

### **ВЛИЯНИЕ ПРОЦЕССОВ ПЕРОКСИДАЦИИ В ТРОМБОЦИТАХ НА СИСТЕМУ ГЕМОСТАЗА ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ СЕРОВОДОРОДСОДЕРЖАЩЕГО ГАЗА**

*Е.В. Голубкина\*, О.С. Дюкарева\*, Н.Н. Тризно\*, Л.А. Удочкина\*, М.Н. Тризно\**

\*Астраханский государственный медицинский университет  
(г. Астрахань)

Цель исследования – охарактеризовать механизм повреждений компонентов системы гемостаза и антиоксидантных ферментов вследствие хронического воздействия сероводородсодержащего газа Астраханского газоконденсатного месторождения и оценить влияние корректирующих средств. Изучены следующие показатели системы гемостаза у 59 белых лабораторных крыс: количество тромбоцитов, индуцированная агрегация пластинок, время свертывания, содержание растворимых фибрин-мономерных комплексов и D-димера, время Хагеман-зависимого эуглобулинового лизиса, активность фактора VIII и ингибитора тканевого активатора плазминогена 1. Состояние процессов перекисного окисления липидов в тромбоцитах определяли по уровням малонового диальдегида, диеновых конъюгатов в них. Антиоксидантную защиту изучали по активности тромбоцитарных каталазы и супероксиддисмутазы. Кровь забирали из брюшной аорты (*pars abdominalis aortae*). Животных поделили на группы: 1) контрольная ( $n = 12$ ); 2) группа, подвергаемая воздействию газа ( $n = 19$ ); 3) группа, подвергаемая воздействию газа и коррекции состояния дипиридамомол (*Dipyridamole*) ( $n = 14$ ); 4) группа, подвергаемая воздействию газа и коррекции состояния ДНК-аптамером – ингибитором тромбина (RE-31) ( $n = 14$ ). Режим воздействия сероводородсодержащего газа в концентрации  $70 \pm 2,34$  мг/м<sup>3</sup> по сероводороду соответствовал схеме: 4 ч в день, 5 дней в неделю, 4 месяца. Выявлено, что к четвертому месяцу ингаляции сероводородсодержащим газом у крыс увеличился прокоагулянтный потенциал плазмы крови, а следовательно, появились условия для формирования тромбов. Дипиридамомол понизил агрегационную готовность тромбоцитов, уровень малонового диальдегида и диеновых конъюгатов. Аптамер увеличил общее время свертывания, понизил уровень растворимых фибрин-мономерных комплексов, D-димера, фактора VIII и ингибитора тканевого активатора плазминогена 1. Положительный эффект примененных корректирующих средств указывает на активацию процессов липопероксидации и их взаимосвязь с возросшей агрегативной готовностью тромбоцитов на фоне хронического воздействия сероводородсодержащего газа.

**Ключевые слова:** *система гемостаза, тромбин, тромбоцит, сероводородсодержащий газ, ДНК-аптамер, ингибитор тромбина, дипиридамомол.*

---

**Ответственный за переписку:** Голубкина Екатерина Валерьевна, *адрес:* 414000, г. Астрахань, ул. Бакинская, д. 121; *e-mail:* neiron-2010@mail.ru

**Для цитирования:** Голубкина Е.В., Дюкарева О.С., Тризно Н.Н., Удочкина Л.А., Тризно М.Н. Влияние процессов пероксидации в тромбоцитах на систему гемостаза при воздействии сероводородсодержащего газа // Журн. мед.-биол. исследований. 2019. Т. 7, № 1. С. 40–48. DOI: 10.17238/issn2542-1298.2019.7.1.40

Не подлежит сомнению, что система гемостаза и свободнорадикальные процессы (СРП) взаимосвязаны друг с другом [1–3]. Обнаружено, что продукты перекисного окисления липидов (ПОЛ) выступают в качестве не только цитотоксикантов, но и вторичных биосигнальных молекул в тромбоцитах, лейкоцитах, эндотелиоцитах и т. д. [3–5]. Определяющим фактором конечного эффекта прооксиданта является количество образуемых активных молекул [6, 7]. Чем продолжительнее воздействие провокатора ПОЛ, тем интенсивнее процессы ПОЛ, альтерация эндотелия, тромбоцитов и повышение адгезивно-агрегационной готовности последних [4, 5, 8]. Интенсификация СРП в пластинках крови ведет к образованию тромбосана и тромбозам – вплоть до синдрома перекисидации, а также к активации системы гемостаза, повышению уровня тромбина [3, 9].

Описываемые изменения могут происходить в условиях неблагоприятной экологической обстановки, например в среде с повышенным содержанием воздушных поллютантов. В качестве активатора процессов ПОЛ при повреждении сосудистого эндотелия может рассматриваться сероводородсодержащий газ (ССГ) Астраханского газоконденсатного месторождения, обладающий широким диапазоном физиологических эффектов: от гипокоагулянта и вазодилатора до гиперагреганта – в зависимости от продолжительности воздействия [10–13]. Интерес ученых к данному соединению обусловлен возможностью рассматривать его неоднозначное физиологическое значение – регулятора в случае эндогенного происхождения и ингаляционного поллютанта при экзогенном поступлении аэрогенным путем [14, 15].

Особая роль в процессах ПОЛ принадлежит тромбоцитам, т. к. это основные источники перексидов в крови [2]. Плазма без тромбоци-

тов имеет незначительное количество продуктов ПОЛ. Пластинки крови одними из первых структур в организме реагируют на изменения окружающей среды путем активации внутриклеточного метаболизма [7, 8].

Учитывая интерес по всему миру к ССГ как одному из трех важных газотрансмиттеров и неоднозначность взглядов на физиологическую роль хронического воздействия природного газа, было принято решение о проведении данного исследования. Актуальным представляется изучение процессов ПОЛ в тромбоцитах на фоне хронического действия ССГ с последующим подбором таких средств коррекции, которые бы позволили воздействовать на сосудисто-тромбоцитарное и плазменное звенья системы гемостаза и оптимизировать состояние антиоксидантной системы.

**Материалы и методы.** В эксперименте было использовано 59 белых лабораторных крыс-самцов. Исследование проводилось в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приложение к приказу Минздрава СССР от 12.08.1977 г. № 755) и принципами «Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях»<sup>1</sup>.

Крыс поделили на группы: 1) интактные («Контроль»;  $n = 12$ ); 2) подверженные воздействию ССГ («ССГ»;  $n = 19$ ); 3) подверженные воздействию ССГ и коррекции состояния дипиридамомом («ССГ+дипиридамом»;  $n = 14$ ); 4) подверженные воздействию ССГ и коррекции состояния ДНК-аптамером – ингибитором тромбина (RE-31) («ССГ+аптамер»;  $n = 14$ ). Животных опытных групп помещали в условия хронического воздействия ССГ – в камеры объемом 200 л с концентрацией воздушно-газовой смеси по сероводороду  $70 \pm 2,34$  мг/м<sup>3</sup> на 4 ч,

<sup>1</sup>Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях / под ред. Н.Н. Каркищенко, С.В. Грачева. М.: Профиль-2С, 2010. 358 с; Шельгин К.В., Курпич И.А., Леонтьев В.Я., Соловьев А.Г. Использование лабораторных животных в токсикологическом эксперименте (методические рекомендации) / под ред. П.И. Сидорова. Архангельск, 2002. 98 с.

5 дней в неделю в течение 4 месяцев<sup>2</sup>; животных контрольной группы помещали в камеру на тот же срок, но без ССГ.

Дипиридамо́л (0,5 %-й раствор) вводили курсом последние 12 дней четвертого затривочного месяца внутримышечно (3 мг/кг массы тела). Аптамер – ингибитор тромбина (RE-31) вводили однократно подкожно (0,1 мл) с последующим забором крови на 30-й минуте.

Забор крови у крыс производили однократно из брюшной аорты (*pars abdominalis aortae*) после наркотизации тиопенталом натрия (40 мг/кг).

Количество тромбоцитов (PLT) подсчитывали в камере Горяева [16]. Индуцированную агрегацию тромбоцитов (ИАТ) определяли с помощью набора «Агрескрин-тест» («Технология-Стандарт», г. Барнаул). Бедную тромбоцитами артериальную плазму крови исследовали на коагуляционный потенциал по следующим показателям: общее время свертывания (ВС) [16], уровни растворимых фибрин-мономерных комплексов («РФМК-тест», «Технология-Стандарт», г. Барнаул), D-димеров (тест D-Dimer-Check-1 фирмы VEDALAB, Франция), фактора VIII (фVIII) (субстратная плазма с глубоким дефицитом по фVIII + АПТВ-реагент, «Технология-Стандарт», г. Барнаул), скорость фXIIa-зависимого эуглобулинового лизиса (фXIIa-ЭЛ) («Фибринолиз-тест» + + стрептокиназа, «Технология-Стандарт», г. Барнаул). Активность ингибитора активатора плазминогена 1 (ИТАП-1) (диагностикум Berichrom PAI, Siemens Healthcare Diagnostics Products GmbH, Германия), фактора Виллебранда (fW) определяли с помощью спектрофотометра ПЭ-5400 В (ООО «ПромЭкоЛаб», Россия). Оценку ПОЛ в тромбоцитах осуществляли по уровням малонового диальдегида (МДА), диеновых конъюгатов (ДК). Антиоксидантный статус (АОС) исследовали по активности каталазы и супероксиддисмутазы (СОД) [17].

Для статистической обработки данных использовали OpenOffice Calc в OpenOffice (v. 3.0) и программу SPSS Statistics 21 для Windows 10. Устанавливали среднее арифметическое ( $M$ ), стандартное отклонение ( $s$ ) и вероятность различия ( $p$ ). Нормальность распределения определяли с помощью критерия Колмогорова–Смирнова, различия между выборками оценивали с помощью критерия Стьюдента.

**Результаты.** Как видно из *таблицы*, через 4 месяца хронического воздействия ССГ в тромбоцитах крыс значительно возросло содержание МДА ( $p < 0,001$ ), уровень ДК также увеличился ( $p < 0,001$ ). Активность каталазы и СОД в тромбоцитах уменьшилась по сравнению с контрольной группой ( $p < 0,05$  и  $p < 0,01$  соответственно).

Через 4 месяца хронического воздействия ССГ в артериальной крови крыс уменьшилось число тромбоцитов ( $p < 0,05$ ), увеличилась их агрегационная способность ( $p < 0,05$ ).

Отмечено уменьшение ВС ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контрольной группой. Возросли содержание РФМК ( $p < 0,001$ ) и количество крыс с превышенным пороговым уровнем D-димера ( $p < 0,001$ ). Зафиксировано увеличение показателя фXIIa-ЭЛ ( $p < 0,05$ ), содержания фVIII ( $p < 0,05$ ) и fW ( $p < 0,05$ ). Значительно возросла активность ИТАП-1 ( $p < 0,001$ ).

После применения дипиридамола содержание МДА понизилось на 31,9 % ( $p < 0,01$ ), а количество ДК – на 10,5 % ( $p < 0,05$ ) по сравнению с группой «ССГ». Активность каталазы возросла на 22 % ( $p < 0,01$ ), а СОД – на 64,2 % ( $p < 0,001$ ) в сравнении с группой «ССГ». Возросло содержание тромбоцитов ( $p < 0,01$ ), а функциональная активность пластинок крови значительно понизилась ( $p < 0,01$ ). Время свертывания уменьшилось ( $p < 0,05$ ) по сравнению с группой «ССГ». Уровни маркеров активации системы гемостаза (РФМК, D-димер), а также фVIII статистически значимо не изменились в данной опытной группе. Значительно понизи-

<sup>2</sup>Шельгин К.В., Курпич И.А., Леонтьев В.Я., Соловьев А.Г. Использование лабораторных животных в токсикологическом эксперименте (методические рекомендации) / под ред. П.И. Сидорова. Архангельск, 2002. 98 с.

ВЛИЯНИЕ СЕРОВОДОРОДСОДЕРЖАЩЕГО ГАЗА (70 мг/м<sup>3</sup>, 4 месяца)  
И КОРРИГИРУЮЩИХ СРЕДСТВ НА ПАРАМЕТРЫ ПОЛ, АОС  
И СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА У КРЫС (M±s)

Показатель	Группа крыс			
	Контроль (n = 12)	ССГ (n = 19)	ССГ + дипиридабол (n = 14)	ССГ + аптамер (n = 14)
МДА, нмоль/мг белка	12,9±0,63	24,8±0,87***	16,9±0,26**##	24,7±0,60
ДК, нмоль/мг белка	19,8±0,76	35,1±1,29***	31,4±0,53*#	34,9±0,31
Каталаза, Мкат/л*10 <sup>3</sup>	320,7±5,43	286,6±5,35*	349,6±6,54**#	286,0±3,95
СОД, %	47,8±1,86	34,9±1,58**	57,3±0,65***##	34,8±0,43
PLT x 10 <sup>9</sup> /л	769±6,78	629±4,54*	778±6,54**	631,1±5,42
ИАГ, %	100±4,90	116,4±3,41*	88,3±4,12**	101±3,69*
ВС, мин	5,95±0,67	5,2±0,62*	5,7±0,32*	6,6±0,21**#
РФМК, мг/100 мл	3,2±0,11	4,3±0,45***	4,0±0,12	3,1±0,14***#
D-димер, % особей	abs	78,95	78,57	50
фХПа-ЭЛ, мин	7,9±0,65	8,8±0,96	8,1±0,75	7,2±0,56*#
fW, %	96,2±2,34	116,6±2,68*	116,3±2,57	91,4±2,41*#
фVIII, %	85,6±1,56	101,4±2,37*	98,9±2,96	85,9±1,98*#
ИТАП-1, ЕД/мл	2,75±0,34	4,35±1,22***	3,9±0,12*	3,1±0,18***#

Примечание. Уровень статистической значимости различий: \* – от показателей контрольной группы (\* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$ ; \*\*\* –  $p < 0,001$ ); # – от показателей группы «ССГ» (# –  $p < 0,05$ ; ## –  $p < 0,01$ ).

лась активность ИТАП-1 по сравнению с группой «ССГ» ( $p < 0,05$ ).

После применения аптамера АОС не изменился по сравнению с группой «ССГ». У крыс группы «ССГ+аптамер» в наибольшей степени выявлены изменения коагуляционного звена системы гемостаза. Так, ВС увеличилось ( $p < 0,01$ ), содержание фVIII и fW достоверно уменьшились ( $p < 0,05$ ) по сравнению с группой «ССГ».

В данной группе крыс также были понижены содержание РФМК ( $p < 0,01$ ) и количество крыс со сверхпороговым уровнем D-димера ( $p < 0,05$ ). Активность ИТАП-1 в плазме животных была значительно меньше по сравнению с группой «ССГ» ( $p < 0,01$ ).

Примечателен факт положительного влияния аптамера и на сосудисто-тромбоцитарное звено. В частности, зафиксировано уменьшение функциональной активности пластинок крови по сравнению с группой «ССГ» ( $p < 0,05$ ).

Аптамер значимо увеличил скорость лизиса фибринового сгустка ( $p < 0,05$ ).

**Обсуждение.** В процессе четырехмесячной хронической ингаляции ССГ сосудистый эндотелий повреждается, а значит, перестает быть целостным структурным «остовом», обеспечивающим гипоагрегационную функцию тромбоцитов, а также баланс между про- и антикоагулянтами [18]. Наше исследование достоверно показало, что агрегация тромбоцитов сопряжена с ПОЛ: при регулярном контакте ССГ с мембранами тромбоцитов растет содержание МДА и других липоперекисей, ускоряется синтез тромбоксана, падает антиоксидантный потенциал. В итоге нарушается структура мембран, ускоряется высвобождение коагулоактивных факторов (тканевого фактора, fW, ИТАП-1). Одновременно поврежденным субэндотелиальным слоем экспрессируется тканевый фактор и запускается

процесс тромбинообразования. Так как накопление МДА – признак активации синтеза тромбоксана А<sub>2</sub>, можно допускать, что интенсивность липопероксидации и прокоагулянтная активность растут параллельно [3, 9].

Деструктивные процессы на уровне эндотелиоцитов, вызванные поллютантом, приводят к активации процессов ПОЛ, а следовательно, и пластинок крови. В ходе эксперимента мы наблюдаем последствия реализации данного механизма в виде снижения числа тромбоцитов. Последний факт можно объяснить либо повышенным потреблением пластинок крови, либо снижением их производства, что, конечно, требует дальнейшего детального изучения костного мозга.

Одним из наиболее важных факторов, влияющих на показатели гемостаза, является степень активности процессов ПОЛ. На выраженность процессов ПОЛ оказал воздействие временной фактор хронической экзогенной ингаляции сероводородным поллютантом. Так, мы видим увеличение содержания продуктов липопероксидации в тромбоцитах к концу затравочного периода: как ранних (ДК), так и поздних (МДА), что говорит об интенсификации процессов ПОЛ газовым поллютантом. Учитывая способность сероводорода в составе природного газа проникать без молекул-посредников в клеточные мембраны и блокировать дыхательную цепь митохондрий на уровне цитохрома аа<sub>3</sub>, очевидно, что рост уровней МДА и ДК – это следствие контакта ССГ с мембраной тромбоцитов.

Состояние антиоксидантной системы в тромбоцитах к концу затравочного периода можно охарактеризовать как подавленное. Так, уровень каталазы и СОД значительно ниже в группе «ССГ» по сравнению с контрольной. В условиях активации образования продуктов липопероксидации антирадикальные ферменты по мере увеличения продолжительности ингаляции ССГ активно потребляются, что приводит к их истощению. Факторами, способствующими уменьшению уровня каталазы и СОД, являются также ацидоз и гипоксия смешанного генеза [18].

Активность fW увеличилась к концу хронического воздействия ССГ. Учитывая, что прокоагулянт имеет центры связывания и с тромбоцитами (способствуя их адгезии и агрегации), и с коллагеном базальной мембраны субэндотелия (образуя комплекс с фVIII, предохраняющий его от протеолиза), можно предположить, что в рост коагуляционного потенциала плазмы свою долю вносит и повышенный синтез fW поврежденным эндотелием в процессе затравки ССГ. Известно, что рост содержания фVIII, продуцируемого сосудистым эндотелием, является предиктором протромботической активности плазмы [6, 9].

Следовательно, в результате деструкции эндотелиоцитов под воздействием ПОЛ баланс системы гемостаза смещается в сторону гиперкоагуляции, т. к. растет количество прокоагулянтов, синтезируемых поврежденным эндотелием: фVIII, fW, ИТАП-1. Последний изначально синтезируется с тканевым активатором плазминогена в относительно эквивалентных количествах, достаточных для поддержания гемостатического равновесия, а его избыток поглощается тромбоцитами. Но по мере увеличения продолжительности экзогенного воздействия ССГ, разрушения мембран пластинок и активации ПОЛ ИТАП-1 выделяется в плазму, подавляя фибринолиз. В совокупности мы наблюдаем увеличение времени фXIIa-зависимого лизиса фибрина и сокращение ВС.

На ослабление контроля за поддержанием баланса системы гемостаза указывает также рост уровня D-димера – продукта плазминового расщепления фибрина. Данный факт говорит об активации системы гемостаза в процессе хронического воздействия ССГ.

Учитывая, что с увеличением экспериментального периода действия ССГ формируется дисбаланс системы гемостаза – на уровне сосудисто-тромбоцитарного и коагуляционного звеньев, логичным нам показалось подтвердить данный механизм с помощью средств коррекции, сочетающих в себе антиагрегант-

ные и антиоксидантные свойства для воздействия на сосудисто-тромбоцитарное и коагуляционное звенья. В качестве таких средств были применены дипиридабол и аптамер – ингибитор тромбина (RE-31). Аптамер представляет собой цепь олигонуклеотидов чрезвычайно высокой специфичности воздействия на определенные белки [19–21]. На фоне действия аптамера был ограничен рост прокоагулянтной активности тромбоцитов. Аптамер ингибировал образование ключевого компонента плазменного звена систем гемостаза – тромбина и последующие, опосредованные им реакции, в т. ч. и активацию тромбоцитов (положительная обратная связь).

При хронической ингаляции ССГ ( $70 \pm 2,34$  мг/м<sup>3</sup>) происходят активация процессов ПОЛ в тромбоцитах, ослабление механизмов антирадикальной защиты в них на фоне роста агрегационной готовности, а также усиление общих прокоагулянтных нарушений. Курсовое применение дипиридабола у крыс приводит не только к уменьшению функциональной активности тромбоцитов, но и к уменьшению СРП, а также оптимизации ряда показателей системы гемостаза крови (ВС, активности ИТАП-1). Аптамер RE-31 путем блокирования тромбина плазмы оптимизирует состояние коагуляционного и тромбоцитарного звеньев системы гемостаза.

## Список литературы

1. Кривохижина Л.В., Ермолаева Е.Н., Кантюков С.А., Давыдова Е.В. Связь агрегации тромбоцитов со свободнорадикальным окислением // Омск. науч. вестн. 2013. № 1(118). С. 124–127.
2. Кузник Б.И. Клеточные и молекулярные механизмы регуляции системы гемостаза в норме и патологии. Чита: Экспресс-изд-во, 2010. 832 с.
3. Медведев И.Н., Скорятина И.А. Перекисное окисление липидов плазмы и тромбоцитов у больных с артериальной гипертензией с дислипидемией // Успехи соврем. естествознания. 2009. № 10. С. 71–72.
4. Буланова К.Я., Сидоренко В.Н., Лобанок Л.М., Герасимович Н.В., Кобяшев А.А., Жив А.Ю., Бокуть О.С. Роль активных форм кислорода в изменении функциональной активности тромбоцитов беременных женщин с гестозами // Мед. журн. 2009. № 2(28). С. 25–29.
5. Гвоздева О.В. Иммуитет, гемостаз, перекисное окисление липидов и лейкоцитарно-эритроцитарно-тромбоцитарные взаимоотношения при диффузном токсическом зобе: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Чита: Читин. ГМА Минздравсоцразвития России, 2008. 19 с.
6. Gando S. Microvascular Thrombosis and Multiple Organ Dysfunction Syndrome // Crit. Care Med. 2010. Vol. 38, № 2 (suppl.). P. 35–42.
7. Linden M.D. Platelet Physiology // Haemostasis: Methods and Protocols. 2013. P. 13–30.
8. Макурина О.Н. Сосудистый гемостаз у взрослых крыс-самцов // Вестн. РУДН. Сер.: Экология и безопасность жизнедеятельности. 2015. № 1. С. 45–49.
9. De Caterina R., Husted S., Wallentin L., Andreotti F., Arnesen H., Bachmann F., Baigent C., Huber K., Jespersen J., Kristensen S.D., et al. General Mechanisms of Coagulation and Targets of Anticoagulants (Section I). Position Paper of the ESC Working Group on Thrombosis – Task Force on Anticoagulants in Heart Disease // Thromb. Haemost. 2013. Vol. 109, № 4. P. 569–579.
10. Guidotti T.L. Hydrogen Sulfide Intoxication // Handb. Clin. Neurol. 2015. Vol. 131. P. 111–133.
11. Feng X., Zhou Y.L., Meng X., Qi F.H., Chen W., Jiang X., Xu G.Y. Hydrogen Sulfide Increases Excitability Through Suppression of Sustained Potassium Channel Currents of Rat Trigeminal Ganglion Neurons // Mol. Pain. 2013. Vol. 9, № 1. Art. № 4.
12. Asif M.J., Exline M.C. Utilization of Hyperbaric Oxygen Therapy and Induced Hypothermia After Hydrogen Sulfide Exposure // Respir. Care. 2012. Vol. 57, № 2. P. 307–310.
13. Ярошинская А.П., Лазько А.Е., Зиндан С. Влияние серосодержащего газа на дренажную функцию системы микроциркуляции // Морфология. 2016. Т. 149, вып. 3. С. 249.

14. Fukami K., Sekiguchi F., Kawabata A. Hydrogen Sulfide and T-Type Ca<sup>2+</sup> Channels in Pain Processing, Neuronal Differentiation and Neuroendocrine Secretion // *Pharmacology*. 2017. Vol. 99, № 3-4. P. 196–203.
15. Wallace J.L., Wang R. Hydrogen Sulfide-Based Therapeutics: Exploiting a Unique but Ubiquitous Gasotransmitter // *Nat. Rev. Drug Discov.* 2015. Vol. 14, № 5. P. 329–345.
16. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. М.: Ньюдиамед, 2008. 292 с.
17. Мажитова М.В., Теплый Д.Л., Тризно Н.Н., Тырков А.Г., Великородов А.В., Епинетов М.А. Хроническое влияние природного газа Астраханского месторождения на антиоксидантную активность и Redox-потенциал плазмы крови и ткани мозга в эксперименте // *Естеств. и техн. науки*. 2011. Т. 56, № 6. С. 149–153.
18. Тризно Н.Н., Галимзянов Х.М., Никулина Д.М., Спиридонова В.А., Голубкина Е.В., Дюкарева О.С., Тризно М.Н. Изменения гемостазиологического профиля крыс при хроническом воздействии сероводородсодержащего газа и возможности их коррекции // *Астрах. мед. журн.* 2017. Т. XII, № 2. С. 75–81.
19. Спиридонова В.А. Структура аптамерных ДНК/РНК – как основа для создания лекарственных препаратов и регуляторных элементов: автореф. дис. ... д-ра биол. наук. М.: Ин-т биохим. физики им. Н.М. Эмануэля РАН, 2011. 50 с.
20. Spiridonova V.A., Novikova T.M., Nikulina D.M., Shishkina T.A., Golubkina E.V., Dyukareva O.S., Trizno N.N. Complex Formation with Protamine Prolongs the Thrombin-Inhibiting Effect of DNA Aptamer *in vivo* // *Biochimie*. 2018. Vol. 145. P. 158–162.
21. Russo Krauss I., Spiridonova V., Pica A., Napolitano V., Sica F. Different Duplex/Quadruplex Junctions Determine the Properties of Anti-Thrombin Aptamers with Mixed Folding // *Nucleic Acids Res.* 2016. Vol. 44, № 2. P. 983–991.

## References

1. Krivokhizhina L.V., Ermolaeva E.N., Kantyukov S.A., Davydova E.V. Svyaz' agregatsii trombocitov so svobodnoradikal'nym okisleniem [Relationship of ADP-Induced Platelet Aggregation with a Free-Radical Oxidation]. *Omskiy nauchnyy vestnik*, 2013, no. 1, pp. 124–127.
2. Kuznik B.I. *Kletochnye i molekulyarnye mekhanizmy regulyatsii sistemy gemostaza v norme i patologii* [Cellular and Molecular Mechanisms of the Haemostatic System Regulation in Health and Disease]. Chita, 2010. 832 p.
3. Medvedev I.N., Skoryatina I.A. Perekisnoe okislenie lipidov plazmy i trombocitov u bol'nykh s arterial'noy gipertoniey s dislipidemiey [Lipid Peroxidation of Plasma and Platelet Lipids in Hypertensive Patients with Dyslipidemia]. *Uspekhi sovremennoyo estestvoznaniya*, 2009, no. 10, pp. 71–72.
4. Bulanova K.Ya., Sidorenko V.N., Lobanok L.M., Gerasimovich N.V., Kobayashv A.A., Zhiv A.Yu., Bokut' O.S. Rol' aktivnykh form kisloroda v izmenenii funktsional'noy aktivnosti trombocitov beremennykh zhenshchin s gestozami [The Role of Reactive Oxygen Species in Changing the Functional Activity of Platelets in Pregnant Women with Gestoses]. *Meditinskiy zhurnal*, 2009, no. 2, pp. 25–29.
5. Gvozdeva O.V. *Immunitet, gemostaz, perekisnoe okislenie lipidov i leykotsitarno-eritrotsitarno-trombocitarnye vzaimootnosheniya pri diffuznom toksicheskom zobe* [The Immune System, Haemostasis, Lipid Peroxidation and Leukocyte-Erythrocyte-Platelet Relationships in Diffuse Toxic Goiter: Diss. Abs.]. Chita, 2008. 19 p.
6. Gando S. Microvascular Thrombosis and Multiple Organ Dysfunction Syndrome. *Crit. Care Med.*, 2010, vol. 38, no. 2 (suppl.), pp. 35–42.
7. Linden M.D. Platelet Physiology. *Haemostasis: Methods and Protocols*. 2013, pp. 13–30.
8. Makurina O.N. Sosudisty gemostaz u vzroslykh krys-samtsov [Vascular Hemostasis in Adult Male Rats]. *Vestnik RUDN. Ser.: Ekologiya i bezopasnost' zhiznedeyatel'nosti*, 2015, no. 1, pp. 45–49.
9. De Caterina R., Husted S., Wallentin L., Andreotti F., Arnesen H., Bachmann F., Baigent C., Huber K., Jespersen J., Kristensen S.D., et al. General Mechanisms of Coagulation and Targets of Anticoagulants (Section I). Position Paper of the ESC Working Group on Thrombosis – Task Force on Anticoagulants in Heart Disease. *Thromb. Haemost.*, 2013, vol. 109, no. 4, pp. 569–579.
10. Guidotti T.L. Hydrogen Sulfide Intoxication. *Handb. Clin. Neurol.*, 2015, vol. 131, pp. 111–133.
11. Feng X., Zhou Y.L., Meng X., Qi F.H., Chen W., Jiang X., Xu G.Y. Hydrogen Sulfide Increases Excitability Through Suppression of Sustained Potassium Channel Currents of Rat Trigeminal Ganglion Neurons. *Mol. Pain*, 2013, vol. 9, no. 1. Art no. 4.

12. Asif M.J., Exline M.C. Utilization of Hyperbaric Oxygen Therapy and Induced Hypothermia After Hydrogen Sulfide Exposure. *Respir. Care*, 2012, vol. 57, no. 2, pp. 307–310.
13. Yaroshinskaya A.P., Laz'ko A.E., Zindan S. Vliyanie serosoderzhashchego gaza na drenazhnuyu funktsiyu sistemy mikrotsirkulyatsii [Influence of Sulfur-Containing Gas on the Drainage Function of the System of Microcirculation]. *Morfologiya*, 2016, vol. 149, no. 3, p. 249.
14. Fukami K., Sekiguchi F., Kawabata A. Hydrogen Sulfide and T-Type Ca<sup>2+</sup> Channels in Pain Processing, Neuronal Differentiation and Neuroendocrine Secretion. *Pharmacology*, 2017, vol. 99, no. 3-4, pp. 196–203.
15. Wallace J.L., Wang R. Hydrogen Sulfide-Based Therapeutics: Exploiting a Unique but Ubiquitous Gasotransmitter. *Nat. Rev. Drug Discov.*, 2015, vol. 14, no. 5, pp. 329–345.
16. Barkagan Z.S., Momot A.P. *Diagnostika i kontroliruemaya terapiya narusheniy gemostaza* [Diagnosis and Controlled Therapy of Bleeding Disorders]. Moscow, 2008. 292 p.
17. Mazhitova M.V., Teplyy D.L., Trizno N.N., Tyrkov A.G., Velikorodov A.V., Epinetov M.A. Khronicheskoe vliyanie prirodnogo gaza Astrakhanskogo mestorozhdeniya na antioksidantnuyu aktivnost' i Redox-potentsial plazmy krovi i tkani mozga v eksperimente [Chronic Effects of the Natural Gas from the Astrakhan Gas Field on the Antioxidant Activity and Redox Potential of Blood Plasma and Brain Tissue in Experiment]. *Estestvennye i tekhnicheskie nauki*, 2011, vol. 56, no. 6, pp. 149–153.
18. Trizno N.N., Galimzyanov Kh.M., Nikulina D.M., Spiridonova V.A., Golubkina E.V., Dyukareva O.S., Trizno M.N. Izmeneniya gemostaziologicheskogo profilya krysa pri khronicheskom vozdeystvii serovodorodsoderzhashchego gaza i vozmozhnosti ikh korrektsii [Changes in Hemostasiological Profile of Rats at Chronic Exposure to Sulfurous Gas and Possibilities of Their Correction]. *Astrakhanskiy meditsinskiy zhurnal*, 2017, vol. 12, no. 2, pp. 75–81.
19. Spiridonova V.A. *Struktura aptamernykh DNK/RNK – kak osnova dlya sozdaniya lekarstvennykh preparatov i regulatorynykh elementov* [The Structure of Aptamer DNA/RNA as the Basis for Developing New Medicines and Regulatory Elements: Diss. Abs.]. Moscow, 2011. 50 p.
20. Spiridonova V.A., Novikova T.M., Nikulina D.M., Shishkina T.A., Golubkina E.V., Dyukareva O.S., Trizno N.N. Complex Formation with Protamine Prolongs the Thrombin-Inhibiting Effect of DNA Aptamer *in vivo*. *Biochimie*, 2018, vol. 145, pp. 158–162.
21. Russo Krauss I., Spiridonova V., Pica A., Napolitano V., Sica F. Different Duplex/Quadruplex Junctions Determine the Properties of Anti-Thrombin Aptamers with Mixed Folding. *Nucleic Acids Res.*, 2016, vol. 44, no. 2, pp. 983–991.

DOI: 10.17238/issn2542-1298.2019.7.1.40

*Ekaterina V. Golubkina\**, *Oksana S. Dyukareva\**, *Nikolay N. Trizno\**,  
*Larisa A. Udochkina\**, *Matvey N. Trizno\**

\*Astrakhan State Medical University  
(Astrakhan, Russian Federation)

## THE EFFECT OF PEROXIDATION PROCESSES IN PLATELETS ON HAEMOSTASIS UNDER EXPOSURE TO HYDROGEN SULPHIDE-CONTAINING GAS

This research aimed to describe the mechanism of damage to haemostatic components and antioxidant enzymes caused by chronic exposure to hydrogen sulphide-containing gas (HSG) from the Astrakhan gas field and evaluate the effects of applied correction. The following indicators of the haemostatic system in 59 white laboratory rats were studied: number of platelets and their induced aggregation, clotting time, content of soluble fibrin monomer complexes (SFMC) and D-dimer, time of Hageman-dependent euglobulin lysis, as well as activity of factor VIII and plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1). Platelet lipid peroxidation was determined by the level of malondialdehyde and



diene conjugates in platelets. Antioxidant protection was studied by the activity of platelet catalase and superoxide dismutase. Blood was taken from the abdominal aorta (pars abdominalis aortae). The animals were divided into 4 groups: 1) control ( $n = 12$ ); 2) group exposed to HSG ( $n = 19$ ); 3) group exposed to HSG with subsequent administration of Dipyridamole ( $n = 14$ ); 4) group exposed to HSG with correction by thrombin inhibitor DNA aptamer (RE-31) ( $n = 14$ ). The mode of exposure to HSG with  $70 \pm 2.34 \text{ mg/m}^3$  concentration of hydrogen sulphide was as follows: 4 hours a day x 5 days a week x 4 months. It was found that by the fourth month of HSG inhalation, procoagulant potential of blood plasma increased, creating conditions for thrombosis. Dipyridamole decreased platelet aggregation capacity as well as the level of malondialdehyde and diene conjugates. Aptamer increased the overall clotting time, lowered the level of SFMC, D-dimer, factor VIII and PAI-1. The positive effects of the applied correction indicate activation of lipid peroxidation and its correlation with increased aggregate capacity of platelets under chronic exposure to HSG.

**Keywords:** *haemostatic system, thrombin, platelet, hydrogen sulphide-containing gas, DNA aptamer, thrombin inhibitor, Dipyridamole.*

Поступила 27.08.2018

Принята 06.12.2018

Received 27 August 2018

Accepted 6 December 2018

---

**Corresponding author:** Ekaterina Golubkina, *address:* ul. Bakinskaya 121, Astrakhan, 414000, Russian Federation; *e-mail:* neiron-2010@mail.ru

**For citation:** Golubkina E.V., Dyukareva O.S., Trizno N.N., Udochkina L.A., Trizno M.N. The Effect of Peroxidation Processes in Platelets on Haemostasis Under Exposure to Hydrogen Sulphide-Containing Gas. *Journal of Medical and Biological Research*, 2019, vol. 7, no. 1, pp. 40–48. DOI: 10.17238/issn2542-1298.2019.7.1.40