

УДК 612.014.43:612.592:615-005.1-08

ВКЛАД СТРЕССОРОВ РАЗЛИЧНОЙ ПРИРОДЫ В ФОРМИРОВАНИЕ ОТВЕТНОЙ ГЕМОСТАТИЧЕСКОЙ РЕАКЦИИ ОРГАНИЗМА ПРИ ДЕЙСТВИИ ОБЩЕЙ ГИПОТЕРМИИ

Лычева Н.А., Киселев В.И., Шахматов И.И., Вдовин В.М.
*ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет»
Минздрава России, Барнаул;
ФГБУ «НИИ физиологии и фундаментальной медицины» СО РАМН,
Новосибирск, e-mail: kuzminan_86@mail.ru*

Оценивалось комплексное воздействие стрессорных факторов в формировании наблюдаемых гемостатических сдвигов, исследовался вклад психоэмоционального компонента в развитие ответной реакции системы гемостаза на холодовое воздействие и «чистый эффект» гипотермии. При оценке сочетанного воздействия стрессорных факторов было выявлено развитие состояния тромботической готовности у экспериментальных животных. Это подтверждалось выраженным увеличением агрегационных свойств тромбоцитов, появлением в кровотоке значительного количества растворимых фибрин-мономерных комплексов (РФМК) и укорочением времени их полимеризации на фоне снижения концентрации антитромбина III (АТ III) и выраженного угнетения фибринолитической активности плазмы крови. При исследовании вклада острого психоэмоционального стресса было выявлено увеличение количества тромбоцитов при уменьшении их агрегационной активности, активация контактной фазы и внутреннего пути свертывания крови. В свою очередь, эффекты «чистой гипотермии» сопровождалась активацией сосудисто-тромбоцитарного гемостаза, что выражалось в увеличении количества тромбоцитов и возросшей активности их агрегационных свойств. Со стороны плазменного гемостаза в кровотоке регистрировались РФМК и наблюдалось укорочение времени их полимеризации. Усугубляло гемостазиологическую картину снижение концентрации АТ III и выраженное угнетение фибринолитической системы. Таким образом, анализ комплексного воздействия стрессорных факторов при острой гипотермии демонстрирует развитие дистрессорного состояния системы гемостаза, ключевая роль в развитии которого принадлежит термическому фактору.

Ключевые слова: стресс, гипотермия, гемостаз

CONTRIBUTION STRESSORS OF DIFFERENT NATURE IN THE FORMATION OF A HEMOSTATIC RESPONSE REACTION OF THE ORGANISM UNDER THE INFLUENCE OF GENERAL HYPOTHERMIA

Lycheva N.A., Kiselev V.I., Shakhmatov I.I., Vdovin V.M.
*Medical University AGMU Russian Ministry of Health, Barnaul;
FGBI «Institute of Physiology and Fundamental Medicine» SB RAMS,
Novosibirsk, e-mail: kuzminan_86@mail.ru*

Assessed the combined effect of stress factors in the formation of the observed hemostatic changes, investigated the contribution of mental and emotional component in the development of the hemostatic system response to cold exposure and the «net effect» of hypothermia. In assessing the combined effects of stressing factors were identified development of thrombotic state of readiness in experimental animals. This was confirmed by a pronounced increase of platelet aggregation, the emergence of a significant amount of circulating soluble fibrin monomer complexes (SFMC) and shortening the time of their polymerization due to lower concentrations of antithrombin III (AT III) and marked inhibition of fibrinolytic activity of blood plasma. In the study of the contribution of acute emotional stress showed an increase in platelet count decreases their aggregation activity, and activation of the contact phase of the intrinsic pathway of blood coagulation. In turn, the effects of «pure hypothermia» accompanied by the activation of vascular-platelet hemostasis, which was reflected in an increase in platelet count and increased activity of their aggregation properties. From the side of plasma hemostasis in the bloodstream and recorded SFMC observed shortening the time of their polymerization. Aggravated gemostaziologicheskikh picture reduction in the concentration of AT III and marked inhibition of the fibrinolytic system. Thus, the analysis of complex influence stressing factors in acute hypothermia distressornogo demonstrates the development of the hemostatic system, a key role in the development of which belongs to the thermal factor.

Keywords: stress, hypothermia, hemostasis

Под гипотермией понимают состояние организма, при котором температура тела падает до уровня, ниже необходимого для поддержания нормального обмена веществ. Общее переохлаждение является как одним из стрессорных факторов внешней среды, так и находит применение в практической медицине. При холодовом воздействии на организм выраженность и характер его реакции зависят от соотношения нервного

и гуморального регуляторных компонентов [14]. Под нервным компонентом подразумевают активацию симпатно-адреналовой системы, направленную на ограничение теплоотдачи и усиление теплопродукции, что сопровождается вазоконстрикцией, учащением сердцебиения, смещением констант крови и т.д. [2, 3]. При проведении управляемой гипотермии в клинической практике с целью снижения или исключения

нейронального компонента ответной реакции используется предварительная наркотизация пациента. В естественных условиях при действии гипотермии повреждающее действие холода на ткани вызывает комплексную ответную реакцию организма. В частности, массивное действие гипотермии на сосудистое русло сопровождается существенным изменением реологических свойств крови, что приводит к развитию выраженных сдвигов в реакциях гемостатического каскада [5, 8, 14, 15]. Одним из наиболее грозных осложнений гипотермического воздействия являются тромбозы [9].

Целью нашей работы явилась оценка сочетанного воздействия стрессирующих факторов в формировании наблюдаемых гемостатических сдвигов, а также изучение вклада как психоэмоционального компонента в развитии ответной реакции системы гемостаза на холодное воздействие, так и выявление «чистого эффекта» гипотермии.

Материалы и методы исследования

Исследования выполнены на 53 лабораторных крысах линии Wistar. Для получения референсных значений системы гемостаза была исследована кровь 30 интактных животных. В качестве контрольных (группа для оценки психоэмоционального стресса) выступали животные, помещаемые в индивидуальных клетках в воду температурой 30°C на время, соответствующее времени нахождения опытной группы.

Опытная группа животных подвергалась однократной иммерсионной гипотермии путем помещения животных, находившихся в индивидуальных клетках, в емкости с водой на глубину 4,5 см при температуре воды 5°C, воздуха 7°C [7]. Животные находились в камере до достижения ректальной температуры 27–30°C. Время экспозиции было индивидуальным и в среднем составляло 30 ± 5 минут.

Забор крови у животных обеих групп осуществлялся сразу после извлечения из воды. Кровь для исследования в объеме 5 мл получали путем забора из печеночного синуса в полистироловый шприц, содержащий 0,11 М (3,8%) раствора цитрата натрия (соотношение крови и цитрата 9:1). На протяжении недельной адаптации к условиям вивария все крысы находились в стандартных условиях содержания, предусмотренных требованиями Всемирного общества защиты животных (WSPA) и Европейской конвенции по защите экспериментальных животных.

У всех животных исследовались показатели тромбоцитарного и коагуляционного гемостаза, а также антикоагулянтная и фибринолитическая активность плазмы [1] с помощью наборов фирмы «Технология-Стандарт» (Россия). Анализ показателей периферической крови производился при помощи гематологического анализатора «Drew-3» (США). Индуцированную агрегацию тромбоцитов проводили по G.V.R. Born (1962) на агрегометре «Биола», при этом в качестве индуктора использовался раствор АДФ концентрацией 10 мкг/мл.

Сравнение полученных результатов осуществляли путем вычисления средних значений и ошибки среднего ($M \pm m$). Статистический анализ выполнен с исполь-

зованием непараметрических методов (U-критерий Манна – Уитни) на персональном компьютере с использованием пакета прикладных статистических программ Statistica 6.0 (StatSoft, США). Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез в данном исследовании принимали равным 0,05.

Результаты исследования и их обсуждение

В таблице приведены данные показателей гемостаза, полученные у интактной, контрольной и опытной групп животных.

Сочетанное влияние психоэмоционального напряжения и гипотермии оценивалось при сравнении результатов, полученных у интактных и опытных животных. Комплексное воздействие стрессирующих факторов сопровождалось существенными изменениями в изучаемой системе. Оценка состояния сосудисто-тромбоцитарного гемостаза показала, что совокупность исследуемых воздействий вызывала увеличение числа кровяных пластинок на 15% ($p < 0,05$) и повышение их агрегационных свойств в 1,8 раза ($p < 0,05$).

При оценке плазменного гемостаза выявлялся гиперкоагуляционный сдвиг в состоянии контактного пути активации процессов свертывания. Так, силиконовое время свертывания укорачивалось на 50% ($p < 0,05$). При сравнении показателей, отражающих конечный этап свертывания, регистрировалось смещение гемостатического потенциала плазмы в сторону гиперкоагуляции. Это проявлялось в появлении значительного количества растворимых фибрин-мономерных комплексов на 80% и укорочении времени их полимеризации на 20% соответственно ($p < 0,05$). Кроме того, наблюдалось увеличение количества фибриногена на 16% ($p < 0,05$).

В противосвертывающей системе, оцениваемой по концентрации антитромбина III, изменений выявлено не было. При этом активность фибринолитической системы, оцениваемая по времени спонтанного лизиса эуглобулинов, снижалась в 2,5 раза ($p < 0,05$).

Отсутствие реакции со стороны противосвертывающей системы и выраженное угнетение фибринолитической активности плазмы на фоне появления в кровотоке растворимых фибрин-мономерных комплексов (маркеров тромбинемии) демонстрирует развитие у опытных животных состояния тромбоцитарной готовности [6].

В опубликованных ранее работах нами было показано, что при развитии срочных реакций в рамках эустресса наблюдается дружественная активация гемокоагуляции на фоне роста антикоагулянтной и фибринолитической активности, в то время как описанные нами изменения демонстрируют разбалансировку этих систем, характерную для развития дистресса [10, 11, 12, 13].

Коагулограмма крыс (M ± m)

Параметр	Интактные животные (n = 30)	Контрольная группа (n = 10)	Опытная группа (n = 13)	p 1-2 p 1-3 p 2-3
Количество тромбоцитов, 10 ⁹ /л	379,8 ± 32,3	522,6 ± 16,6	601,3 ± 22,2	p ₁₋₂ < 0,05 p ₁₋₃ < 0,05 p ₂₋₃ < 0,05
Агрегация, отн.ед	28,6 ± 2,3	11,4 ± 3,3	52,4 ± 11,6	p ₁₋₂ < 0,05 p ₁₋₃ < 0,05 p ₂₋₃ < 0,05
Силиконовое время, с	272,1 ± 20,1	113,7 ± 15,6	145,6 ± 8,5	p ₁₋₂ < 0,05 p ₁₋₃ < 0,05 p ₂₋₃ > 0,05
АПТВ, с	17,2 ± 0,4	13,9 ± 1,0	19,1 ± 1,9	p ₁₋₂ < 0,05 p ₁₋₃ > 0,05 p ₂₋₃ > 0,05
Протромбиновое время, с	22,3 ± 0,9	22,6 ± 0,5	25,1 ± 1,1	p ₁₋₂ > 0,05 p ₁₋₃ > 0,05 p ₂₋₃ > 0,05
Тромбиновое время, с	39,2 ± 2,5	44,2 ± 3,6	38,1 ± 3,3	p ₁₋₂ > 0,05 p ₁₋₃ > 0,05 p ₂₋₃ > 0,05
Эхитоксовое время, с	23,7 ± 1,3	24,3 ± 0,5	26,1 ± 2,1	p ₁₋₂ > 0,05 p ₁₋₃ > 0,05 p ₂₋₃ > 0,05
РФМК, мг/100 мл	3,3 ± 0	3,0 ± 0	5,4 ± 1,3	p ₁₋₂ > 0,05 p ₁₋₃ < 0,05 p ₂₋₃ < 0,05
Фибриноген, г/л	1,8 ± 0,1	2,1 ± 0,1	2,1 ± 0,1	p ₁₋₂ > 0,05 p ₁₋₃ < 0,05 p ₂₋₃ > 0,05
ВПФМ	2,2 ± 0,1	2,2 ± 0,1	1,8 ± 0,1	p ₁₋₂ > 0,05 p ₁₋₃ < 0,05 p ₂₋₃ < 0,05
АТ III, %	96,1 ± 3,7	113,7 ± 2,1	81,4 ± 18,0	p ₁₋₂ > 0,05 p ₁₋₃ > 0,05 p ₂₋₃ < 0,05
Эуглобулиновый фибринолиз, мин	498,4 ± 34,8	487,0 ± 37,9	1199,6 ± 147,8	p ₁₋₂ > 0,05 p ₁₋₃ < 0,05 p ₂₋₃ < 0,05

Пр и м е ч а н и е . n – число наблюдений; p – уровень статистической значимости различий сравниваемых показателей.

При сравнении интактной и контрольной групп оценивалось влияние психоэмоционального стресса, возникающего у животных при помещении их в несвойственные им условия среды. При оценке состояния сосудисто-тромбоцитарного гемостаза выявлено увеличение числа кровяных

пластинок на 37% и снижение их агрегационной способности в 2,5 раза ($p < 0,05$). Кроме того, психоэмоциональный стресс сопровождался развитием гиперкоагуляционного сдвига, выражавшегося в укорочении силиконового времени и активированного парциального тромбопластинового

времени свертывания на 60 и 20% соответственно ($p < 0,05$). Наблюдаемые нами изменения в системе гемостаза согласуются с литературными данными, в которых описывается активирующее влияние острого психоэмоционального стресса на коагуляционную систему [10, 11, 13, 4]. Отсутствие изменений со стороны противосвертывающей и фибринолитической систем характеризует действие психоэмоционального стрессора как недостаточное для развития классической ответной стресс-реакции со стороны системы гемостаза.

Изолированное влияние гипотермии на систему гемостаза оценивалось при сравнении результатов, полученных у контрольной и опытной групп животных, подвергавшихся иммерсионному погружению при различных температурных режимах.

«Чистый эффект» гипотермии со стороны тромбоцитарного гемостаза проявлялся в увеличении количества тромбоцитов на 15% ($p < 0,05$) и повышении агрегационной способности тромбоцитов в 4,5 раза ($p < 0,05$).

Со стороны плазменного гемостаза наблюдалась активация конечного этапа свертывания, что проявлялось в увеличении концентрации растворимых фибрин-мономерных комплексов на 80% ($p < 0,05$) и укорочении времени их самосборки на 20% ($p < 0,05$). Отмеченные показатели являются маркерами состояния тромбоцитической готовности [6].

Уровень антитромбина III, характеризующий состояние антикоагулянтной системы, в ходе опытного воздействия снижался на 30% ($p < 0,05$). При этом активность фибринолитической системы снижалась в 2,5 раза ($p < 0,001$).

Согласно литературным данным, гипотермия характеризуется развитием вазодилатации сосудов, развивающейся вслед за первичным спазмом артериол, что сопровождается частичным восстановлением кровотока и активацией процессов тромбообразования [2, 3]. Таким образом, угнетение активности фибринолитической системы у экспериментальных животных на фоне активации процессов тромбообразования можно рассматривать как целесообразную реакцию, необходимую для отграничения участка локального повреждения тканей при холодовой травме и предотвращения диссеминации продуктов клеточного распада, стимулирующих тромбогенез. Однако на уровне целостного организма совокупность описываемых нами изменений, зарегистрированных при экспериментальном воздействии, свидетельствует о негативном влиянии гипотермии на состояние систем-

ного гемостаза. Так, появление маркеров тромбообразования на фоне снижения концентрации антитромбина III как главного компонента антикоагулянтной системы, а также существенное угнетение фибринолитической активности плазмы крови свидетельствует о развитии тромбоцитической готовности на данном этапе гипотермического воздействия.

Выводы

Комплексное воздействие стрессоров, оказывающих влияние на организм при гипотермии, приводит к формированию дистрессорной реакции со стороны системы гемостаза, характеризующейся развитием состояния тромбоцитической готовности.

1. Психоэмоциональный компонент данного стрессорного воздействия не сопровождается сколько-нибудь значительными изменениями в системе гемостаза, что позволяет охарактеризовать его как эустрессор, приводящий к незначительной активации системы свертывания.

2. Основной вклад в развитие комплексных сдвигов, зарегистрированных в системе гемостаза, вносит гипотермическое воздействие. Появление в кровотоке маркеров тромбинемии на фоне снижения антикоагулянтной и угнетения фибринолитической активности плазмы крови может быть охарактеризовано как состояние дистресса. Совокупность изменений, зарегистрированных при данном режиме гипотермии, свидетельствует о развитии состояния тромбоцитической готовности.

Список литературы

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. – М.: Ньюдиамед-АО, 2008. – 292 с.
2. Гаврилин Е.В. Диагностическое и прогностическое значение исследований нарушений микроциркуляции при отморожениях: автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Томск, 1988. – 22 с.
3. Григорьева Т.Г. Холодовая травма // Междунар. мед. журн. – 2001. – № 2. – С. 42–48.
4. Дворянский С.А., Овчинников В.В. Некоторые аспекты адаптации и состояния гемостаза на севере // Вятский медицинский вестник. – 2010. – № 1. – С. 102–105.
5. Доровских В.А. Антиоксиданты в профилактике и коррекции холодового стресса. – Благовещенск: 2001. – 183 с.
6. Момот А.П., Цыпкина Л.П., Тараненко И.А. Современные методы распознавания тромбоцитической готовности. – Барнаул: Изд-во Алт. ун-та, 2011. – 138 с.
7. Северина Т.Г., Кубарко А.П. Влияние острой иммерсионной гипотермии на температуру тела и активность лизосомальных ферментов печени устойчивых и неустойчивых к холоду крыс // Медицинский журнал. – 2009. – № 2. – С. 112–115.
8. Старков Ю.Л., Соколович Г.Е., Король Л.Н. Современные представления о патогенезе некрозообразования при отморожениях и путях его предотвращения // Новые технологии в хирургии. – 1999. – С. 151–154.

9. Шаповалов К.Г., Михайличенко М.И., Витковский Ю.А. Лимфоцитарно-тромбоцитарные взаимодействия у больных с холодовой травмой // *Забайкал. мед. Вестн.* – 2006. – № 2. – С. 19–21.

10. Шахматов И.И. Влияние различной продолжительности однократной физической нагрузки и иммобилизации на реакции системы гемостаза // *Фундаментальные исследования.* – 2010. – № 3. – С. 144–150.

11. Шахматов И.И. Влияние однократной иммобилизации различной интенсивности на реакции системы гемостаза // *Бюллетень СО РАМН.* – 2011. – № 4. – С. 33–36.

12. Шахматов И.И., Вдовин В.М., Киселев В.И. Состояние системы гемостаза при различных видах гипоксического воздействия // *Бюллетень Сибирского отделения Российской академии медицинских наук.* – 2010. – № 2. – С. 131–138.

13. Шахматов И.И., Киселев В.И. Влияние кратковременного стресса на гемостаз у крыс // *Казанский медицинский журнал.* – 2010. – № 4. – С. 464–467.

14. Ikäheimo T.M. Frostbites in circumpolar areas // *Glob. Health. Action.* – 2011. – № 4. – С. (8456).

15. Mohr W.J. Cold injury // *Hand Clin.* – 2009. – № 4. – С. 481–496.

References

1. Barkagan Z.S., Momot A.P. Diagnostika i kontroliruemaja terapija narushenij gemostaza. M.: N'judiamed AO, 2008. 292 p.

2. Gavrilin E.V. Diagnosticheskoe i prognosticheskoe znachenie issledovanij narushenij mikrocirkuljacii pri otmorozenijah : Avtoref. dis. kand. med. nauk. Tomsk, 1988. 22 p.

3. Grigor'eva T.G. *Mezhdunar. med. zhurn.*, 2001, no. 2, pp. 42–48.

4. Dvorjanskij S.A., Ovchinnikov V.V. *Vjatskij medicinskij vestnik.*, 2010, no.1, pp. 102–105.

5. Dorovskih V.A. Antioksidanty v profilaktike i korrekcii holodovogo stressa. Blagoveshensk: 2001. 183 p.

6. Momot A.P. Cыvkina L.P., Taranenko I.A. Sovremennye metody raspoznavanija tromboticheskoi gotovnosti. Barnaul: Izd-vo Alt. un-ta, 2011. 138 p.

7. Severina T.G., Kubarko A.P. *Medicinskij zhurnal*, 2009, no. 2, pp. 112–115.

8. Starkov Ju.L., Sokolovich G.E., Korol' L.N. *Novye tehnologii v hirurgii*, 1999, pp. 151–154.

9. Shapovalov K.G., Mihajlichenko M.I., Vitkovskij Ju.A. *Zabajkal. med. Vestn.*, 2006, no.2, pp. 19–21.

10. Shahmatov I.I. *Fundamental'nye issledovanija*, 2010, no. 3, pp. 144–150.

11. Shahmatov I.I. *Bjulleten' SO RAMN*, 2011, no. 4, pp. 33–36.

12. Shahmatov I.I., Vdovin V.M., Kiselev V.I. *Bjulleten' SO RAMN*, 2010, no.2, pp. 131–138.

13. Shahmatov I.I., Kisilev V.I. *Kazanskij medicinskij zhurnal*, 2010, no.4, pp. 464–467.

14. Ikäheimo T.M. *Glob. Health. Action.*, 2011, no.4, pp. (8456)

15. Mohr W.J. *Hand Clin.*, 2009, no.4, pp. 481–496.

Рецензенты:

Куликов В.П., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой патологической физиологии, функциональной и ультразвуковой диагностики, ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Барнаул, главный научный сотрудник ФГБУ «НИИ физиологии и фундаментальной медицины» СО РАМН, г. Новосибирск;

Момот А.П., д.м.н., профессор, директор Алтайского филиала, ФГБУ «Гематологический научный центр Министерства здравоохранения Российской Федерации», г. Барнаул.

Работа поступила в редакцию 18.04.2014.