (с)	142,0 ± 8,6	52,0 ± 2,6 *	41,0 ± 1,5 **	49,1 ± 1,4 *
Тромбиновое время (с)	38,0 ± 1,2	44,1 ± 1,3 *	42,1 ± 1,0 *	46,1 ± 2,2 *
Время лизиса эуглобулинов (мин)	135,0 ± 3,2	102,0 ± 2,6 *	93,0 ± 2,6 **	110,1 ± 4,8 *

Примечание: * - $P < 0.05$ между физиологическим раствором и гомогенатом контрольных и опытных сосудов; ** - $P < 0.05$ между гомогенатом контрольных и опытных сосудов.

Таким образом, в генезе изменений агрегации тромбоцитов, свертывания крови и фибринолиза, возникающих при действии слабого постоянного электрического тока важная роль отводится сосудистой стенке. Выброс факторов свертывания и фибринолиза, по видимому является следствием изменения функционального состояния клеточных мембран и, в первую очередь, их проницаемости. Хорошо известно, что конформационная стабильность мембраны обеспечивает бимолекулярный слой фосфолипидов. Под действием данного физического раздражителя происходит дозированное проникновение Ca^{2+} к внутриклеточному монослою клеточной мембраны (в нашем случае кровеносного сосуда) эндотелия. Индуцированные электрическим током ионы Ca^{2+} вызывают транслокацию (перескок) фосфатидилсерина и фосфатидилэтаноламина из внутреннего во внешний монослой клеточной мембраны. Эта транслокация с неизбежностью вызывает дальнейшую Ca^{2+} опосредованную перестройку мембраны, появление в ней обращенных цилиндрической и мицеллярной мезофаз и утрату бислоидной структуры [7]. Вследствие этого блокируется активность транслоказы и активируется фермент скремблаза, которая вместе с флоппазой приводит к потере липидной асимметрии [9]. В результате этих процессов происходит не только потеря асимметричности, но и атромбогенности наружной клеточной мембраны. В результате происходит выпячивание и отторжение от нее небольших мембранных пузырьков - микровезикул [10]. Эти микровезикулы попадают в кровь и вносят свой вклад в формирование гемостатического потенциала [11].

Изменения фибринолитической активности крови также связано с выделением из эндотелия тканевого активатора плазминогена. Его продукция и поступление из эндотелиальных клеток в кровь увеличивается при различных как физиологических, так и патологических состояниях организма [2,3,12].

Таким образом, слабый постоянный электрический ток, возникающий на границе сосуд - кровь, способствует повышению агрегации тромбоцитов, усиливает свертывающую и фибринолитическую активность крови. Это не может быть не учтено при выполнении физиотерапевтических процедур с использованием

постоянного электрического тока, а также в случаях имеющих поврежденных тканей (сосудов) в организме.

ВЫВОДЫ

1. Постоянный электрический ток малой величины активирует агрегацию тромбоцитов, свертывание крови и фибринолиз. Эта реакция осуществляется особенно выражено в области анода.

2. Изменения агрегации тромбоцитов, свертывания крови и фибринолиза, возникающие в ответ на действие постоянного электрического тока малой величины, связаны с поступлением из сосудистой стенки физиологически активных веществ, влияющих на эти процессы.

Список литературы

1. Русяев В.Ф., Логинов В.В. Гемокоагуляционные аспекты физиотерапии крови. 1. Биологические реакции компонентов системы гемостаза при воздействии физических факторов // Проблемы экологии та медицини. - 2000. - Т.4, №1. - С.60-63.
2. Кузник Б.И. Система крови в норме и патологии. Чита: "Поиск", 2001. - 284 с.
3. Мищенко В.П., Мищенко И.В. Физиология системы гемостаза. - Полтава: «АСМИ», 2003. - 124 с.
4. Мищенко С.В. Вплив постійного електричного струму малої величини на мікроциркуляторний гемостаз // В кн.: Історія та сучасні досягнення фізіології в Україні. 12-14 вересня, 2001. - Київ, 2002. - С.109-110.
5. Мищенко С.В. Зміни процесів адсорбції та десорбції на мембранах тромбоцитів за умов дії слабого постійного електричного струму // Фізіологічний журнал. - 2002. - Т.48, №2. - С.160-164.
6. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. М.: Ньюдиамед, 2001. - 296 с.
7. Зубаиров Д.М. Молекулярные основы свертывания крови и тромбообразования. - Казань: «ФЭН», 2000. - 364 с.
8. Сосудистая стенка как эфферентный регулятор антиоксидантной системы, гемостаза и фибринолиза в условиях нормы и патологии (Мищенко В.П., Грицай Н.Н., Моргун З.К. и др.) // Проблемы экологии і медицини. - 2000. - Т.4, №2-3. - С.20-23.
9. Zwall R.F., Confurius P., Smeets. Platelet procoagulant activity and microvesicle formation. In: Hypercoagulable states// Boca Raton. - 1996. - P.29-36.
10. Zwall R.F., Schroit A.J. Pathophysiologic implications of membrane phospholipid asymmetry in blood cells// Blood. 1997. - Vol.89, №4. - P.1121-1132.
11. Зубаиров Д.М., Андрушко И.А., Л.Д. Зубаирова. Механизмы острой гиперкоагулемии после острой кровопотери // В материалах конф. «Клиническая гемостазиология и гемореология в сердечно-сосудистой хирургии». Москва, 2003. - С.20-28.
12. Макацария А.Д., Бицадзе В.О. Тромбофилические состояния в акушерской практике. - М.: Руссо, 2001. - 704 с.

Поступила в редакцию 08.12.2003 г.