

© Коллектив авторов, 2019

УДК 546.74:616.–005.1–08

Гаглоева Э.М.<sup>1</sup>, Брин В.Б.<sup>1,2</sup>, Скупневский С.В.<sup>1,2</sup>, Боциева Н.В.<sup>1</sup>, Молдован Т.В.<sup>1</sup>

## Влияние хлорида никеля на показатели гемокоагуляции и липопероксидации у крыс в эксперименте

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Северо–Осетинская государственная медицинская академия» Минздрава России, 362019, РСО–Алания, г. Владикавказ, Россия, ул. Пушкинская, д. 40;

<sup>2</sup>ФГБУН «Институт биомедицинских исследований Владикавказского научного центра» Российской академии наук, 362025, РСО–Алания, г. Владикавказ, Россия, ул. Пушкинская, д. 47

**Цель исследования** – изучить состояние системы гемостаза при хронической интоксикации хлоридом никеля, исследовать взаимосвязь показателей гемокоагуляции с процессами липопероксидации у крыс в эксперименте.

**Методика.** опыты проводили на крысах-самцах Вистар (n=50, 230-250 г). Раствор NiCl<sub>2</sub> (5 мг/кг) вводили внутрижелудочно ежедневно в течение 2 нед, 1 и 2 мес. По завершении эксперимента исследовали состояние тромбоцитарного и коагуляционного звеньев гемостаза, антикоагулянтную и фибринолитическую активность крови, а также определяли активность процессов перекисного окисления липидов и антиоксидантных ферментов. **Результаты.** Установлено, что через 2 нед и 1 мес интоксикации у крыс отмечались гиперкоагуляционные изменения показателей свертывающей системы крови: повышение агрегационной активности тромбоцитов, увеличение концентрации фибриногена, снижение активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ) и протромбинового времени. В этот период регистрировалось увеличение антитромбиновой и фибринолитической активности крови. Через 2 мес наблюдалось подавление активности клеточного звена гемостаза - тромбоцитопения, ослабление степени АДФ–индуцируемой агрегации тромбоцитов. Выявлялась тенденция к уменьшению концентрации фибриногена. На фоне снижения АЧТВ и тромбинового времени отмечалось увеличение протромбинового времени. В то же время регистрировалось угнетение противосвертывающего звена системы гемостаза (снижалась активность антитромбина III), наблюдалось истощение резервных возможностей фибринолитического звена (замедление фXIIa-зависимого эуглобулинового лизиса) и увеличение содержания растворимых фибрин мономерных комплексов, что свидетельствует о наличии тромбинемии. Через 2 нед, один и два месяца интоксикации у животных выявлялись корреляционные связи между основными показателями системы гемостаза и активностью процессов перекисного окисления липидов и антиоксидантных ферментов. **Заключение.** Полученные данные подтверждают наличие взаимосвязи активности процессов липопероксидации и системы гемостаза, в том числе при хронической никелевой интоксикации. Результаты исследования позволяют рекомендовать применение антиоксидантов для разработки способов коррекции гемостатических сдвигов при воздействии на организм тяжелых металлов.

**Ключевые слова:** никель; перекисное окисление липидов; гемостаз.

**Для цитирования:** Гаглоева Э.М., Брин В.Б., Скупневский С.В., Боциева Н.В., Молдован Т.В. Влияние хлорида никеля на показатели гемокоагуляции и липопероксидации у крыс в эксперименте. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2019; 63(1): 83-90.

**DOI:** 10.25557/0031-2991.2019.01.83-90

**Для корреспонденции:** Брин Вадим Борисович, доктор мед. наук, зав. каф. нормальной физиологии ФГБОУ ВО «Северо–Осетинская государственная медицинская академия» Минздрава России, e-mail: vbbrin@yandex.ru

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Поступила:** 11.03.2018

Gagloeva E.M.<sup>1</sup>, Brin V.B.<sup>1,2</sup>, Skupnevskiy S.V.<sup>1,2</sup>, Botsieva N.V.<sup>1</sup>, Moldovan T.V.<sup>1</sup>

## EFFECTS OF NICKEL CHLORIDE ON INDICES OF HEMOCOAGULATION AND LIPID PEROXIDATION IN RATS

<sup>1</sup>North Ossetian State Medical Academy, Pushkinskaya Str. 40, Vladikavkaz 362019, Republic of North Ossetia-Alania, Russian Federation;

<sup>2</sup>Institute of Biomedical Research, Vladikavkaz Scientific Center of the Russian Academy of Sciences, Pushkinskaya Str. 47, Vladikavkaz 362025, Republic of North Ossetia-Alania, Russian Federation

**The aim.** To study the state of the hemostasis system in chronic nickel intoxication and to investigate the relationship between hemocoagulation indices and lipoperoxidation processes in rats. **Methods.** Experiments were carried out on male Wistar rats (n=50, 230-250 g). A solution of nickel chloride (5 mg/kg) was administered daily intragastrically for two weeks, one and two months. At the end of the experiments, indices of platelet and coagulation hemostasis systems, anticoagulant

and fibrinolytic activity of blood plasma, and activities of lipid peroxidation and antioxidant enzymes were studied. **Results.** Hypercoagulative changes in indices of the coagulation system were observed in rats after two weeks and one month of intoxication, including increased platelet aggregation and fibrinogen concentration and shortened activated partial thromboplastin time and prothrombin time. During the same period, increased antithrombin and fibrinolytic activities were observed. The depressed activity of the cellular component of hemostasis evident as thrombocytopenia and impaired ADP-induced platelet aggregation was detected after two months of intoxication. A tendency to decrease in fibrinogen concentration was observed. The shortened activated partial thromboplastin time and thrombin time were associated with prolonged prothrombin time. At the same time, inhibition of the anticoagulant component of hemostasis (decreased antithrombin III activity), exhaustion of the fibrinolysis system reserve (delayed fXIIa-dependent euglobulin lysis), and a significant increase in soluble fibrin monomeric complexes indicative of thrombinemia were observed. After two weeks, one and two months of nickel intoxication, a correlation was found between the major indices of the hemostasis system and the activities of lipid peroxidation and antioxidant enzymes. **Conclusion.** The study confirmed a relationship between the lipid peroxidation activity and the hemostasis system, specifically in chronic nickel intoxication. This result allows to recommend the use of antioxidants in developing methods for correction of hemostatic induced affected by heavy metals.

**Keywords:** nickel; lipid peroxidation; hemostasis.

**For citation:** Gagloeva E.M., Brin V.B., Skupnevskiy S.V., Botsieva N.V., Moldovan T.V. Effects of nickel chloride on indices of hemocoagulation and lipid peroxidation in rats. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2019; 63(1): 83-90. (in Russian).

**DOI:** 10.25557/0031-2991.2019.01.83-90

**For correspondence:** Brin Vadim Borisovich, Doctor of Medical Sciences, Head of the Department of Normal Physiology, North Ossetian State Medical Academy, Russia Ministry of Health, Vladikavkaz, Russia, 362019, North Ossetia–Alania, Pushkinskaya 40, e-mail: vbbrin@yandex.ru

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Acknowledgments.** The study had no sponsorship.

**Information about authors:**

Gagloeva E.M., <https://orcid.org/0000-0002-7220-1798>

Brin V.B., <https://orcid.org/0000-0001-8382-3210>

Skupnevskiy S.V., <https://orcid.org/0000-0002-6233-5944>

**Received** 11.03.2018

Botsieva N.V., <https://orcid.org/0000-0003-3829-3331>

Moldovan T.V., <https://orcid.org/0000-0002-6055-7092>

## Введение

Распространенность и длительность воздействия тяжелых металлов на организм человека обусловлены антропогенным загрязнением окружающей среды [1, 2]. Ранее было показано, что введение в организм животных солей тяжелых металлов оказывает патогенное влияние на сердечно-сосудистую систему, приводит к развитию артериальной гипертензии и кардиопатии, токсической нефро- и гепатопатии [2 – 4]. Установлено, что ведущими механизмами таких эффектов являются мембранотропное действие и оксидативный стресс [2, 5].

Известно, что при воздействии на организм любых неблагоприятных факторов одним из механизмов формирования адаптивного ответа является реакция свертывающей системы крови [6, 7]. Артериальная гипертензия, патология печени и почек, оксидативный стресс могут сопровождаться развитием коагулопатий [6, 8]. Роль тяжелых металлов в развитии коагулопатий недостаточно изучена. Существуют лишь единичные и противоречивые данные, где сообщается о разнонаправленных изменениях в системе гемостаза под влиянием различных соединений тяжелых металлов. Имеются сведения о том, что тяжелые металлы обладают прокоагу-

лянтной активностью в последовательности  $Ni^{2+} > Cu^{2+} > Co^{2+} > Zn^{2+}$ , обусловленной Хагеман-зависимой активацией внутреннего пути свертывания крови [9]. Токсическое влияние свинца [10], ртути и кадмия [11] на мембраны тромбоцитов приводит к увеличению их адгезивной и агрегационной активности, освобождению индукторов агрегации и вторичной активации коагуляционного звена гемостаза. Напротив, при никелевой интоксикации выявлены изменения системы гемостаза, проявляющиеся тенденцией к снижению агрегационной активности тромбоцитов у человека [12]. Такая противоречивость и разрозненность сведений определили цель настоящего исследования: изучить состояние системы гемостаза при хронической интоксикации хлоридом никеля, исследовать взаимосвязь показателей гемокоагуляции с процессами липопероксидации у крыс в эксперименте.

## Методика

Опыты проводились на крысах самцах Вистар массой 200–300 гр. Раствор хлорида никеля (II) вводили через атравматичный зонд в желудок (5 мг/кг) ежедневно в течение 2 нед (n=10 крыс), 1 и 2 мес (n=10 в каждом). При этом в единице раствора, равной 0,2 мл, со-

держалось 0,5 мг никеля (расчет по металлу), что не считается водной нагрузкой. Контролем служили 20 интактных животных с внутривенным введением соответствующего количества питьевой воды.

По окончании экспериментов у крыс под тиопенталовым наркозом (0,4 г на 100 гр) брали кровь из печеночного синуса. Стабилизацию и получение образцов плазмы крови осуществляли с учетом международных стандартов по клинической лабораторной диагностике для исследований гемостаза [6, 13]. Использование крыс в экспериментах осуществляли в соответствии с 11-й статьёй Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации, «Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием лабораторных животных» (1985) и правилами лабораторной практики в Российской Федерации (приказ МЗ РФ от 01.04.2016 г. № 199). Работа одобрена этической комиссией института.

Для оценки состояния гемостаза определяли: агрегацию тромбоцитов по G. Born [14] (агрегометр «Solar», индуктор – ADP, конечная концентрация 10,0 мкг/мл); спонтанную агрегацию тромбоцитов выявляли после включения магнитной мешалки без внесения индуктора [15]; активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ); протромбиновое время (ПВ); лебетоксовое время (ЛЕТ) [16], тромбиновое время (ТВ); содержание фибриногена по методу Клаусса; концентрацию растворимых фибрин–мономерных комплексов (РФМК) определяли с помощью количественного варианта фенантролинового теста [17]; активность антитромбина III (АТ III); XIIa- калликреин зависимый фибринолиз (XIIa-ЗЛ) [13]. Исследование гемокоагуляционных свойств крови проводилось по стандартным методикам [6, 13] с применением диагностических наборов фирмы «Технология стандарт», (Россия). Для оценки липидпероксидации и антиоксидантного потенциала определяли содержание: метгемоглобина по стандартной методике [18], малонового диальдегида (МДА) в эритроцитах [19], гидроперексид (ГП- диеновых конъюгатов и диеновых кетонов) в плазме крови [20], церулоплазмина (медная оксидаза) по реакции с п–фенилендиамином в ацетатном буфере [18]; исследовали активность супероксиддисмутазы (СОД) в эритроцитах [21], активность каталазы по методу E. Beutler [18]. Тесты выполнялись на спектрофотометре «Solar-300», турбидиметрическом коагулометре «CGL–2110» и агрегометре «AP–2110» Solar (Беларусь).

Статистическая обработка результатов проводилась с помощью пакета прикладных программ Statistica 10.0 (StatSoft, Inc.), Microsoft Excel 2003. Для ко-

личественной оценки данных рассчитывались статистические показатели с вычислением медианы (Me) и [25–75] перцентилей выборки. Для оценки статистической значимости различий использовался непараметрический U-критерий Манна–Уитни [22]. Для анализа силы взаимосвязей между исследуемыми параметрами рассчитывали коэффициент ранговой корреляции (г<sub>s</sub>) Спирмена. Для всех тестов статистически значимыми считались различия, уровень значимости которых отвечал условию  $p < 0,05$ .

## Результаты и обсуждение

Через 2 нед введения раствора хлорида никеля (II) через зонд в желудок у крыс выявлялась гиперкоагуляционная направленность изменений системы гемостаза (табл. 1). Наблюдалось увеличение агрегационной активности тромбоцитов и тенденция к возрастанию их количества в крови. Регистрировалось снижение АЧТВ (табл. 1). Содержание фибриногена в плазме увеличивалось. Это подтверждает данные о том, что активация системы гемостаза является одним из универсальных механизмов реализации и поддержания патохимических и патофизиологических реакций стресса в организме [7, 17].

Введение  $Ni^{2+}$  в течение 1 мес приводило у подопытных животных к росту прокоагулянтной активности. Выявлялась спонтанная агрегация тромбоцитов в 20% случаев. У крыс контрольной группы спонтанная агрегация отсутствовала. Степень АДФ–индуцированной агрегации тромбоцитов статистически значимо возрастала (табл. 1), сохранялась тенденция к увеличению количества тромбоцитов в плазме крови. Изменения плазменного гемостаза характеризовались хронометрической гиперкоагуляцией (по укорочению АЧТВ и ПВ). Содержание фибриногена сохранялось выше уровня контроля, но уменьшалось по сравнению с данными, полученными через 2 нед. Увеличение коагуляционного потенциала сопровождалось активацией противосвёртывающих и фибринолитических механизмов, о чем свидетельствуют увеличение активности АТ III и уменьшение времени XIIa–зависимого фибринолиза.

Длительное токсическое воздействие никеля (введение в течение 2 мес) приводит к коагуляционному дисбалансу, при этом в процесс вовлекается как начальный, так и конечный этапы гемокоагуляции. Наблюдается подавление активности клеточного звена гемостаза–тромбоцитопения. Выявляется ослабление степени АДФ–индуцируемой агрегации тромбоцитов относительно данных, полученных у опытных животных (табл. 1). Введение никеля в течение 2 мес при-

водит к ослаблению первоначально АДФ-индуцируемой агрегации тромбоцитов, наблюдаемой после введения никеля в течение 1 мес, но до уровня чуть выше значения в группе контроля.

После интоксикации никелем в течение 2 мес также регистрировалось увеличение протромбинового времени, что указывает на нарушения во внешнем пути гемокоагуляции. В данных условиях эксперимента можно высказать предположение о наличии дефицита факторов протромбинового комплекса (II, VII, X) вследствие их усиленного потребления при длительной стимуляции свертывающей системы крови, либо о наличии нарушения их синтеза вследствие уменьшения белково-синтетической функции печени при хронической интоксикации. Согласно ранее полученным данным, при никелевой интоксикация развивается токсическое поражение печени: выраженная паренхиматозная дистрофия гепатоцитов, венозное полнокровие, очаговые кровоизлияния, лимфогистиоцитарная инфильтрация стромы у крыс [4]. В то же время показатели лебетоксового теста (ЛЕТ) от контрольных данных не отличались. Коагулаза яда гюрзы (лебетокс) запускает процесс свертывания крови путем активации фактора X в присутствии фактора V и ионов Ca<sup>2+</sup>. При

дефиците фактора X время свертывания в лебетоксовом тесте возрастает [16], а при дефиците фактора VII коагуляционный эффект лебетокса не ослабляется в отличие от протромбинового теста (ПВ). Можно полагать, что выявленное нами изолированное увеличение времени свертывания по ПВ при нормальном ЛЕТ свидетельствует о снижении активности VII фактора. Среди всех факторов, синтезируемых в печени, VII фактор является наиболее чувствительным маркером печеночного повреждения [8], что связано с коротким временем его полужизни. В то же время совпадение результатов ЛЕТ в опытных и контрольных образцах плазмы крови в наших исследованиях говорит о том, что изменения активности факторов X, V, II и I компенсированы. Показано, что эффективное функционирование системы гемостаза возможно даже при значительном снижении содержания фактора VII в плазме крови, поскольку он выполняет свою единственную функцию в системе свертывания крови – индукцию коагуляционного гемостаза [6, 8, 13].

К концу 2-месячной интоксикации никелем выявлялось сокращение АЧТВ, регистрировалось ускоренное образование фибрина (по снижению протромбинового времени). Вместе с тем, происходило подавление

Таблица 1

**Влияние хлорида никеля на показатели системы гемостаза у крыс при хронической интоксикации в дозе 5 мг/кг массы тела по металлу**

Параметры	Контроль Интактный	NiCl <sub>2</sub> 2 нед	NiCl <sub>2</sub> 1 мес	NiCl <sub>2</sub> 2 мес
Количество тромбоцитов, 10 <sup>9</sup> /л	566 [499–575]	627 [549–664]	604 [539–641]	297 ***/ΔΔΔ [290–351]
АДФ-агрегация тромбоцитов, %	57,13 [46,67–60,88]	71,41 * [63,12–75,6]	75,34 ** [66,62–85,02]	60,28 ΔΔ [51,09–61,51]
Протромбиновое время, с	17,25 [15,37–19,98]	16,48 [14,1–16,73]	14,3 * [13,47–16,66]	21,25 */ΔΔ [19,4–22,08]
Лебетоксовое время, с	23,22 [20,47–25,89]	24,21 [20,22–26,8]	21,57 [20,37–24,22]	25,52 [21,4–27,33]
АЧТВ, с	27,32 [27,03–29,36]	23,48 *** [22,48–25,37]	22,45 *** [21,92–24,48]	22,28 *** [20,90–25,58]
Тромбиновое время, с	23,49 [22,49–24,37]	22,78 [21,85–25,0]	23,26 [22,85–25,96]	18,84 ***/ΔΔ [17,63–20,34]
Фибриноген, г/л	2,05 [1,99–2,95]	4,81 *** [4,35–5,4]	3,92 **/◇ [2,77–4,09]	1,94 ΔΔΔ [1,82–2,35]
XIIa – ЗЛ, с	682,3 [664,7–732,9]	593,5 [567–719]	480,49 *** [454,48–606,29]	856 *** /ΔΔΔ [798–1044]
Антитромбин (III), %	100,2 [95,27–112,03]	102,3 [100,4–117,5]	125,68 ** [109,12–127,048]	79,64 ***/ ΔΔΔ [77,26–91,21]
РФМК, мг/100мл	3,59 [2,65–4,0]	3,68 [2,88–4,14]	4,21 [3,28–4,94]	5,77 **/ΔΔ [4,43–6,17]

*Примечание.* Данные представлены в виде медианы, [25–75] проценти выборки, p – уровень статистической значимости различий сравниваемых показателей: / \* / \*\* / \*\*\* / – p ≤ /0,05 / 0,01 / 0,001/ – степень статистической значимости относительно контроля; / ◇ / – p ≤ /0,05 / 0,01 / 0,001/ –относительно опыта с NiCl<sub>2</sub> через 2 нед; / Δ / ΔΔ / ΔΔΔ / – p ≤ /0,05 / 0,01 / 0,001/ – относительно опыта с NiCl<sub>2</sub> через 1 мес; АЧТВ – активированное частичное тромбопластиновое время, РФМК – растворимые фибрин-мономерные комплексы, XIIa – ЗЛ – фактор Хагеман зависимый лизис.

активности АТ III и увеличение времени лизиса эуглобулиновой фракции плазмы. При этом уровень фибриногена снижался, приближаясь к контрольным значениям, относительно данных у опытных крыс, которым никель вводился в течение 1 мес. Содержание РФМК увеличилось, что свидетельствует о наличии гипертромбинемии [6]. Выявленные сдвиги гемостазиологических показателей могут указывать на формирование состояния «претромботической готовности» [13, 17] у экспериментальных животных через 2 мес введения соли никеля.

К настоящему времени накоплен богатый фактический материал, позволяющий выделить в качестве ведущего механизма нарушения клеточного метаболизма – активацию перекисного окисления липидов и окислительный стресс. Сведения о параллельной активации процессов липопероксидации и свертывания крови [23], а также данные о способности антиоксидантов ограничивать гемокоагуляционные сдвиги [12, 23] обосновали необходимость изучения взаимосвязи между свободнорадикальными процессами и гемостазом при хронической никелевой интоксикации, что до сих пор детально не исследовалось.

Данные, полученные у опытных животных, демонстрируют развитие окислительного стресса при хронической никелевой интоксикации, активацию прооксидантных процессов и угнетение антиоксидантного ферментного звена (табл. 2). Причем, выраженность патологических изменений фиксируется в логике «время экспозиции – ответ». Качественно схожие выводы о стрессогенном эффекте никеля были также получены

исследователями, изучавшими его действие на различные биосистемы [24].

Более детальный анализ данных табл. 2 показывает, что введение раствора хлорида никеля (II) сопровождается значительным нарастанием в крови животных опытной группы нефункционального пигмента – метгемоглобина. В основе этих данных могут лежать различные по своему механизму процессы. Во-первых, никель, являясь тяжелым металлом, относится к классу тиоловых ядов, тем самым обладая способностью ингибировать активность метгемоглобинредуктазы. Во-вторых, как видно из табл. 2, экспозиция хлоридом никеля приводит к липопероксидации, что неизбежно сопровождается истощением эндогенных восстановительных субстратов клетки, которые служат источником восстановительного потенциала для перевода MetHb–Fe(III)→Hb–Fe(II) с помощью метгемоглобинредуктазы.

Определенный интерес вызывают данные о низком содержании гидроперекисей (диеновых конъюгатов и диеновых кетонов) в плазме животных опытных групп (относительно интактной). Исходя из механизма их образования, логично было бы предположить, что данное обстоятельство является благоприятным прогностическим фактором, свидетельствующим об ингибировании процессов перекисной направленности. Однако, данная гипотеза не согласуется с результатами анализов измерения ТБК– активных веществ в крови (по наиболее характерному маркеру – МДА). Поэтому можно высказать предположение, что низкий уровень гидроперекисей не связан с улучшением

Таблица 2

**Влияние хлорида никеля на показатели системы ПОЛ–АОЗ у крыс при хронической интоксикации в дозе 5 мг/кг массы тела по металлу**

Параметры	Контроль интактный	Опыт – NiCl <sub>2</sub> в течение 2 нед	Опыт – NiCl <sub>2</sub> в течение 1 мес	Опыт – NiCl <sub>2</sub> в течение 2 мес
Метгемоглобин (%)	0,082 [0,062–0,111]	0,105 [0,095–0,137]	0,404**/◇◇ [0,209–0,442]	0,726**/△△ [0,454–0,745]
Малоновый диальдегид (мкмоль/л)	28,14 [27,74–29,89]	34,85*** [32,43–35,53]	41,61***/◇◇ [36,41–42,04]	47,62***△ [40,88–48,02]
Содержание гидроперекисей (233 нм)	0,0613 [0,0496–0,0768]	0,066 [0,0389–0,676]	0,0688 [0,0454–0,0726]	0,0229***/△△△ [0,0198–0,0304]
Содержание гидроперекисей (278нм)	0,0348 [0,025–0,039]	0,0204* [0,0202–0,0298]	0,0203*** [0,0153–0,0207]	0,018*** [0,0136–0,0193]
Церулоплазмин мг/л	254,7 [224,1–288,89]	300,45 [268,06–335,94]	378,4***/◇◇ [369,2–460,3]	510,3***/△△ [444,08–551,4]
Активность супероксиддисмутазы (ед.ингибир.,%)	72,18 [63,98–72,63]	69,09 [63,08–69,65]	61,71* [60,65–69,45]	57,88** [57,11–65,13]
Активность каталазы (*10 <sup>-4</sup> ME/rHb)	6,72 [5,02–7,23]	6,30 [4,70–6,78]	5,2 [4,45–6,09]	4,37* [4,0–5,39]

*Примечание.* Данные представлены в виде медианы, [25–75] проценти выборки, p – уровень статистической значимости различий сравниваемых показателей: / \* / \*\* / \*\*\* / – p ≤ /0,05 / 0,01 / 0,001/ – степень достоверности относительно контроля / ◇ / ◇◇ / ◇◇◇ / – p ≤ /0,05 / 0,01 / 0,001/ – относительно опыта с NiCl<sub>2</sub> через 2 нед. / △ / △△ / △△△ / – p ≤ /0,05 / 0,01 / 0,001/ – относительно опыта с NiCl<sub>2</sub> через 1 мес.

картины (что особенно заметно на 2-м мес интоксикации никелем). Это может быть обусловлено адаптационным срывом и истощением биоантиоксидантного пула, молекулы которого способны выступать в роли эффективных радикальных ловушек [25]. Результатом этого является линейное нарастание в крови уровня МДА, являющегося вторичным продуктом перекисной деструкции мембран клеток.

Состояние антиоксидантной системы в наших исследованиях охарактеризовано на основании изучения активности трех базовых ферментов: церулоплазмينا, супероксиддисмутазы и каталазы. Из табл. 2 видно, что поступление никеля (5 мг/кг) в организм животных во все сроки исследования приводит к увеличению содержания церулоплазмينا, определяющего активность СОД в плазме. Наибольший адаптивный эффект нарушен в группе, получавшей никель в течение 2 мес. Отмечается также [26], что экспонирование крыс солями никеля приводит к статистически значимому увеличению (более чем в 1,3 раза) в сыворотке крови меди, входящей в активный центр металлофермента.

Интрацеллюлярное звено антиоксидантной защиты, напротив, характеризуется планомерным снижением активности ферментов СОД и каталазы. К 2-й нед интоксикации фиксируется лишь общая отрицательная тенденция, отличия между опытной и контрольной группами статистически незначимы. Хроническое же поступление хлорида никеля приводит к выраженным изменениям, причем одним из механизмов отмеченной нами активации ПОЛ, может являться ослабление ферментативного звена антиоксидантной защиты, ведущее к инициации свободнорадикальных процессов. Таким образом, поступление хлорида никеля в организм животных сопровождается дисбалансом в системе ПОЛ – антиоксидантной защиты в сторону активации прооксидантного направления, а степень выявленных патологических изменений находится в прямой зависимости от длительности интоксикации.

Корреляционный анализ результатов проведенных экспериментов с никелевой интоксикацией в течение 2 мес выявил определенные взаимосвязи между показателями системы гемостаза и характером сдвигов ПОЛ–АОЗ у экспериментальных животных, причем сила и статистическая значимость связей возрастала соответственно длительности интоксикации.

Через 2 нед эксперимента выявлялась связь между уровнем МДА и степенью АДФ-агрегации тромбоцитов: коэффициент ранговой корреляции Спирмена  $r_s=0,67$ ;  $p<0,05$ . Выявлялась достоверная связь с увеличением концентрации фибриногена в плазме крови

( $r_s=0,76$ ,  $p<0,02$ ), что подчеркивает значение свободнорадикального окисления в развитии интоксикации.

Через 1 мес экспериментов возрастала сила связей МДА с изменением степени АДФ агрегации тромбоцитов ( $r_s=0,91$ ;  $p<0,001$ ) и уровня фибриногена в плазме крови ( $r_s=0,88$ ,  $p<0,01$ ). Выявлена корреляция с ростом АТ III ( $r_s=0,68$ ;  $p<0,05$ ) и сокращением времени эуглобулинового фибринолиза ( $r_s=-0,72$ ,  $p<0,05$ ).

К концу эксперимента (через 2 мес интоксикации) выявлена значимая положительная корреляция АТ III с активностью антиоксидантных ферментов СОД ( $r_s=0,77$ ;  $p<0,02$ ) и каталазой ( $r_s=0,73$ ;  $p<0,05$ ). Выявлялась высокая степень корреляции показателей фибринолитической системы (по времени ХПа–ЗЛ) со снижением СОД и энзиматической активностью каталазы ( $r_s=-0,84$ ;  $p<0,01$  и  $r_s=-0,69$ ;  $p<0,05$ ), что может свидетельствовать о роли свободнорадикального окисления в угнетении фибринолиза при никелевой интоксикации. Тесно положительно ассоциированы сдвиги показателей РФМК и сдвиги МДА ( $r_s=0,77$ ;  $p<0,02$ ), а со сдвигами СОД отрицательно и менее тесно ( $r_s=-0,65$ ;  $p<0,05$ ).

## Заключение

Проведенные исследования показали, что внутрижелудочное введение хлорида никеля ежедневно в течение 2 мес способствует развитию токсической коагулопатии. Полученные данные подтверждают существование взаимосвязи активности процессов липопероксидации и системы гемостаза [23, 27, 28], а также наличие связи данных у крыс при хронической никелевой интоксикации. Результаты исследования позволяют рекомендовать применение антиоксидантов для разработки способов коррекции гемостатических сдвигов при воздействии на организм тяжелых металлов.

## Литература

1. Авцын А.П., Жаворонков М.А., Риш Л.С., Строчкова С.С. *Микроэлементозы человека*. М.; Медицина; 1991.
2. Дзугоева Ф.С., Такоева Е.А. Патобиохимические механизмы токсического влияния хлорида никеля в эксперименте у крыс. *Вестник новых медицинских технологий*. 2009; 16(3): 36–7.
3. Брин В.Б., Кокаев Р.И. Эффекты хлорида никеля на фоне кальцитонин-опосредованной гипокальциемии. *Владикавказский медико-биологический вестник*. 2015; 21(31): 19–24.
4. Албегова Ж.К., Брин В.Б., Молдован Т.В., Закс Т.В. Влияние хронической интоксикации хлоридом никеля на морфологические изменения внутренних органов и накопление металла у крыс. *Вестник новых медицинских технологий*. 2011; 18 (1): 159–61.
5. Arif Tasleem Jan, Mudsser Azam, Kehkashan Siddiqui, Arif Ali, Inho Choi, Qazi Mohd. Rizwanul Haq. Heavy Metals and Human Health: Mechanistic Insight into Toxicity and Counter Defense System of

- Antioxidants. *Int. J. Mol. Sci.* 2015; 16: 29592–630 (www.mdpi.com/journal/ijms).
6. Петрищев Н.Н., Папаян Л.П. *Гемостаз. Физиологические механизмы, принципы диагностики основных форм геморрагических заболеваний.* СПб; 1999.
  7. Киселёв В.И., Шахматов И.И., Вдовин В.М., Лычева Н.А., Алексеева О.В. Бондарчук Ю.А. и др. Однократное длительное действие стрессоров различной природы в развитии ДВС-синдрома у крыс. *Бюллетень сибирской медицины.* 2014; 13(6): 131–8.
  8. Батырова А.С., Баканов М.И., Сурков А.Н. Современные представления о системе гемостаза при хронических заболеваниях печени. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2015; (8): 40–7.
  9. Mutch NJ1, Waters EK, Morrissey JH. Immobilized transition metal ions stimulate contact activation and drive factor XII-mediated coagulation. *J Thromb Haemost.* 2012; 10(10): 2108–15. DOI: 10.1111/j.1538-7836.2012.04890.x.
  10. Podolyan S.K. Effect of lead chloride on the system of regulation of the aggregate state of blood in white rats. *Bukovins'kiy medichniy visnik.* 1998; 3: 131–6. (in Ukrainian).
  11. Arbi S, Oberholzer HM, Van Rooy MJ, Venter C, Bester MJ. Effects of chronic exposure to mercury and cadmium alone and in combination on the coagulation system of Sprague–Dawley rats. *Ultrastruct Pathol.* 2017; 15: 1-9. DOI:10.1080/01913123.2017.1327909
  12. Chen C.Y., Lin T.H. Effects of nickel chloride on human platelets: enhancement of lipid peroxidation, inhibition of aggregation and interaction with ascorbic acid. *Journal of Toxicology and Environmental Health Part A.* 2001; 62(6): 431–8.
  13. Баркаган З.С., Момот А.П. *Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза.* Ньюдиамед–АО; 2008.
  14. Born G.V. Aggregation of blood platelets by adenosine diphosphate and its reversal. *Nature.* 1962; 194(9): 927–9.
  15. Лапотников В.А., Хараш Л.М. Возможности метода определения спонтанной агрегации тромбоцитов. *Военно-медицинский журнал.* 1982; (8): 68–9.
  16. Баркаган З.С., Цывкина Л.П. *Диагностика нарушений гемостаза с помощью змеиных ядов. Методические рекомендации МЗ СССР.* Москва; 1988.
  17. Момот А.П., Цывкина Л.П., Тараненко И.А. *Современные методы распознавания тромбоцитической готовности.* Барнаул: Издательство Алтайского университета; 2011.
  18. Данилова Л.А. *Справочник по лабораторным методам исследования.* СПб.; Питер; 2003.
  19. Asakawa T., Matsushita S. Coloring conditions of thiobarbituric acid test for detecting lipid hydroperoxides. *Lipids.* 1980; 15: 137–40.
  20. Камышников В.С. *Клинико-биохимическая лабораторная диагностика. Справочник.* Мн.; Интерпрессервис; 2003.
  21. Сирота Т.В. Новый подход в исследовании процесса аутоокисления адреналина и использование его для измерения активности супероксиддисмутазы. *Вопросы медицинской химии.* 1999; 45(3): 263–72.
  22. Стентон Гланц. *Медико-биологическая статистика.* М.; Практика; 1999.
  23. Бышевский А.Ш., Карпова И.А., Полякова В.А. *Внутрисосудистое свертывание крови, коагулоактивность тромбоцитов и толерантность к тромбину.* М.; 2015.
  24. Chang–Yu Chen. Nickel–induced plasma lipid peroxidation and effect of antioxidants in human blood: involvement of hydroxyl radical formation and depletion of alpha–tocopherol. *Journal of Toxicology and Environmental Health.* 2002; 189: 843–52.
  25. Сазонтова Т.Г., Архипенко Ю.В. Значение баланса прооксидантов и антиоксидантов – равнозначных участников метаболизма. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2007; 3: 2-18.
  26. Manoj Misra. Nickel induced lipid peroxidation in the rat: correlation with nickel effect on antioxidant defense systems. *Toxicology.* 1990; 64: 1–17.
  27. Зубаиров Д.М. Современные доказательства концепции непрерывного свертывания крови в организме. *Тромбоз, гемостаз и реология.* 2010; 1: 17–21.
  28. Кузник Б. И. *Клеточные и молекулярные механизмы регуляции системы гемостаза в норме и патологии: монография.* Чита: Экспресс-издательство; 2010. (ISBN 978-5-9566-0253-9).

## References

1. Avcyn A.P., Zhavoronkov M.A., Rish L.C., Strochkova S.S. *Microelementoses of man. [Mikroelementozy cheloveka].* Moscow; Meditsina; 1991. (in Russian)
2. Dzugkoeva F.S., Takoeva E.A. Pathobiochemical mechanisms of toxic effect of nickel chloride in experiments in rats. *Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy.* 2009; 16(3): 36-7. (in Russian)
3. Brin V.B., Kokaev R.I. Effects of nickel chloride on the background of calcitonin-mediated hypocalcemia. *Vladikavkazskiy medikobiologicheskiiy vestnik.* 2015; 21(31): 19-24. (in Russian)
4. Albegova Zh.K., Brin V.B., Moldovan T.V., Zaks T.V. Effect of chronic intoxication with nickel chloride on the morphological changes in internal organs and the accumulation of metal in rats. *Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy.* 2011; 18 (1): 159–61. (in Russian)
5. Arif Tasleem Jan, Mudsser Azam, Kehkashan Siddiqui, Arif Ali, Inho Choi, Qazi Mohd. Rizwanul Haq. Heavy Metals and Human Health: Mechanistic Insight into Toxicity and Counter Defense System of Antioxidants. *Int. J. Mol. Sci.* 2015; 16: 29592–630 (www.mdpi.com/journal/ijms).
6. Petrishhev N.N., Papayan L.P. *Hemostasis. Physiological mechanisms, principles of diagnosis of the main forms of hemorrhagic diseases. [Fiziologicheskiye mekhanizmy, printsipy diagnostiki osnovnykh form gemorragicheskikh zabolevaniy].* Sankt–Peterburg; 1999. (in Russian)
7. Kisel'ov V.I., Shahmatov I.I., Vdovin V.M., Lycheva N.A., Alekseeva O.V., Bondarchuk Ju.A. et al. A single long-term action of stressors of different nature in the development of DIC syndrome in rats. *Bulleten' sibirskoy meditsiny.* 2014; 13(6): 131–8. (in Russian)
8. Batyrova A.S., Bakanov M.I., Surkov A.N. Modern ideas about the system of hemostasis in chronic liver diseases. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika.* 2015; 8: 40–7. (in Russian)
9. Mutch NJ1, Waters EK, Morrissey JH. Immobilized transition metal ions stimulate contact activation and drive factor XII-mediated coagulation. *J Thromb Haemost.* 2012; 10(10): 2108–15. DOI: 10.1111/j.1538-7836.2012.04890.x.
10. Podolyan S.K. Effect of lead chloride on the system of regulation of the aggregate state of blood in white rats. *Bukovins'kiy medichniy visnik.* 1998; 3: 131–6. (in Ukrainian)
11. Arbi S, Oberholzer HM, Van Rooy MJ, Venter C, Bester MJ. Effects of chronic exposure to mercury and cadmium alone and in combination on the coagulation system of Sprague–Dawley rats. *Ultrastruct Pathol.* 2017; 15: 1-9. DOI:10.1080/01913123.2017.1327909
12. Chen C.Y., Lin T.H. Effects of nickel chloride on human platelets: enhancement of lipid peroxidation, inhibition of aggregation and in-

- teraction with ascorbic acid. *Journal of Toxicology and Environmental Health Part A*. 2001; 62(6): 431–8.
13. Barkagan Z.S., Momot A.P. *Diagnosis and controlled therapy of hemostasis disorders. [Diagnostika i kontroliruyemaya terapiya narusheniya gemostaza]*. N'yudiamed—AO; 2008. (in Russian).
  14. Born G.V. Aggregation of blood platelets by adenosine diphosphate and its reversal. *Nature*. 1962; 194(9): 927–9.
  15. Lapotnikov VA, Kharash LM Possibilities of the method for determining spontaneous platelet aggregation. *Voyenno-med. zhurn*. 1982; (8): 68-9. (in Russian)
  16. Barkagan Z.S., Cыvkina L.P. *Diagnosis of violations of hemostasis with the help of snake venoms. [Diagnostika narusheniya gemostaza s pomoshch'yu zmeinykh yadov]*. Methodical recommendations of the Ministry of Health of the USSR. Moscow; 1988. (in Russian)
  17. Momot A.P., Cыvkina L.P., Taranenko I.A. *Modern methods of recognition of thrombotic readiness. [Sovremennyye metody raspoznavaniya tromboticheskoy gotovnosti]*. Barnaul, Izdatel'stvo Altayskogo universiteta; 2011. (in Russian)
  18. Danilova L.A *Handbook on laboratory methods of research. [Spravochnik po laboratornym metodam issledovaniya]*. Sankt Peterburg, Piter; 2003. (in Russian)
  19. Asakawa T., Matsushita S. Coloring conditions of thiobarbituric acid test for detecting lipid hydroperoxides. *Lipids*. 1980; 15: 137–40.
  20. Kamyshnikov V.S. *Clinical and biochemical laboratory diagnostics. Directory. [Kliniko—biokhimicheskaya laboratornaya diagnostika. Spravochnik]*. Mн.: Interpresservis; 2003. (in Russian)
  21. Sirota T.V. A new approach in the study of the process of auto oxidation of adrenaline and its use for measuring the activity of superoxide dismutase. *Voprosy meditsinskoy khimii*. 1999; 45(3): 263–72. (in Russian)
  22. Stenton Glanc. *Medico-biological statistics. [Mediko-biologicheskaya statistika]*. Moscow; Praktika; 1999. (in Russian)
  23. Byshevskiy A.Sh., Karpova I.A., Polyakova V.A. *Intravascular coagulation, coaguloactivity of thrombocytes and tolerance to thrombin. [Vnutrisosudistoye svertyvaniye krovi, koaguloaktivnost' trombotsitov i tolerantnost' k trombinu]*. Moscow; 2015. (in Russian)
  24. Chang—Yu Chen. Nickel—induced plasma lipid peroxidation and effect of antioxidants in human blood: involvement of hydroxyl radical formation and depletion of alpha—tocopherol. *Journal of Toxicology and Environmental Health*. 2002; 189: 843–52.
  25. Sazontova T.G., Arkhipenko Yu.V. Implications of the balance between pro-oxidants and anti-oxidants — equisignificant components of metabolism. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya*. 2007; 3:2-18. (in Russian)
  26. Manoj Misra. Nickel induced lipid peroxidation in the rat: correlation with nickel effect on antioxidant defense systems. *Toxicology*. 1990; 64: 1–17.
  27. Zubairov D.M. Modern evidence of the concept of continuous blood clotting in the body. *Tromboz, gemostaz i reologiya*. 2010; 1: 17-21.
  28. Kuznik B.I. Cellular and molecular mechanisms of hemostasis regulation in norm and pathology: monograph. *[Kletochnyye i molekulyarnyye mekhanizmy regulyatsii sistemy gemostaza v norme i patologii: monografiya]*. Chita: Ekspress-izdatel'stvo; 2010. (ISBN 978-5-9566-0253-9). (in Russian)

#### Сведения об авторах:

**Брин Вадим Борисович**, доктор мед. наук, проф., зав каф. нормальной физиологии ФГБОУ ВО СОГМА; зав. отделом физиологии и патологии висцеральных систем ФГБУН ВНЦ РАН и РСО-А;

**Гаглоева Эльмира Муратовна**, канд. мед. наук, ассистент каф. нормальной физиологии ФГБОУ ВО СОГМА;

**Скупневский Сергей Валерьевич**, канд. биол. наук, доцент каф. химии и физики ФГБОУ ВО СОГМА; зав. отделом медико-генетических исследований ФГБУН ВНЦ РАН и РСО-А;

**Боцьева Надежда Викторовна**, канд. мед. наук, доцент каф. нормальной физиологии ФГБОУ ВО СОГМА;

**Молдован Татьяна Васильевна**, канд. мед. наук, доцент каф. нормальной физиологии ФГБОУ ВО СОГМА.