

ГЕМОСТАЗИОЛОГИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ КРЫС В ПОСТГИПЕРТЕРМИЧЕСКОМ ПЕРИОДЕ ПОСЛЕ ОБЩЕЙ ГИПЕРТЕРМИИ ВЫСОКОГО УРОВНЯ

^{1,2}Николаев В.Ю., ^{1,2}Шахматов И.И., ^{1,2}Киселёв В.И., ¹Улитина О.М., ¹Алексеева О.В.,
¹Бондарчук Ю.А., ¹Николаева К.С.

¹ФГБОУ ВО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России,
Барнаул, e-mail: rector@agmu.ru;

²ФГБУ «НИИ физиологии и фундаментальной медицины» СО РАМН, Новосибирск,
e-mail: iph@physiol.ru

Произведена оценка отставленного влияния общей гипертермии высокого уровня на систему гемостаза крыс. В работе использовались крысы-самцы (100 особей) линии Wistar. Гипертермия моделировалась путем помещения лабораторных животных в среднем на 33 минуты в тепловую камеру с температурой воздуха 45°C. Предварительное общее перегревание крыс до достижения ректальной температуры 43,2°C характеризовалось развитием состояния тромботической готовности, которое сохранялось на протяжении первых 12 часов постгипертермического периода. В последующем (по истечении первых суток наблюдений) регистрировалась стабилизация гемостазиологической картины, выражавшаяся в снижении вероятности развития состояния тромботической готовности, описанного на более ранних этапах восстановительного периода. Однако угнетение фибринолитической активности плазмы крови на фоне активации сосудисто-тромбоцитарного гемостаза и гиперкоагуляции на конечном этапе свертывания, зарегистрированные к окончанию вторых суток восстановительного периода, не позволяют охарактеризовать суммарное состояние системы гемостаза как полноценное восстановление её параметров к исходному уровню.

Ключевые слова: гемостаз, общее перегревание, адаптация, постгипертермия

INDICATORS OF HEMOSTASIS SYSTEM OF RATS IN POSTOPERATIONAL PERIOD AFTER THE GENERAL HIGH-LEVEL HYPERTHERMIA

^{1,2}Nikolaev V.Y., ^{1,2}Shakhmatov I.I., ^{1,2}Kiselev V.I., ¹Ulitina O.M., ¹Alekseev O.V.,
¹Bondarchuk Y.A., ¹Nikolaeva K.S.

¹Altai State Medical University, Barnaul, e-mail: rector@agmu.ru;

²Institute of Physiology and Fundamental Medicine SB RAMS, Novosibirsk, e-mail: iph@physiol.ru

The assessment of delayed effects of whole body hyperthermia on the hemostasis system of rats. We used male rats (100 animals) of Wistar line. Hyperthermia was simulated by placing laboratory animals in an average 33 minutes in a thermal chamber with air temperature of 45°C. Preliminary general overheating of the rats to achieve a rectal temperature of 43.2°C was characterized by the development of thrombotic state of readiness, which was maintained over the first 12 hours posthyperthermal period. In subsequent (after the first day of observations) recorded stabilization of the hemostatic pattern, expressed in the reduced likelihood of development of thrombotic state of readiness described in the earlier stages of the recovery period. However, inhibition of fibrinolytic activity of blood plasma against the background of activation of vascular-platelet hemostasis and hypercoagulability in the final stage of coagulation, was by the end of the second day of the recovery period, do not allow to describe the total state of the hemostatic system as a full-fledged recovery of its parameters to the initial level.

Keywords: hemostasis, general overheating, adaptation, postdeparture

Воздействие высокой температуры на организм млекопитающих, как и действие многих других стресс-факторов, вызывает значительные изменения в различных системах организма, а также сдвиги в метаболических и обменных процессах на молекулярном, клеточном и тканевом уровне [2, 9, 10].

В литературе имеются данные о том, что в развитии осложнений со стороны системной гемодинамики при стрессорных воздействиях значительную роль играют нарушения в системе гемостаза [3, 4, 8]. В ряде исследований было показано, что при однократном действии общей гипертермии на организм лабораторных животных регистрируются фазные изменения

в системе гемостаза: от гиперкоагуляционных- на ранних этапах перегревания, до выраженных гипокоагуляционных- на конечных этапах общей гипертермии [6, 7]. В то же время, важное значение имеет изучение гемостазиологического профиля и в постгипертермическом периоде. В пользу этого свидетельствует факт отставленной во времени смерти пострадавших от общего перегревания: большинство из них погибают через несколько часов после прекращения действия чрезмерного тепла, когда температура тела приближается к нормальному диапазону [10].

В связи с этим, целью настоящей работы явилось изучение отставленного во времени

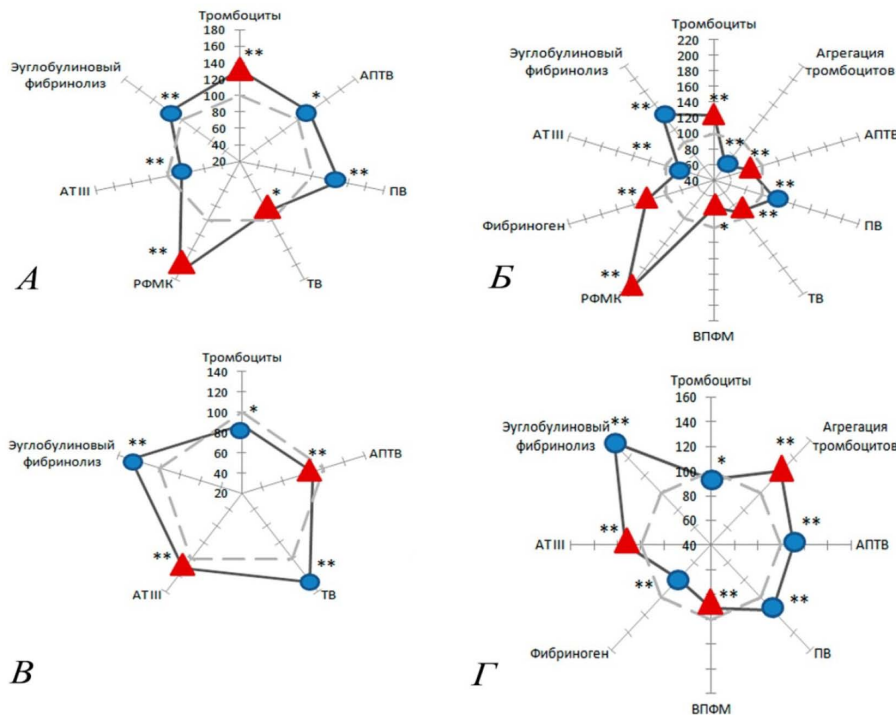
влияния общей гипертермии высокого уровня на состояние сосудисто-тромбоцитарного и плазменного гемостаза крыс.

Материалы и методы исследования

Исследования были выполнены на 100 половозрелых крысах-самцах линии Wistar средней массой $239,0 \pm 15,4$ г. Подопытные (60 крыс) и контрольные (40 крыс) животные до эксперимента содержались в одинаковых условиях. Все экспериментальные животные были разделены на группы: четыре опытные группы ($n = 4 \times 15$) и четыре группы контрольных животных ($n = 4 \times 10$). В ходе экспериментов крысы из опытных групп помещались в воздушный термостат при температуре 45°C . Эту температуру можно считать оптимальной при моделировании общей гипертермии, так как более высокие значения ведут к быстрой гибели животных [6]. Перегревание животных осуществлялось в течение 33 минут до уровня ректальной температуры $43,2^\circ\text{C}$, что, по данным литературы соответствует состоянию гипертермии высокого уровня. Длительность нахождения в термостате для достижения данного уровня температуры ядра была основана на литературных данных, а также подтверждена в ходе предварительных экспериментов [6]. Термометрия осуществлялась с помощью электронного термометра. В группах контроля животные

находились в термостате при комнатной температуре на протяжении такого же времени, что и опытные. Кровь для исследования в объеме 5–6 мл забиралась сразу по истечении установленного времени постгипертермического периода под эфирным наркозом из печеночного синуса. Комплекс методик, позволяющий оценить состояние системы гемостаза, включал исследование агрегационной функции тромбоцитов, коагуляционного звена гемостаза, антикоагулянтной и фибринолитической активности плазмы крови [1]. В качестве реагентов для оценки системы гемостаза использовались диагностические наборы фирмы «Технология–Стандарт» (Россия) с использованием коагулометра «Минилаб» (Россия). Подсчет количества тромбоцитов периферической крови проводился при помощи гематологического анализатора DREW3 – PAC (Великобритания). Данные исследований представлены в виде процентного значения относительно контрольных величин. Исходя из того, что не все наблюдаемые признаки подчинялись нормальному распределению, достоверность различий оценивали при помощи непараметрического U критерия Манна – Уитни. Различия считались достоверными при уровне статистической значимости $p < 0,05$. Статистическую обработку полученных результатов осуществляли при помощи программ математической статистики (JmpStatisticalDiscovery v6.1.2; Biostat 5.03) на персональном компьютере.

Результаты исследования и их обсуждение



Показатели системы гемостаза крыс в постгипертермическом периоде после общей гипертермии высокого уровня (ректальная температура $43,2^\circ\text{C}$):

A – через 5 часов после воздействия; B – через 12 часов после воздействия; B – через 24 часа после воздействия; Г – через 48 часов после воздействия; ▲ – активация; ● – угнетение

На рисунке представлены данные, выраженные в % относительно «контроля». «Контроль» обозначен пунктиром.

Статистическая значимость различий с данными контрольной группы обозначена: * – $p < 0,01$, ** – $p < 0,001$.

Из результатов, приведенных, на рисунке (часть А), установлено, что по прошествии 5 часов восстановительного периода после окончания однократного общего перегрева количество тромбоцитов в экспериментальной группе животных превышало данный показатель контрольной группы на 31 % ($p < 0,001$). Со стороны плазменного гемостаза была зарегистрирована гипокоагуляция как повнутреннему так и по внешнему путям активации свертывания крови. Об этом свидетельствовало удлинение АПТВ в опытной группе на 16 % ($p < 0,01$) и протромбинового времени – на 30 % ($p < 0,001$), соответственно. В тоже время, регистрировалась активация конечного этапа коагуляционного гемостаза, что выражалось в укорочении тромбинового времени в опытной группе на 12 % ($p < 0,01$).

Кроме того, был выявлен и целый ряд маркеров, характерных для состояния тромбоцитической готовности [5]: повышение уровня РФМК в опытной группе крыс на 70 % ($p < 0,001$), снижение уровня антитромбина III на 16 % ($p < 0,001$) на фоне угнетения фибринолитической активности плазмы крови 17 % ($p < 0,001$).

Анализ показателей, оценивающих состояние системы гемостаза по прошествии 12 часов восстановительного периода (рисунок, часть Б), выявлял дальнейшее усугубление риска возникновения тромбоцитического состояния. По-прежнему на критическом уровне оставались маркеры, характерные для состояния тромбоцитической готовности (повышение концентрации РФМК до 200 % ($p < 0,001$) в плазме крови опытных животных, снижение антитромбина III на 17 % ($p < 0,001$) и угнетение фибринолитической активности крови на 44 % ($p < 0,001$)). Кроме того, по истечении 12-часового отрезка восстановительного периода впервые были зарегистрированы гиперкоагуляционные сдвиги как на начальном (АПТВ в опытной группе крыс укорачивалось на 16 % ($p < 0,001$)), так и конечном этапе плазменного гемостаза (укорочение тромбинового времени на 10 % ($p < 0,01$) и времени полимеризации фибриномономеров – на 26 % ($p < 0,001$)).

В то же время, количество тромбоцитов в плазме крови крыс повышалось на 23 % ($p < 0,001$), при этом их агрегационная способность снижалась на 36 % ($p < 0,01$), что говорило об угнетении сосудисто-тромбоцитарного гемостаза.

В дальнейшем, по истечении первых суток после гипертермии высокого уровня (рисунок, часть В), была выявлена тенденция к восстановлению до исходного уровня ряда показателей системы гемостаза. Так, концентрация РФМК в плазме крови возвращалась к значениям контрольной группы. Активность антикоагулянтов по истечении первых суток восстановительного периода превышала контрольные значения на 12 % ($p < 0,001$). По-прежнему регистрировалось угнетение сосудисто-тромбоцитарного звена гемостаза: у крыс опытной группы количество тромбоцитов снижалось на 13 % ($p < 0,01$), при этом изменений их агрегационной активности зафиксировано не было. Кроме того, сохранялись зарегистрированные ранее гиперкоагуляция – на внутреннем (укорочение АПТВ на 11 % ($p < 0,001$)) и гипокоагуляция – на конечном этапе свертывания плазмы крови (удлинение тромбинового времени на 28 % ($p < 0,001$)) на фоне угнетения фибринолитической системы крови на 28 % ($p < 0,001$).

Последующие (вторые) сутки восстановительного периода (рисунок, часть Г) внесли некоторые коррективы в состояние параметров системы гемостаза. 48-часовой постгипертермический период характеризовался уже активацией сосудисто-тромбоцитарного звена гемостаза, что проявлялось в снижении количества тромбоцитов на 7 % ($p < 0,01$) у крыс опытной группы на фоне увеличения их агрегационной активности на 25 % ($p < 0,001$). В тоже время регистрировалась гипокоагуляция на внутреннем и внешнем путях активации свертывания крови: АПТВ в опытной группе крыс повышалось на 11 % ($p < 0,001$), а протромбиновое время – на 15 % ($p < 0,001$) на фоне сниженной на 21 % ($p < 0,001$) концентрации фибриногена.

На прежнем уровне относительно окончания первых суток восстановительного периода оставались повышенная на 13 % ($p < 0,001$) концентрация антитромбина III, а также низкая (на 57 % ($p < 0,001$)) активность фибринолитической системы у крыс опытной группы.

Заключение. Таким образом, данные гемостазиологической картины, изложенные выше, позволяют заключить, что наибольший риск развития состояния тромбоцитической готовности в ходе динамических наблюдений после однократной общей гипертермии высокого уровня приходится на первый 12-часовой отрезок восстановительного периода. В последующем (начиная с первых суток наблюдений) регистрируется некоторая стабилизация гемостазиологической картины, выражающаяся в сни-

жении описанного на более ранних этапах восстановительного периода риска развития состояния тромботической готовности. Однако угнетение фибринолитической активности плазмы крови на фоне повторно развивающейся активации сосудисто-тромбоцитарного гемостаза и гиперкоагуляции на конечном этапе свертывания, зарегистрированное к окончанию вторых суток восстановительного периода, не позволяют охарактеризовать суммарное состояние системы гемостаза как полноценное восстановление её параметров к исходному уровню.

Исходя из этого, мониторинг за состоянием основных параметров системы гемостаза в постгипертермическом периоде у реципиентов после общей гипертермии высокого уровня, является актуальным с точки зрения раннего выявления и профилактики развития тромботических осложнений.

Список литературы

1. Воробьев А.И. Руководство по гематологии: в 3 томах / под ред. А.И. Воробьева, 3-е изд-е, переработ, и доп. – М.: Ньюдиамед, 2002. – Т.1. – 280 с.
2. Ефремов А.В. Саногенетические механизмы влияния общей гипертермии при канцерогенезе / А.В. Ефремов, Е.В. Овсянко, И.Д. Сафронов // Астана медициналык журналы. – 2012. – № 3 (71). – С. 274–277.
3. Зубаиров Д.М. Молекулярные основы свертывания крови и тромбообразования / Д.М. Зубаиров. – Казань: ФЭН, 2000. – 367 с.
4. Кузник Б.И. Геморрагические и тромботические заболевания и синдромы у детей / Б.И. Кузник, В.Г. Стуров, О.Г. Максимова. – Новосибирск: «Наука», 2012. – 456 с.
5. Момот А.П. Патология гемостаза: принципы и алгоритмы клиничко-лабораторной диагностики / А.П. Момот. – СПб.: ФормаТ, 2006. – 208 с.
6. Николаев В.Ю. Система гемостаза у крыс при различных режимах однократной гипертермической нагрузки // Современные проблемы науки и образования. – 2014. – № 4 (54),– С. 6. URL: www.science-education.ru/118-14114 (дата обращения: 04.11.2016).
7. Николаев В.Ю. Состояние системы гемостаза у крыс в раннем восстановительном периоде после острого однократного общего перегревания / В.Ю. Николаев, И.И. Шахматов, В.И. Киселёв, С.В. Москаленко // Фундаментальные исследования. – 2015. – № 1 (часть 4). – С. 805–809.
8. Шахматов И.И. Реакции системы гемостаза на стрессорные воздействия и возможности их коррекции // Дис. док. мед. наук; Алт. гос. мед. ин-т. – Барнаул, 2011. – 288 с.
9. Repasky E.A., Lee M. Complex effects of hyperthermia on the immune system and implications for cancer therapy // Abstract ICHO, 2008, - P.9.
10. Xiaoming H. Thermostability of biological systems: fundamentals, challenges, and quantification / H.Xiaoming // The Open BiomedicalEngineering Journal. -2011. – № 5. – P. 47–73.