

У510.21
К-667

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ УССР
ЛЬВОВСКИЙ ОРДЕНА ДРУЖБЫ НАРОДОВ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ ИНСТИТУТ

На правах рукописи

КОРЬТКО
Зоряна Игоревна

УДК 612.172:612.12:35:613.73:731

РОЛЬ ТРОМБИН-ПЛАЗМИНОВОЙ СИСТЕМЫ
В СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНОМ СОСТОЯНИИ МИОКАРДА
В УСЛОВИЯХ ФИЗИЧЕСКИХ ПЕРЕГРУЗОК

14.00.17 - нормальная физиология

А в т о р е ф е р а т
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Львов - 1990

Работа выполнена во Львовском государственном институте физической культуры и Львовском филиале Киевского НИИ гематологии и переливания крови.

Научные руководители:

Кандидат медицинских наук, профессор Мухин В.Н.

Доктор медицинских наук, профессор Монастырский В.А.

Официальные оппоненты:

Доктор биологических наук, профессор Ильницький В.И.

Кандидат медицинских наук, ст. научн. сотрудник Дзись Е.И.

Ведущая организация -

Киевский государственный институт физической культуры

Защита состоится "23" марта 1990 г. в 11 часов на заседании специализированного совета К 088.21.02 во Львовском ордена Дружбы народов государственном медицинском институте /290010, г. Львов, ул. Пекарская, 69/.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке Львовского ордена Дружбы народов государственного медицинского института /290000, г. Львов, ул. І7 Вересня, 6/.

Автореферат разослан "17" февраля 1990 г.

Ученый секретарь
специализированного совета,
доктор

БІБЛІОТЕКА
Львівського державного
інституту фізичної
культури

ЛУЦЬК А.Д.

Читальная зала
ЛДЮК - 1

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы. Интерес к изучению роли нарушений системы свертывания и фибринолиза при различных физиологических и патологических состояниях вполне понятен, так как этим системам принадлежит важное значение в поддержании гомеостаза, а следовательно, и в процессе адаптации к возрастающей физической работе /С.А.Лащенко, 1986/.

К настоящему времени установлено, что в условиях значительных физических нагрузок возникают заметные сдвиги в системе свертывания и фибринолиза. Даже кратковременная чрезмерная физическая работа достоверно укорачивает время свертывания и время фибринолиза /П.М.Левитовский, 1980; P. Bartsch et al., 1982; R.G. Koritaky, 1983/. В условиях длительных истощающих физических нагрузок наблюдается выраженная тенденция к развитию гиперкоагуляции /тромбиногенеза/ с одновременным торможением фибринолиза /Д.П.Крохмаль, В.П.Мищенко, 1980; А.М.Ефименко и соавт., 1980; И.Ф.Семенов, 1986; Б.И.Ваняев, 1986; В.Н.Мухин и соавт., 1988; А.В.Муральев, М.И.Симаков, 1989; J.A. Huisveld et al., 1981/.

Физиологическое и патогенетическое значение этих сдвигов целесообразно рассматривать с позиций новых представлений о свертывающей и фибринолитической системе, как о более сложной тромбин-плазминовой системе /ТПС/, которая имеется и функционирует во всех средах организма - в крови, межтканевой соединительной ткани /МСТ/ и в клетках. В течение последних двух десятилетий установлено, что ТПС может осуществлять три вида изменения белков: превращение фибриногена в фибрин /в крови и МСТ/; денатурацию других белков /в крови, МСТ и клетках/ и полимеризацию актина /то есть превращение Г-актина клеток в Ф-актин/. Показано, что в физиологических условиях эта сложная ферментная система играет роль своеобразного модулятора уровня функциональной активности клеток и органов, а именно при преобладании тромбиногенеза уровень их функциональной активности понижается, а при преобладании плазминогенеза - наоборот повышается. Чрезмерные генерализованные декомпенсированные сдвиги в этой системе ведут к повреждению как клеток, так и органов в целом /В.А.Монастырский, 1969-1985/. При подавляющем большинстве патологических процессов причиной повреждения клеток и органов является генерализованный декомпенсированный тромбиногенез /гиперкоагуляция/ /М.Ферстрате, Л.Фермилан, 1986; Д.Д.Зербино,

И.И.Лукаевич, 1989/.

В течение многих лет механизм развития этих повреждений рассматривали с позиций теории гипоксии, а в последние 15-20 лет, исходя из новых представлений о структуре и функции ТПС, доказано, что непосредственной причиной повреждения органов в условиях ГДТ является прямое воздействие тромбина на ультраструктуру всех сред организма, в том числе и внутриклеточные, то есть установлен коагуляционный генез этих повреждений /В.А.Монастырский, 1973; П.С.Назар, 1975; Е.И.Дзись, 1983; М.И.Вороняк, 1988/.

Можно предположить, что в изменении структуры и функции миокарда как под влиянием тренировки, так и при физических перегрузках, существенную роль могут играть сдвиги в ТПС по типу компенсированного, субкомпенсированного или декомпенсированного тромбиногенеза. Однако, эта сторона вопроса при изучении данных процессов в миокарде не учитывалась.

Цели и задачи исследования. Целью настоящего исследования явилось выяснение роли сдвигов в ТПС в механизме изменений структуры и функции миокарда при физических перегрузках. С этой целью в работе поставлены следующие конкретные задачи:

- изучить изменения ультраструктуры миокарда и активности сукцинатдегидрогеназы кардиомиоцитов в условиях физической перегрузки и сравнить их с изменениями, возникающими в условиях генерализованного декомпенсированного тромбиногенеза /"чистого" ГДТ/, вызванного введением очищенного тканевого тромбопластина /ОТТ/;
- определить влияние предварительного введения гепарина на развитие структурно-метаболических изменений в миокарде при физической перегрузке и в условиях "чистого" ГДТ.

Основные положения, которые выносятся на защиту:

1. В условиях физической нагрузки "до отказа", как и после внутривенного введения достаточно больших доз ОТТ в миокарде возникают все признаки ГДТ-синдрома: диссеминированный микротромбоз, дезорганизация МСТ и дегенеративные изменения кардиомиоцитов, эндотелиоцитов и перицитов.
2. Изменение ультраструктуры кардиомиоцитов в условиях этих процессов сопровождается снижением активности сукцинатдегидрогеназы /СДГ/ - ключевого фермента цикла Кребса.
3. В условиях физических перегрузок развиваются изменения структуры и функции миокарда по характеру, направленности и выра-

женности сходные с изменениями, возникающими в условиях "чистого" ГДТ. Динамика изменения активности СДГ в условиях обоих процессов имеет очень высокий коэффициент корреляции 0,93/.

4. Гепарин, введенный непосредственно перед физической нагрузкой "до отказа", как и перед инфузией ОТТ, предотвращает возникновение не только диссеминированного микротромбоза, но и дезорганизации МСТ и дегенеративных изменений клеточных элементов миокарда. Одновременно гепарин предупреждает снижение активности СДГ, а также увеличивает длительность плавания крыс "до отказа".

5. Изменения структуры и функции кардиомиоцитов при физических перегрузках имеют, как и в условиях "чистого" ГДТ, коагуляционный генез, то есть являются результатом воздействия тромбина.

Научная новизна. Впервые проведено сравнение возникающих изменений структуры и функции миокарда после физической перегрузки с изменениями, развивающимися в условиях "чистого" ГДТ и установлена аналогичность этих процессов. Изучены в динамике изменения ультраструктуры и функции миокарда, возникающие в условиях физической нагрузки "до отказа". Выявлена возможность предотвращения повреждения миокарда и снижения активности фермента СДГ, возникающих как в условиях "чистого" ГДТ, так и в условиях физических перегрузок с помощью предварительного введения гепарина. Показано, что профилактическое применение гепарина повышает продолжительность плавания крыс "до отказа", то есть увеличивает объем максимально выполненной работы. Полученные данные свидетельствуют о коагуляционном генезе повреждений миокарда, в том числе и кардиомиоцитов, не только в условиях "чистого" ГДТ, но и при физических перегрузках.

Теоретическая и практическая значимость работы. Установление коагуляционного генеза всех структурных изменений в миокарде /диссеминированный микротромбоз, дезорганизация МСТ и дегенеративные изменения кардиомиоцитов/, возникающих в условиях значительных физических перегрузок, имеет теоретическое значение. Результаты исследований имеют и практическую ценность, так как установление роли сдвигов в системе свертывания и фибринолиза в изменении структуры и функции миокарда в условиях физических перегрузок может быть использовано в практике спорта в двух направлениях: а/ проведения коррекции тренировочного процесса под контролем биохимического исследования функционального состояния тромби-

плазминовой системы с целью предотвращения развития чрезмерной активации тромбиногенеза; б/ предупреждения повреждений миокарда, возникающих в условиях физических перегрузок, с помощью веществ, обладающих антикоагулянтными свойствами, в частности, гепарина или терапии уже возникших сдвигов путем усиления плазминогенеза или применения фибринолитических препаратов. Используя протекторную роль антикоагулянтов в развитии патологического процесса, можно повышать функциональные возможности организма, предупреждая сердечно-сосудистые катастрофы.

Апробация работы. Материалы диссертации доложены на У Украинском биохимическом съезде /Ивано-Франковск, 1987/; научно-практической конференции Львовского НИИ гематологии и переливания крови /Львов, 1987/; научной конференции преподавателей Львовского института физической культуры /Львов, 1987-1989/; Всесоюзной конференции "Физиологические механизмы адаптации к мышечной деятельности" /Волгоград, 1988/; научно-практической Республиканской конференции "Здоровье детей - забота общая" /Алхабад, 1989/.

Внедрение в практику результатов исследования. Результаты работы внедрены в лаборатории электронной микроскопии ЦНИЛ Львовского ордена Дружбы народов государственного медицинского института, включены в лекционный курс кафедр медико-биологических дисциплин Львовского государственного института физической культуры. По материалам диссертации опубликовано 7 научных работ, отражающих основные ее положения, и внедрено I рационализаторское предложение.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 170 страницах машинописи и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, пяти глав результатов исследований, заключительного анализа, выводов, практических рекомендаций и списка литературы, включающего 250 источников/158 отечественных и 92 зарубежных авторов/. Работа иллюстрирована 6 микрофотографиями, 61 электроннограммой, 6 рисунками и 7 таблицами.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования выполнены на 376 белых крысах-самцах массой 0,18-0,22 кг. Поставлено четыре серии опытов. В первой серии /84 крысы/ воспроизводили "чистый" синдром генерализованного декомпенсированного тромбиногенеза с помощью внутривенного введения OTT

активностью I6-I7 сек по Квику из расчета 10 мл/кг массы. Во второй серии /74 крысы/ непосредственно перед инфузией ОТТ* внутривенно вводили раствор гепарина /150 ЕД/кг/. В третьей серии /103 крысы/ моделировали физические нагрузки "до отказа", в четвертой /79 крыс/ - непосредственно перед выполнением физической нагрузки крысам внутривенно вливали раствор гепарина /250 ЕД/кг/. Во всех сериях в динамике /через 10-15 мин, 1 ч, 5 ч, 24 ч, 72 ч и 7 суток/ изучали ультраструктуру миокарда и ультрацитохимически /S.Kerpel-Fronius, F.Najos, 1968/ и биохимически /Н.Н.Ещенко, Г.Г.Вольский, 1982/ определяли активность СДГ. В первой и третьей сериях, кроме этого, с помощью светооптических исследований изучали изменения микроциркуляторного русла миокарда в препаратах, окрашенных по методу ОКГ для селективного выявления фибрина /Д.Д.Зербино, Л.Л.Лукаевич, 1989/. Для гистологических исследований материал фиксировали в 10%-ом нейтральном формалине, обрабатывали по общепринятой методике и заключали в парафин /Г.А.Меркулов, 1969/.

Контролем электронномикроскопических и ультрацитохимических исследований служил миокард I6 интактных животных, а контролем - биохимических - 20 крыс.

Все опыты на животных выполнены в соответствии с приказами МЗ СССР и МЗ УССР, регламентирующими проведение работ с использованием экспериментальных животных.

Для электронномикроскопических исследований кусочки миокарда левого желудочка фиксировали в растворе O_3O_4 , обрабатывали по общепринятой методике и заливали в смесь эпоксидных смол эпон-аралдит /A.Glanert, 1974 /. Срезы, приготовленные на ультрамикротоме "Tosai" /СССР/, контрастировали уранилацетатом /Б.Уикли, 1975/ и цитратом свинца /E.Reynolds, 1963 / и просматривали под электронным микроскопом УЭМВ-100К.

Статистическая обработка материала проводилась с применением критерия Стьюдента и метода корреляционного анализа. Вычисления проводились на персональном компьютере класса IBM PC.

*Растворимый препарат очищенного тканевого тромбопластина /ОТТ/ разработан и получен Ю.В.Магеровским во Львовском НИИ гематологии и переливания крови из кадаверного мозга человека путем гелепроникающей фильтрации.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Проведенными исследованиями установлено, что в условиях физических перегрузок в миокарде возникают изменения ультраструктуры и активности СДП сходные по характеру, направленности и даже выраженности с изменениями, возникающими в условиях "чистого" генерализованного декомпенсированного тромбиногенеза.

После физической нагрузки "до отказа", как и после введения ОТТ под электронным микроскопом уже через 10-15 минут в капиллярах наблюдается большое количество микротромбов. Обычно они имеют вид гомогенных белковых масс, которые при окраске ОКГ окрашиваются в красный цвет, что свидетельствует о наличии в них фибрина. Реже встречаются отдельные тяжи или нити фибрина, а также тромбоцитарные, эритроцитарные и смешанные микротромбы.

Механизм возникновения в капиллярах миокарда микротромбоза в условиях "чистого" ГДД-синдрома, вызванного массивной первичной гипертромбопластинемией состоит в следующем. Внутривенное введение ОТТ ведет к резкому декомпенсированному усилению тромбиногенеза /Я.И.Выговская, 1973; В.А.Монастырский, 1973; Е.И.Дэизь, 1983; Б.И.Кузник и соавт., 1983/. Образующийся при этом тромбин обуславливает преобразование фибриногена в фибрин и, вероятно, денатурацию других белков, что ведет к образованию микротромбов. Диссеминированный микротромбоз является одним из морфологических признаков острого генерализованного декомпенсированного тромбиногенеза. Таким образом, очевидно, что усиление тромбиногенеза, при введении ОТТ в избранных нами дозах, достигает степени декомпенсации /М.Ферстрате, Ж.Фермилен, 1986/.

Возникновение в условиях физических перегрузок диссеминированного микротромбоза тоже свидетельствует о развитии генерализованного декомпенсированного тромбиногенеза и объясняется рядом причин. Во-первых, развитием чрезмерно интенсивной и длительной стресс-реакции, вследствие которой выделяется большое количество катехоламинов. Они связываются с тромбоцитарными субстанциями с последующим усилением тромбиногенеза и превращением фибриногена в фибрин /Б.А.Лосов и соавт., 1975; Н.Н.Яковлев, 1989/, что ведет к нарушению свойств эритроцитов и повышению прочности образующихся эритроцитарных агрегатов. Во-вторых, в опытах с применением предельных физических нагрузок на животных установлено, что среди компонентов миокарда одними из первых реагируют на указанные воз-

действия кровеносные капилляры, что проявляется в морфо-функциональном повреждении эндотелиальной выстилки /А.Н.Щегольков, 1980/, а при повреждении эндотелия в кровяное русло поступает тканевой тромбопластин /Б.И.Кузник и соавт., 1982; В.П.Скипетров, 1986/, который смещает равновесие в ТПС в сторону усиления тромбогенеза. Следовательно, в условиях значительных физических перегрузок, активируется как внутренний, так и внешний механизм свертывания крови, что очень быстро обуславливает развитие генерализованного временно декомпенсированного тромбогенеза. Таким образом, полученные данные убеждают в том, что после физической нагрузки "до отказа", как и после вливания ОТТ, развивается генерализованный декомпенсированный тромбогенез /гиперкоагуляция/.

Установлено, что при ГДТ, вызванном как физической перегрузкой, так и введением ОТТ, наряду с возникновением диссеминированного микротромбоза развиваются значительные изменения /дизорганизация/ межочечной соединительной ткани /МСТ/ сердца, проявляющиеся в виде мукоидного набухания и фибриноидного превращения ее. Из литературы известно, с одной стороны, что в основе фибриноидного превращения МСТ лежит образование фибрина из фибриногена /В.В.Серов, А.Б.Шехтер, 1981/, а с другой - что в МСТ имеются протромбин и фибриноген и другие факторы системы свертывания и фибринолиза /Б.И.Кузник, В.П.Скипетров, 1974; В.П.Скипетров, 1986/. Это дает основание думать, что под влиянием тромбопластина, введенного внутривенно интактным животным или образованного в результате действия физических перегрузок и стресс-реакции, происходит усиление тромбообразования не только в сосудистом русле, но и в МСТ, где образующийся тромбин и превращает фибриноген в фибрин.

После нагрузки "до отказа" уже в течение первых 10-15 минут обнаруживаются значительные изменения структуры клеточных элементов миокарда: кардиомиоцитов, эндотелиоцитов и перицитов. По характеру направленности и выраженности эти изменения почти идентичны изменениям миокарда, возникающим после вливания животным ОТТ. Эти изменения развиваются на фоне различной гидратации клеток.

В условиях обоих процессов уже в первые 10-15 минут в разных клеточных элементах наблюдается появление преципитатов и коагулятов в виде электронноплотных белковых масс и увеличение количества "темных" клеток, что связано с фазовым переходом их коллоидов - гелеобразованием. Уже в ранние сроки происходит разрушение /пота-

ря контурности/ сарколеммы и мембран различных органелл: митохондрий, эндоплазматической сети, аппарата Гольджи. Уменьшается количество свободных полирибосом, зернистой эндоплазматической сети, исчезают гранулы гликогена. В клетках наблюдается расширение каналов саркоплазматической сети и гомогенизация, разволокнение миофибрилл. В этот период резко снижается активность сукцинатдегидрогеназы, что подтверждается ультрацитохимическими и биохимическими исследованиями. Активность СДГ в условиях "чистого" ГДГ уменьшается до $56,35 \pm 2,27$ против $96,27 \pm 6,76$ в контроле /на $41,5\%$, $p < 0,01$ / а в условиях физических перегрузок - до $52,82 \pm 6,37$ против $96,27 \pm 6,76$ в контроле /на 45% , $p < 0,01$ /.

Через 1 час возникшие изменения нарастают. В клетках обнаруживается большое количество поврежденных и разрушенных митохондрий с резко сниженной активностью СДГ. Однако, наряду с ними появляются органеллы с очень высокой активностью фермента /"гиперактивные" митохондрии/. Результаты биохимических исследований не находят в этот период отличий общей активности СДГ от контроля ни в условиях "чистого" ГДГ, ни в условиях физических перегрузок. Следовательно, интенсивность стимула /в данном случае - влияние достаточно больших доз очищенного тканевого тромбопластина или физическая нагрузка "до отказа"/ была настолько велика, что возникла адаптационная реакция организма и мобилизовалась способность организма к поддержанию гомеостаза /Д.Холоши, 1982/. В этих условиях выделяется большое количество адреналина, который вызывает быструю перестройку функций, направленную на повышение работоспособности в стрессовой ситуации. Под влиянием адреналина гипоталамус выделяет вещества, усиливающие секрецию гипофизом адренокортикотропного гормона. Последний стимулирует синтез корой надпочечников глюкокортикоидов, которые повышают основной обмен. По Селье это соответствует 2-ой фазе ответа организма на стрессовую ситуацию /фазе резистентности/. В этот период, очевидно, повышается и активность сукцинатдегидрогеназы, что является компенсаторной реакцией кардиомиоцитов в условиях массового разрушения митохондрий и дефицита АТФ.

В последующие 5-24 часа изменения структуры миокарда прогрессируют, наблюдается разрушение разрыхленных мембран с появлением экстрацеллюляров и экстравазатов. Усиливается гомогенизация и разволокнение миофибрилл. Наблюдается гиперсокращение миофибрилярно-

го аппарата с уменьшением длины саркомера и расширением Z -полос. Большинство клеток сохраняет свою жизнеспособность /обратно измененные клетки/, а незначительное количество необратимо поврежденных клеток гибнет. Повсеместно исчезают "гиперактивные" митохондрии. Активность СДГ в этот период снижается и при физических перегрузках $/p < 0,05/$, и в условиях "чистого" ГДГ $/p < 0,05/$, что, по-видимому, связано со сменой фазы резистентности фазой "истощения", в которой надпочечники прекращают синтез адаптивных гормонов.

Изменения миокарда характеризуются значительной мозаичностью. Мозаичность этих изменений состоит в том, что клеточные элементы сердечной мышцы различных участков миокарда и даже рядом лежащие клетки, изменены в различной степени. Наряду с полностью разрушенными наблюдаются клетки с нормальной ультраструктурой.

Спустя 72 часа отмечаются уже начальные признаки внутриклеточной регенерации - увеличение числа полирибосом, обогащение ядер хроматином, восстановление контурности мембран. Активность СДГ в этот период остается сниженной $/p < 0,05/$, а реактивация происходит лишь к седьмому дню наблюдения, что совпадает со значительной нормализацией ультраструктуры.

Сходство протекания периодов восстановления после физической нагрузки "до отказа" и после вливания животным ОТГ подтверждается высоким коэффициентом корреляции $/0,93/$ между динамикой изменения активности СДГ в условиях обоих процессов.

Таким образом, раннее и почти одновременное возникновение наряду с диссеминированным микротромбозом изменений структуры МСТ и клеток трудно объясняется с позиций теории гипоксии, поскольку установлено, что при циркуляторной гипоксии аналогичные нарушения структуры клеток развиваются в пять-шесть раз позднее. /И.П.Кокодыняк, 1982/. Почти синхронное возникновение в условиях генерализованного декомпенсированного тромбиногенеза /гиперкоагуляции/ всей триады структурных изменений в миокарде свидетельствует в пользу единого коагуляционного генеза этих повреждений.

Если сделанный вывод верный, то вполне можно предположить, что гепарин должен предотвращать возникновение изменений структуры миокарда, возникающих как в условиях "чистого" ГДГ, так и в условиях физических перегрузок.

Проведенными исследованиями установлено, что предварительное

внутривенное введение гепарина непосредственно перед физической нагрузкой "до отказа" и перед вливанием животным ОТТ предотвращает не только возникновение диссеминированного микротромбоза, но и в значительной степени дезорганизацию МСТ и повреждение клеточных элементов миокарда. Лишь в начальных периодах исследования отмечаются отеки эндотелиальной выстилки и МСТ, разрыхления базальной мембраны капилляров. В клетках практически отсутствуют изменения электронной плотности, не наблюдается появления коагулятов и преципитатов. В подавляющем большинстве все органоиды клеток имеют нормальную структуру за исключением некоторого набухания митохондрий. Профилактически введенный гепарин в условиях физических перегрузок и в условиях "чистого" ГДТ предупреждает снижение активности СДГ в первые 10-15 минут восстановления $/p < 0,05/$. Активность фермента в этот период не отличается от контроля. В последующие этапы наблюдения не отмечается достоверного влияния гепарина на изменение активности СДГ ни в условиях физических перегрузок, ни в условиях "чистого" ГДТ-синдрома.

Между протеканием процессов восстановления миокарда после физической нагрузки "до отказа" в условиях предварительного введения гепарина и после инфузии ОТТ с применением гепарина имеется полная аналогия. Это подтверждается и высоким коэффициентом корреляции $/0,90/$ между динамикой изменения СДГ после физической нагрузки "до отказа" с профилактическим применением гепарина и динамикой изменения СДГ после вливания ОТТ в условиях предварительного введения гепарина.

Кроме этого, защитное влияние гепарина, профилактически введенного перед физической нагрузкой "до отказа", косвенно подтверждается увеличением длительности плавания крыс $/p < 0,01/$, то есть увеличением максимально выполненной животными работы, получавших гепарин, по сравнению с крысами без предварительного применения гепарина.

Таким образом, результаты всех проведенных нами исследований с учетом данных литературы позволяют заключить, что возникающая в условиях физических перегрузок гиперкоагуляция /тромбогенез/ может достигать степени декомпенсации и запускать всю триаду структурных изменений как и в условиях "чистого" ГДТ-синдрома, а именно: 1/ диссеминированный микротромбоз; 2/ дезорганизацию МСТ; 3/ дегенеративные изменения клеток. Многочисленные исследо-

вания повреждений паренхиматозных органов в условиях ГДТ-синдрома убеждают в том, что основным повреждающим фактором при процессах, сопровождающихся первичной гипертромбопластинемией, является тромбин /Б.А.Монастырский, 1973-1986; Б.И.Кузник, В.П.Скипетров, 1974; М.И.Вороняк, 1988/.

Согласно последним данным литературы тромбин может образовываться не только в крови, но и в межтканевой соединительной ткани. Образующийся в этой среде тромбин вызывает превращение фибриногена в фибрин, что проявляется в виде фибриноидного превращения соединительной ткани. Более того, согласно концепции о наличии и функционировании ТПС внутри клеток, в условиях ГДТ может образовываться и цитотромбин /В.А.Монастырский, 1979; 1986/.

Тромбин, будучи протеолитическим ферментом /Ф.З.Меерсон, 1984/ способен расщеплять не только фибриноген, но и ряд других белков клетки: актин: тубулин, кальмодулин, инсулин, гистоны и др. /H.Sage et al., 1981; C.M.Wall et al., 1981; A.C.Dianon, J.M.Freyssinet, 1981/ . что является одной из причин изменения структурно-функционального состояния клеток.

Установлено, что экстрацеллюлярный тромбин может влиять на клеточные рецепторы как трансмембранно, то есть взаимодействуя со своими рецепторами, так и проникая внутрь клетки путем интернализации /Б.А.Кудряшов; С.М.Струкова, 1984; D.A.Low et al., 1982; K.Samamoto et al., 1986/.

В норме экстрацеллюлярный тромбин, воздействуя на свои рецепторы путем трансмембранной передачи сигналов в клетки влияет на активацию различных протеинкиназ, фосфорилирование и изменение активности многих клеточных белков. Интересным является то, что тромбин влияет на активацию Na^+ , K^+ -насоса и повышение внутриклеточного pH /J.C.Chambard et al., 1984; Ch.Frelin et al., 1984/ Na^+ , K^+ -насосу принадлежит важная роль в механизме регуляции функции сердца. В результате предельно длительной нагрузки функция Na^+ , K^+ -насоса нарушается, что ведет к накоплению натрия и воды, а также понижению содержания калия в клетках. Гипокалигестия сенсibiliзирует клеточные структуры и кардиотоксическому воздействию катехоламинов /П.К.Кырге, 1976; А.А.Виру, П.К.Кырге, 1983/, что усиливает прогрессирование повреждений органелл и ультраструктур. В частности, колебания внутриклеточного pH не может не отражаться на активности ферментов и нарушении других кле-

точных белков. В условиях физических перегрузок, как и в условиях "чистого" ГДТ, этим частично может объясняться изменение активности исследуемого фермента сукцинатдегидрогеназы.

Изменения конформации и нарушения функции различных белков может быть причиной повреждения ультраструктур кардиомиоцитов и других клеток миокарда /разрыхления различных мембран, гомогенизации и разволокнения миофибрилл/.

Конформация белков различных сред организма изменяется даже в естественных условиях, а тем более под влиянием колебания внутриклеточного рН и других изменений, вызванных интернализированным тромбином или цитотромбином, она может достигать степени денатурации. В настоящее время под денатурацией понимают разупорядочение /модификацию/ пространственной структуры /нативной конформации/ белковых молекул. По современным данным денатурация в соответствующих условиях вполне обратимый процесс /В.Я.Александров, 1985; White et al., 1981/.

При денатурации в результате разрыва внутримолекулярных связей значительно увеличивается свободная энергия связей белковых молекул, вследствие чего возрастает их способность к взаимодействию между собой. В итоге этого взаимодействия, в зависимости от концентрации белка в коллоиде и ряда других условий, образуются преципитаты и коагуляты или наступает фазовый переход - гелеобразование /M. Joly . 1968/. Под электронным микроскопом преципитаты и коагуляты обнаруживаются в виде электронноплотных белковых масс, а гелеобразование - в виде значительного повышения электронной плотности цитоплазмы клеток /"темные" клетки/. Кроме этого, за гелеобразование ответственны сократительные белки цитоплазмы клеток - актин и миозин, присутствующие не только в мышечных, но и в любых неммышечных клетках. Однако, в отличие от мышц, они содержат небольшое количество миозина /0,5-2%/ и достаточно много актина /5-15%/ /Б.Ф.Поглазов, 1985; В.Альбертс и соавт., 1987/. Актин существует в виде мономера /Г-актина/ и полимера /Ф-актина/. Ф-актин образуется в результате полимеризации Г-актина. При определенных обстоятельствах нити Ф-актина способны объединяться и образовывать единую сеть, лежащую в основе гелеобразования в клетках /Б.В.Поглазов, 1983; А.Фултон, 1987/. Важными являются данные литературы о способности тромбина вызывать гиперполимеризацию актина, изменяя при этом структуру цитоскаркаса, регу-

лирующего активность многих метаболических процессов в клетках /P.Singaglia et al., 1985, 1986/.

Таким образом, тромбин, образующийся в условиях значительной гипертромбопластинемии любого происхождения /в условиях физических перегрузок и в условиях "чистого" ГДГ/, является прямым повреждающим фактором, действующим непосредственно на строку и клетки миокарда.

В пользу такого заключения свидетельствуют также результаты наших исследований о том, что гепарин, введенный перед выполнением животными физической нагрузки "до отказа", как и перед вливанием препарата ОТТ, ингибируя тромбиногенез и действие тромбина, существенно предотвращает не только возникновение микротромбоза и дезорганизацию МСТ, но и развитие дегенеративных изменений кардиомиоцитов, то есть он предупреждает как превращение фибриногена в фибрин в крови и МСТ, так и изменение конформации других белков всех сред организма, и полимеризацию внутриклеточного актина. Гепарин предотвращает повреждение структуры и функции клеток и органов благодаря ингибированию как экстрацеллюлярного, так и интрацеллюлярного тромбиногенеза при помощи антитромбина III и протеазосвязывающего белка I /И.И.Вирва, В.А.Монастырский, 1985/.

Суммируя результаты наших исследований с учетом данных литературы и существующих концепций, в частности, о наличии и функционировании ТПС, мы пришли к выводу, что генерализованный временно декомпенсированный тромбиногенез /гиперкоагуляция/, возникающий в условиях физических перегрузок, является важным патогенетическим фактором в развитии сердечной патологии. На основании вышеизложенного можно представить, что чрезмерная физическая нагрузка обуславливает развитие катехоламинных нарушений, а также повреждения эндотелия, что ведет к активации системы свертывания, а в случаях длительного воздействия - к развитию генерализованного декомпенсированного тромбиногенеза. Возможные механизмы изменения структуры и функции миокарда в условиях ГДГ-синдрома можно представить в виде следующих превращений: ГДГ \rightarrow тромбин /в крови, МСТ и клетках/ \rightarrow превращение фибриногена в фибрин /в крови, МСТ/, полимеризация актина /в клетках/, протеолиз и денатурация других белков /в крови, МСТ, клетках/ \rightarrow диссеминированный микротромбоз, дезорганизация МСТ, дегенеративные изменения клеток миокарда с нарушением их метаболизма \rightarrow снижение функциональных возможностей сердечной мышцы.

Таким образом, результаты наших исследований свидетельствуют о существенной роли факторов тромбин-плазминовой системы, и в частности тромбина, в регуляции структурно-функционального состояния сердечной мышцы в условиях физических перегрузок и подтверждают значительную роль коагуляционных механизмов в повреждении миокарда в этих условиях.

В Н В С Д Н

1. Физическая перегрузка, как и внутривенное введение животным очищенного тканевого тромбопластина /ОТТ/ обуславливает быстрое развитие в их организме генерализованного декомпенсированного тромбиногенеза /ГДТ/, о чем свидетельствует образование в капиллярах миокарда диссеминированного микротромбоза. В этих условиях, одновременно с возникновением микротромбов, развивается дезорганизация межучной соединительной ткани и дегенеративные изменения клеточных элементов сердечной мышцы.

2. При физических перегрузках развиваются значительные изменения ультраструктуры кардиомиоцитов, эндотелиоцитов и перицитов, которые характеризуются однотипностью, мозаичностью и гетерогенностью по степени гидратации. По характеру, выраженности и направленности эти изменения аналогичны изменениям клеточных элементов миокарда, возникающих в условиях "чистого" ГДТ, вызванного внутривенным вливанием ОТТ.

3. Изменения ультраструктуры кардиомиоцитов при физических перегрузках сопровождаются существенным снижением активности сукцинатдегидрогеназы, что свидетельствует о снижении функции митохондрий. Динамика и выраженность этих изменений аналогична изменению активности сукцинатдегидрогеназы в условиях "чистого" ГДТ /коэффициент корреляции 0,93/.

4. Гепарин, введенный внутривенно непосредственно перед выполнением физической нагрузки "до отказа", как и перед вливанием ОТТ, предупреждает не только возникновение диссеминированного микротромбоза, но и развитие изменений структуры межучной соединительной ткани и повреждений ультраструктуры кардиомиоцитов, эндотелиоцитов и перицитов.

5. Предупреждение с помощью гепарина изменений /повреждений/ ультраструктуры кардиомиоцитов при физической нагрузке "до отказа" сопровождается снижением активности сукцинатдегидрогеназы. Аналогичная динамика изменения активности СДГ наблюдается при внутри-

венном введении ОТТ на фоне профилактического применения гепарина /коэффициент корреляции 0,90/.

6. Гепарин, введенный крысам перед выполнением физической нагрузки "до отказа" увеличивает длительность их плавания, то есть увеличивает объем максимально выполненной работы.

7. Полученные результаты убеждают в том, что изменения структуры и функций сердечной мышцы в условиях физических перегрузок, как и в условиях "чистого" ГДТ, являются результатом прямого воздействия тромбина на ультраструктуры различных сред миокарда /крови, МСТ, клеток/, то есть имеют коагуляционный генез.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Установление коагуляционного генеза изменений /повреждений/ структуры и функций миокарда в условиях ГДТ, вызванных физической перегрузкой, позволяет использовать полученные результаты как исходные данные для разработки методов коррекции патологических сдвигов, возникающих в миокарде при нерациональных и чрезмерных нагрузках в практике спорта.

2. Использование современных методов выявления сдвигов в ТПС в процессе тренировочного цикла может дать возможность индивидуально определять адекватность нагрузки и вносить коррекцию в тренировочный процесс.

3. Полученные результаты могут быть использованы при разработке методов повышения функциональных возможностей организма в процессе тренировочного цикла с помощью медикаментозных средств, влияющих на состояние системы свертывания и фибринолиза.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Активність внутрішньомітинних Na^+ , K^+ -АТФази, сукцинатдегідрогенази та цитохромоксидази за умов зрушень у тромбін-плазмінової системі // У Український біохімічний з'їзд.-Тез. доповіді. Івано-Франківськ, вересень 1987 р. - Київ, 1987. - С.99 - 100 /в соавт. с В.А.Монастырским, И.И.Биркой, М.И.Вороняком, И.Б.Выхопцем/.

2. Ультрацитохимическая реакция одновременного выявления сукцинатдегидрогеназы и $5'$ - нуклеотидазы // Проблемы патологии в эксперименте и клинике. - Сборник научных трудов. - Львов, 1987. - т. IX. - С.135 /в соавт. с И.И.Биркой, М.И.Вороняком/.

3. Влияние 100-км пробега на состояние сердечно-сосудистой системы и гемокоагуляцию у здоровых спортсменов // Физиологичес-

кие механизмы адаптации к мышечной деятельности. - Тез. докл. XIX Всесоюзн. конф. 20-23 сентября 1988 г. - Волгоград, 1988. - С.249-250 /в соавт. с В.Н.Мухиным, Л.В.Черновой, С.Ф.Музыкантовой/.

4. Электронномикроскопическое изучение паренхиматозных клеток в условиях гипертромбопластинемии // Проблемы патологии в эксперименте и клинике. - Сборник научных трудов. - Львов, 1988. - Т.Х. - С.97.

5. Патогенез метаболических нарушений клеток паренхиматозных органов в условиях генерализованного декомпенсированного тромбоногеза // Гематология и переливание крови. - Республ. межведомственный сборник. - Киев, 1989. - Т.24. - С.122-125 /в соавт. с В.А.Монастырским, Н.В.Биркой, М.И.Вороняком, И.И.Биркой, А.В.Костей/.

6. К вопросу о влиянии физической перегрузки на миокард // Здоровье детей - забота общая. - Тез. докл. Республиканской научно-практической конф. 23-26 июня 1989 г. - Ашхабад, 1989. - С.166-167 /в соавт. с В.Н.Мухиным, Л.В.Черновой/.

7. Предупреждение гепарином повреждения паренхиматозных органов коагуляционного генеза // Актуальные вопросы трансфузиологии и развития службы крови Литовской ССР - Тез. докл. II Республиканской конференции Литовского республиканского научного общества гематологов и трансфузиологов 20-21 апреля 1989. - Вильнюс, 1989. - С.86-87 /в соавт. с В.А.Монастырским, В.Н.Мухиным, М.И.Вороняком, И.И.Биркой/.

Жон