

УДК 591.11.3:59151.513:612:821

ПРОТИВОСВЕРТЫВАЮЩАЯ СИСТЕМА У ЖИВОТНЫХ, ОБУЧАЮЩИХСЯ НА ФОНЕ СОВМЕСТНОГО ДЕЙСТВИЯ СЛАБОГО ПОСТОЯННОГО МАГНИТНОГО ПОЛЯ И ОПИОИДНОГО ПЕПТИДА ОПИЛОНГА

Л.В. Подорольская, Т.Н. Серебрякова, К.А. Никольская

(кафедра физиологии человека и животных, кафедра высшей нервной деятельности;
e-mail: tnsrb@mail.ru)

Информационная нагрузка у крыс линии Вистар, обучавшихся решению пищедобывательной задачи в течение 20 сеансов в стандартных экспериментальных условиях, не изменяла функциональное состояние противосвертывающей системы по окончании обучения по сравнению с интактными животными. Обучение в условиях совместного действия слабого магнитного поля и предварительного 5-кратного внутримышечного введения опиоидного пептида опилонга значительно улучшало познавательную активность, но приводило к гиперкоагуляции, дисбалансу фибринолитических процессов, депрессии функции противосвертывающей системы.

Ключевые слова: *противосвертывающая система, гемостаз, фибринолиз, постоянное магнитное поле, опилонг.*

Большой объем информации, воспринимаемый современным человеком, стимулирует поиск путей адекватной ее переработки и анализа, а также способы, помогающие избежать сопутствующие психоэмоциональное напряжение, стрессы, болезни. Изучать эти насущные вопросы можно в том числе в модельных экспериментах, имитирующих познавательную деятельность человека, испытывающего при обучении информационные перегрузки [1]. Используемая в работе пищедобывательная поведенческая модель была разработана для исследования психофизического статуса животного при обучении, но в то же время представляется вполне приемлемым инструментом изучения самых разных физиолого-биохимических процессов и систем в организме, чувствительных к информационным перегрузкам. Одной из них является противосвертывающая система (ПСС), которая, манипулируя активностью протеолитических процессов гемостаза и фибринолиза, контролирует жидкое состояние крови в кровеносных сосудах, обеспечивает защиту от тромбоза, в то же время очень восприимчива к информационному и интеллектуальному стрессу [2, 3]. С помощью этой модели были изучены психостимуляторы (факторы, повышающие познавательную активность) фармакологические (ноотроп пирацетам, опиоидный пептид опилонг [4]) и физические — слабое магнитное поле [5]. Были показаны, с одной стороны, их улучшающие познавательную деятельность свойства, с другой — существенное влияние на состояние гемостаза и фибринолиза вплоть до развития предтромботического состояния. В то же время в реальной жизни трудно

представить изолированное действие какого-либо из перечисленных факторов, и интеллектуальная деятельность современного обучающегося человека осуществляется с одновременным воздействием по крайней мере двух из них: постоянное магнитное поле (ПМП) создается как техногенно — приборами, аппаратами, мобильными телефонами, проводами и др., так и естественно — геомагнитными бурями, а стимулирующие препараты типа опилонга применяются для улучшения восприятия и анализа информации [6]. Целью работы было изучение совместного действия этих психостимуляторов — фармакологического (опилонга) и физического (ПМП) — на состояние противосвертывающей системы (ПСС) в процессе обучения.

Материалы и методы

Эксперименты проводили на крысах-самцах линии Вистар с исходным весом 200—220 г. В качестве информационной нагрузки животным предлагали самостоятельно решить пищедобывательную проблемную задачу в многоальтернативном лабиринте, подробно описанную в ряде публикаций [1, 7]. Обучение проводили ежедневно в течение 20 сеансов на естественном магнитном фоне (37 ± 2 мкТл) и на фоне слабых искажений внешнего магнитного поля (МП), создававшихся тремя постоянными магнитами (ПМП), взятых от бытовых радиоприемников, расположенных на расстоянии 5 см от пола экспериментальной камеры, находящейся на столе, которые усиливали внешнее МП до 75—200 мкТл для вертикальной компоненты и 35—200 мкТл для горизонтальной.

При этом вертикальная компонента была инвертирована относительно естественного направления силовых линий в точках, отстоящих на 1 м от зоны эксперимента. Докармливание животных после опыта проводили уже на фоне естественного МП в течение 45 мин. Измерения делали с помощью магнетометра ТМ75-41 (ИЗМИРАН). В качестве опиоида был использован опилонг — синтетический аналог дерморфина (Н-Тур-d-Ala-Phe-d-Ala-Тур-Pro-Ser- NH-CH₃), синтезированный в лаборатории синтеза пептидов ВКНЦ РАМН. Опилонг (Оп) вводили опытной группе внутримышечно в дозе 50 мкг/кг в течение 5 дней до начала обучения, а в группе активного контроля использовали физиологический раствор. Уровень пищевой депривации составлял 24 ч, длительность опыта — 13 мин. Использовались три группы крыс: интактные (контроль), крысы, подвергавшиеся информационной нагрузке без дополнительных воздействий (просто обучавшиеся) и опытная группа, обучавшаяся на фоне Оп + ПМП (ПМП + Оп индуцированные крысы).

Кровь для исследований брали до начала опыта и через месяц, сразу по окончании процесса обучения. В крови определяли параметры гемостаза и фибринолиза: содержание фибриногена (г/л), время рекальцификации плазмы (с), неферментативную фибринолитическую активность (мм²), время лизиса эуглобулиновой фракции плазмы (ВЛЭФ, мин), фибринолитическую активность (ФА) на стандартных фибриновых пластинах — суммарная фибринолитическая активность (СФА, мм²), активность акти-

ватора плазминогена (мм²), активность ингибитора активатора плазминогена (ПАИ-1, %). Все методы, реактивы и оборудование описаны в методическом пособии [8].

Статистическая обработка полученных результатов и оценка различий распределения проводилась с использованием критериев Колмогорова—Смирнова и t-Стюдента. Если выборка имела распределение, отличное от нормального, применяли непараметрические методы — W-test Манна—Уитни.

Результаты и обсуждение

Проведенные исследования показали, что совместное действие опилонга и магнитного фактора оказало весьма заметное психостимулирующее воздействие. В отличие от просто обучавшейся группы, имеющей результат 40% после обучения, все ПМП + Оп-индуцированные крысы (100%) смогли успешно решить предложенную задачу, проявляя целенаправленное пищедобывательное поведение. Однако в опытной группе значительно усилились стрессуемость и невротические проявления.

Состояние ПСС было различным в зависимости от условий обучения. При обучении без дополнительных внешних воздействий значения почти всех определяемых параметров ПСС были очень близки к таковым для интактных животных (таблица). Исключение составил показатель ВЛЭФ, демонстрирующий торможение фибринолиза примерно на 20% после обучения (рис. 1). Поскольку показатель ВЛЭФ

Параметры гемостаза и фибринолиза у крыс, обучавшихся на фоне совместного действия ПМП и опилонга

			Интактные	Обучение	МП + Опилонг
Гемостаз	Фибриноген, г/л	среднее (M ± m)	4,3 ± 0,008	4,0 ± 0,02	4,1 ± 0,2
		мода	4,4	3,9	4,5
		min—max	1,4—8,6	1,3—8,9	2,2—6,1*
	Рекальцификация, с	среднее	90,6 ± 1,5	96,7 ± 2,8	80,9 ± 1,4**^
		мода	93,1	92,8	90,4
		min—max	40—400	45—200*	60—90***^
	Неферментативный фибринолиз, мм²	среднее	24,0 ± 1,3	21,0 ± 1,9	16,4 ± 2,0*
		мода	8,3	9,5	32***^
		min—max	0—170	0—132	0—50***^
Фибринолиз	Суммарная фибринолитическая активность, мм²	среднее	52,9 ± 2,7	51,0 ± 3,0	66,7 ± 2,3***^
		мода	15,6	31,3**	86,7***^
		min—max	1—260	1—154*	25—90***^
	Активатор плазминогена, мм²	среднее	23,8 ± 1,5	22,6 ± 2,3	45,8 ± 2,8***^
		мода	9,3	10,1	44***^
		min—max	0—89	0—125	16—60*^
n =			50	50	50

Примечание. * и ** — 0,05 и 0,01 — достоверные значения МП + опилонг животных в сравнении с интактной группой, ^ — 0,05 и ^^ — 0,01 и обучавшейся группой (t-Student).

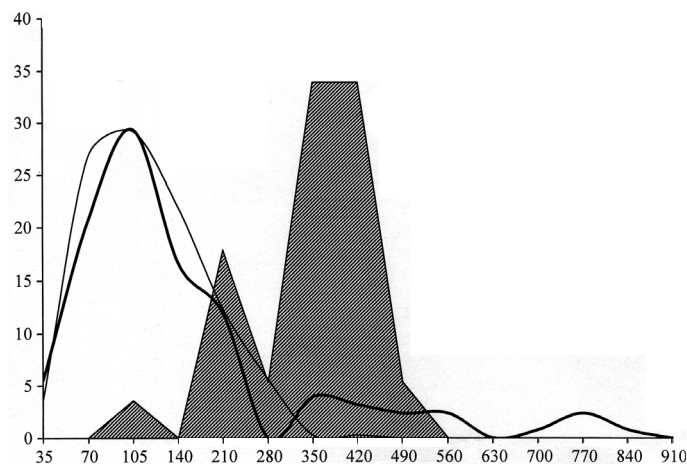


Рис. 1. Характер распределения параметра время лизиса эуглобулиновой фракции в популяции крыс Вистар в зависимости от фактора воздействия.

По горизонтали — минуты, по вертикали — процент животных с соответствующим временем лизиса; тонкая линия — интактная группа, толстая — животные, подвергнутые действию информационной нагрузки, заштрихованная площадь — группа, обучавшаяся на фоне совместного действия ПМП и опилонга

часто используется в клинических и экспериментальных исследованиях как наиболее интегральный и информативный, то следует подробнее остановиться на его особенностях в нашем эксперименте. Из рис. 1, показывающего распределение величин параметра ВЛЭФ в группах животных, видно, что для абсолютного большинства (93,82% интактных и 84,2% просто обучавшихся крыс) разницы в ФА практически нет: кривые очень близки в области наиболее типичных в популяции величин ВЛЭФ — 35—210 мин. Однако сверхвысокие значения ВЛЭФ (очень низкая ФА — более 280 мин) все же имеют 6,18% интактных крыс, число которых при обучении возрастает до 16%. Это означает, что тормозящий ФА эффект обучения распространяется преимущественно на животных с запредельно низким уровнем фибринолиза, встречающегося в популяции довольно редко (6,18%). Ранее мы предположили, что именно эти животные наиболее чувствительны к различным повреждениям, являясь основной мишенью различных патологических воздействий, например алкоголя [7, 9]. Другое объяснение может быть связано с особенностями определения этого параметра. Действительно, показатель ВЛЭФ отличается сложной многокомпонентной структурой, в составе которой могут присутствовать малоизученные элементы, например свободные радикалы, формирующиеся при стрессе [10] и влияющие на структуру фибриногена [11], состав, свойства и концентрация которого в значительной мере определяет величину ВЛЭФ. Таким образом, достоверное торможение фибринолиза по параметру ВЛЭФ после обучения представляет либо артефакт определения, либо, если это так на самом деле, касается очень небольшой группы интактных крыс. Другие используемые нами мето-

ды определения ФА демонстрировали значения, как видно из таблицы, очень близкие у животных интактных и обучающихся (СФА, активность активатора пламиногена), свидетельствуя об отсутствии влияния самого фактора обучения на ФА. Не менялась в процессе обучения и активность главного ингибитора фибринолиза — ПАИ-1, как это видно из кривых распределения этого показателя на рис. 2.

Итак, процесс обучения интактных крыс не вызывал значительных изменений параметров гемостаза и фибринолиза у подавляющего большинства животных. Не менялась в том числе и “норма реакции” (min—max), и модальных (наиболее встречающихся в популяции) величин параметров, показывая (таблица), что одна информационная нагрузка без дополнительных внешних или внутренних факторов не влияет на популяционные характеристики групп, их стабильность, пластичность, адекватность к воздействиям. Некоторая тенденция в направлении гипофибринолиза по параметру ВЛЭФ достаточно компенсировалась антикоагулянтной направленностью, выраженной уменьшением уровня фибриногена и удлинением времени рекальцификации, а также увеличением модальных значений суммарной фибринолитической активности (таблица).

Обучение в условиях совместного действия слабого ПМП и опилонга имитирует современную ситуацию деятельности человека, окруженного магнитосодержащими приборами и принимающего психотропные препараты. Оказалось, что комбинация ПМП и опилонга существенно активировала как протеазы гемостаза и фибринолиза, так и их ингибиторы (таблица, рис. 1, 2). Активацию гемостаза по параметру времени рекальцификации (на 28%) за-

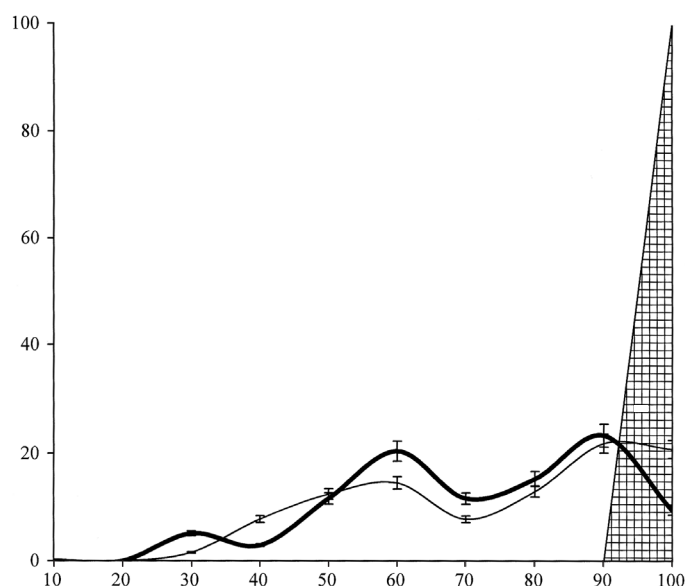


Рис. 2. Характер распределения параметра активности ингибитора активатора пламиногена в популяции крыс Вистар в зависимости от фактора воздействия.

По горизонтали — процент, по вертикали — процент животных; остальные обозначения, как на рис. 1

метно поддерживал показатель неферментативного фибринолиза — основной защитный противотромботический компонент ПСС, который реагировал падением активности у большинства животных (мода) и сужением “нормы реакции”, обуславливающей смещение среднего значения в область более низких величин. Существенный дисбаланс наблюдался среди фибринолитических параметров. ФА, определяемая на фибриновом субстрате (активность активатора плазминогена и СФА), увеличивалась соответственно на 86% и 33% у ПМП + Оп-индуцированных крыс по сравнению с просто обучающимися животными. Однако ВЛЭФ — наиболее интегральный показатель фибринолиза — показывал удлинение в 2 раза, свидетельствуя о мощном торможении ФА (рис. 1). Из рис. 1 видно, что теперь 79% животных составляли группу с сильно заторможенной ФА по сравнению с 16% в контроле (среднее значение ВЛЭФ в этой группе достоверно возросло до $305 \pm 12,6$ мин по сравнению с $159,5 \pm 20,7$ мин в группе с обучением и $125 \pm 12,6$ мин у интактных крыс). О торможении ФА свидетельствовало и значительное увеличение активности ингибитора фибринолиза ПАИ-1, при этом на рис. 2 видно, как все опытные животные приобрели активность 100% по сравнению с 72,3% в двух контрольных группах. Именно ПАИ-1 — основной ингибитор активности активаторов фибринолиза — в последние годы признается одним из главных маркеров предтромботического состояния [12], поэтому ингибирование фибринолиза по двум наиболее весомым параметрам (ВЛЭФ и ПАИ-1) свидетельствовало о реальной ситуации депрессии противосвертывающих механизмов в случае добавления к процессу обучения магнитного поля и опилонга.

Ранее мы показали, что аналогичный сдвиг происходит при действии только одного опилонга [4]. Однако если препарат тормозил фибринолиз по всем параметрам, то совместное применение двух факторов стимулирует ФА, связанную с эндотелием (активность активатора плазминогена, СФА), — эффект, присущий ПМП [5], хотя и не реализуемый в отношении лизиса собственного фибрина (параметр ВЛЭФ). Скачок активности ПАИ-1 еще более усиливал антифибринолитический потенциал крови. В этой ситуации можно говорить о депрессии функции ПСС. В таблице показано, что в отличие от изолированной информационной нагрузки обучение в присутствии ПМП и опилонга сужало норму реакции, что считается негативным явлением, говорит о потере популяционного многообразия, пластичности, адекватности реагирования и т.д. Сравнивая изменения параметров при изолированном действии изучаемых факторов, описанные нами ранее, и при их совместном применении, можно заключить, что в последнем случае имеются особенности, присущие и опилонгу, и ПМП, хотя нет как полной идентичности, так и эффектов потенциации или нивелирования.

Таким образом, проведенные исследования показали, что только одна информационная нагрузка в процессе познавательной деятельности при обучении, основанная на пищедобывательном безусловном рефлексе, развивающаяся в течение 20 сеансов ежедневных тренировок у крыс, вызывая повышенную стрессуемость и невротизацию, практически не влияет на состояние ПСС. Это подтверждает ее (ПСС) большой резервный потенциал в здоровом организме. Обучение, несомненно, представляет важнейший биологический феномен в жизни популяции, необходимый для сохранения вида. Возможно, информация, получаемая в результате обучения поиска пищи, являясь естественным экологическим фактором, стимулирует в эволюции мощные защитные механизмы, в том числе противотромботические. Однако провокационные факторы (физический и фармакологический) независимо от природы и механизма воздействия, будучи чужеродными для жизни популяции, согласно полученным данным, являются мощными стрессорными раздражителями как для психофизического, так и для физиолого-биохимического состояния организма. Действительно, функция ПСС значительно подавлялась в результате действия опилонга [4], добавление магнита резко блокировало фибринолиз, при том что стимулировались другие защитные факторы ПСС — выброс тканевого активатора плазминогена. Наименее опасным и вполне благоприятным в плане функции ПСС оказалось применение одного ПМП, хотя и здесь были возможны гиперкоагуляционные сдвиги, компенсированные, однако, актом ферментативного и неферментативного фибринолиза [5]. Эти данные получены у нормальных интактных крыс с полноценно функционирующей ПСС. В случае же нарушения ее функции, а таких ситуаций много (возраст, инфекции, травмы, болезни, беременность, нездоровый образ жизни и др.), опасность предтромбоза делается реальной, особенно, как мы показали, в случае применения опилонга [4] либо опилонга совместно с ПМП, в меньшей степени одного ПМП [5].

Выводы

1. Совместное действие постоянного магнитного поля и опиоидного пептида опилонга стимулировало процесс обучения решения проблемной пищедобывательной задачи у крыс линии Вистар в 2,5 раза.

2. Одна информационная нагрузка в процессе 20 сеансов обучения решения пищедобывательной задачи у крыс не вызывала изменений состояния противосвертывающей системы по большинству параметров по окончании обучения по сравнению с фоновой активностью.

3. Информационная нагрузка на фоне совместного действия постоянного магнитного поля и предварительного внутримышечного введения опиоидного пептида опилонга активировала гемостаз, тормозила фибринолиз, являясь фактором развития тромбоза.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Никольская К.А. Системно-информационный подход к изучению познавательной деятельности животных // Большой практикум по высшей нервной деятельности и нейрофизиологии / Под ред. Д.В. Евтихина, Б.В. Чернышова. М.: Линор, 2009. С. 5—31.
2. Кузник Б.И. Клеточные и молекулярные механизмы регуляции системы гемостаза в норме и патологии. Чита: Экспресс-издательство, 2010. 827 с.
3. von Känel J.M., Mills P.G., Fainman C., Dimsade J.E. Effect of psychological stress and psychiatric disorders on blood coagulation and fibrinolysis: a biobehavioral pathway to coronary artery disease? // *Psychosom. Med.* 2001. Vol. 63. N 4. P. 531—544.
4. Подорольская Л.В., Серебрякова Т.Н., Никольская К.А. Реакция гемостаза и фибринолиза у крыс при сочетанном действии информационной нагрузки и опиоидного пептида опилонга // *Бюл. эксперимент. биол. и мед.* 2012. Т. 154. № 7. С. 18—21.
5. Подорольская Л.В., Серебрякова Т.Н., Андреев Г.В., Никольская К.А., Ковалева В.Н. Свертывающая и противосвертывающая система крыс в условиях повышенной информационной нагрузки и воздействия слабого магнитного поля // *Вестн. Моск. ун-та. Сер. Биология.* 2003. № 1. С. 6—11.
6. Peart J.N., Gross E.R., Gross G.J. Opioids induced pre-conditionary: recent advances and future perspectives // *Vascular pharmacol.* 2005. Vol. 42. P. 211—218.
7. Никольская К.А., Хонычева Н.М. Особенности обучения крыс в условиях свободного выбора // *Журн. высш. нервн. деят.* 1999. Т. 49. № 3. С. 436—445.
8. Методы исследования фибринолитической активности крови / Под ред. Г.В. Андреев. М.: Изд-во Моск. ун-та, 1981.
9. Cui C., Norinha A., Moricawa H., Alvarez V.A., Stuber G.D., Szumblinski V.K., Kash T.L., Roberto M., Wilcox M.V. New insight on neurobiological mechanisms underlying alcohol addiction // *Neuropharmacology.* 2012. Vol. 67. N 13. P. 223—232.
10. Киричук В.Ф., Цымбал А.А., Антонова О.Н., Тужикин В.Д., Майбородин А.В., Креницкий А.Н., Бецкий О.В. Система гемостаза в условиях хронического стресса и терапевтическая терапия // *Тромбоз, гемостаз и реология.* 2006. Т. 26. № 2. С. 35—42.
11. Литвинова М.М., Азизова О.А., Щегловитова О.П., Полосухина Е.Р., Романов Ю.А., Асейчев А.В., Митронченков Е.В. Окисленные формы фибриногена индуцируют экспрессию молекул клеточной адгезии клетками культуры эндотелия кровеносных сосудов головы // *Бюл. эксперимент. биол. и мед.* 2006. № 4. С. 268—272.
12. Добровольский А.Б., Тимаева Е.В. Система фибринолиза: регуляция активности и физиологические функции ее основных компонентов (обзор) // *Биохимия.* 2002. Т. 67. № 1. С. 116—126.

Поступила в редакцию
10.04.13

ANTICOAGULATING SYSTEM IN LEARNING ANIMALS. INFLUENCE OF COMBINED ACTION OF WEEK STATIC MAGNETIC FIELD AND OPIOID PEPTIDE OPILONG

L.V. Podorolskaya, T.N. Serebryakova, K.A. Nikolskaya

Functional state of anticoagulating system in Wistar rats, learned to solve food seeking problem task during 20 seances in standard experimental conditions did not changed compared to intact animals. Combined action of week static magnetic field and opioid peptide opilong, added to learning process, stimulated it significantly, but resulted in hypercoagulation, fibrinolysis disbalance and depression of anticoagulating system function.

Key words: *anticoagulating system, haemostasis, fibrinolysis, static magnetic field, opilong.*

Сведения об авторах

Подорольская Лидия Васильевна — канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаборатории защитных систем крови биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-14-11; e-mail: tnserb@mail.ru

Серебрякова Тамара Николаевна — канд. биол. наук, науч. сотр. лаборатории защитных систем крови биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-14-11; e-mail: tnserb@mail.ru

Никольская Кира Алексеевна — докт. биол. наук, вед. науч. сотр. кафедры высшей нервной деятельности биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-54-86; e-mail: nikolskaya.kira@yandex.mail.ru