

УДК 612.115.38

## СОСТОЯНИЕ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА КРЫС В РАННЕМ ВОССТАНОВИТЕЛЬНОМ ПЕРИОДЕ ПОСЛЕ ОДНОКРАТНОГО ОБЩЕГО ПЕРЕГРЕВАНИЯ

<sup>1,2</sup>Николаев В.Ю., <sup>1,2</sup>Шахматов И.И., <sup>1,2</sup>Киселёв В.И., <sup>1</sup>Москаленко С.В.

<sup>1</sup>ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет»

Минздрава России, Барнаул, e-mail: rector@agmu.ru;

<sup>2</sup>ФГБУ «НИИ физиологии и фундаментальной медицины» СО РАМН,

Новосибирск, e-mail: iph@physiol.ru

Цель: проанализировать адаптационные реакции системы гемостаза после острого перегревания организма у крыс, достигших стадии двигательного возбуждения. Метод и модель: в работе использовались крысы-самцы (100 особей) линии Вистар. Гипертермия моделировалась помещением лабораторных животных в среднем на 19 мин в тепловую камеру (термостат) с температурой воздуха внутри + 45°C. Результаты и обсуждение: в раннем восстановительном периоде после общего перегревания регистрировалось усиление степени гиперкоагуляционных сдвигов в системе гемостаза. В то же время отсутствие роста уровня растворимых фибрин-мономеров, являющихся маркерами тромбинемии указывало на отсутствие формирования состояния претромботической готовности. Установлено, что с увеличением продолжительности восстановительного периода после однократного гипертермического воздействия усиливалась степень гипокоагуляционных сдвигов в системе гемостаза. Однако по прошествии 2-х суток большинство исследуемых показателей восстанавливалось, что свидетельствует о нормализации к этому сроку гемостазиологического статуса.

**Ключевые слова:** гемостаз, общее перегревание, ранний восстановительный период

## THE HEMOSTATIC SYSTEM IN RATS IN AN EARLY RECOVERY PERIOD AFTER SINGLE GENERAL OVER HEATING

<sup>1,2</sup>Nikolaev V.Y., <sup>1,2</sup>Shakhmatov I.I., <sup>1,2</sup>Kiselev V.I., <sup>1</sup>Moskalenko S.V.

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

<sup>2</sup>FGBI «Institute of Physiology and Fundamental Medicine» SB RAMS,

Novosibirsk, e-mail: iph@physiol.ru

Objective. To analyze the adaptive response of the hemostatic system in rats in a step motor excitation after acute hyperthermia. Method and Model: We used male rats (100 individuals) Wistar. Hyperthermia was simulated by placing laboratory animals at a certain time in the heat chamber (thermostat) with the air temperature inside + 45°C. Results and Discussion: In the early recovery period after the general overheating recorded increased degree of hypercoagulation shifts in the hemostatic system. At the same time, the lack of growth in the level of soluble fibrin monomers, which are markers thrombinemia, indicating the absence of the formation of the state of readiness prethrombotic. It was found that with increasing duration of the recovery period after a single hyperthermic effect increases the degree hypocoagulation changes in the hemostatic system. However, after 2 days the majority of the studied parameters were restored, indicating that the normalization of this date hemostatic status.

**Keywords:** hemostasis, general overheating, early recovery period

Температура тела является одним из важнейших параметров гомеостаза, поскольку уровень метаболизма в клетках, тканях, органах значительно зависит от температуры ядра. Поэтому любое отклонение от температурной константы вызывает изменение скорости обменных процессов в организме [5, 8, 10].

Известно, что состояние общей гипертермии тела представляет собой один из вариантов тяжелого стресса, адаптация к которому лежит за пределами физиологических возможностей организма [4, 5].

Несомненно, что системе крови как одной из наиболее реактивных систем организма принадлежит существенная роль в формировании адаптивного ответа при действии на организм высокой температуры. Ранее установлено, что

в зависимости от интенсивности и длительности стрессорных воздействий реакция со стороны системы крови и, в частности, системы гемостаза, определяющей её реологические характеристики, может быть как адаптивной, так и дизадаптивной [6].

При этом механизмы адаптации влияния гипертермии на различные звенья системы гемостаза изучены не достаточно подробно. Вызывают интерес и процессы, происходящие в системе гемостаза после прекращения действия этого эквантропного фактора [1, 5].

Таким образом, целью работы явилось изучение адаптивной реакции системы гемостаза у крыс в раннем восстановительном периоде после острого общего перегревания.

### Материалы и методы исследования

Исследования были выполнены на 100 половозрелых крысах-самцах линии Wistar средней массой  $230,0 \pm 14,7$  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 опытных групп помещались в воздушный термостат при температуре  $+45^\circ\text{C}$ . Эту температуру можно считать оптимальной при моделировании общей гипертермии, так как более высокие значения ведут к гибели животных.

Перегревание животных осуществлялось в течение 19 минут до уровня ректальной температуры в среднем  $+41,7^\circ\text{C}$ , что соответствовало стадии двигательного возбуждения. Длительность нахождения в термостате для достижения стадии двигательного возбуждения была основана на литературных данных, а также подтверждена в ходе предварительных экспериментов [1, 2]. Термометрия осуществлялась с помощью электронного термометра, что позволяло с высокой точностью измерить даже небольшие перепады температур.

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 времени нахождения в термостате, под эфирным наркозом из печеночного синуса.

Комплекс методик, позволяющий оценить состояние системы гемостаза, включал исследование агрегационной активности тромбоцитов, коагуляционного звена гемостаза, антикоагулянтной и фибринолитической систем. В качестве реагентов для оценки системы гемостаза были выбраны диагностические наборы фирмы «Технология – Стандарт» (Россия) с использованием коагулометра «Минилаб» (Россия). Подсчет показателя гематокрита и количества тромбоцитов периферической крови проводился при помощи гематологического анализатора Drew3 – PАС (Великобритания).

Данные исследований представлены в виде ( $m$  [25–75 %]), где  $m$  – медиана в выборочной совокупности, [25–75 %] – 25-й и 75-й перцентиль.

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 (Jmp Statistical Discovery v6.1.2; Biostat 5.03) на персональном компьютере.

### Результаты исследования и их обсуждение

Сравнительный анализ результатов исследования показателей тромбоцитарного и коагуляционного звеньев гемостаза, зарегистрированных через различные периоды времени с момента окончания воздействия гипертермии, приведен в таблице.

Как видно из данных, представленных в таблице, сразу после однократного гипертермического воздействия отмечалось снижение количества тромбоцитов, однако по мере увеличения периода времени, прошедшего после общего перегревания, количество тромбоцитов увеличивалось с достижением максимального уровня ко вторым суткам. Агрегационная способность тромбоцитов резко возростала сразу после перегревания, однако, уже через 5 часов после гипертермического воздействия отмечалось снижение агрегации тромбоцитов. В последующем, по прошествии 12 часов агрегационная способность тромбоцитов восстанавливалась с последующим повышением к 48 часам.

Со стороны плазменного гемостаза в течение первых суток после острого перегревания отмечалась гиперкоагуляция на внутреннем пути активации плазменного гемостаза (по данным АПТВ), сменявшаяся ко 2-м суткам гипокоагуляцией. На внешнем пути активации свертывания (по данным протромбинового времени) через 5 часов после воздействия была зафиксирована гиперкоагуляция, сменявшаяся так же, как и на внутреннем пути свертывания, ко 2-м суткам гипокоагуляцией. При этом на конечном этапе свертывания крови (по данным тромбинового времени) на протяжении всех первых суток после острого перегревания регистрировалась гипокоагуляция, сменявшаяся нормализацией показателя на следующие сутки (рисунок).

Концентрация РФМК сразу после общего перегревания значительно возростала, однако полностью стабилизировалась уже к 5 часам восстановительного периода.

Уровень фибриногена, повышенный в первые часы после гипертермического воздействия, к 5 часам после окончания перегревания снижался, после чего, начиная с 12 часов восстановительного периода, этот показатель уже не отличался от контрольных цифр. Уровень АТ III, сниженный сразу по окончании воздействия, в последующем на всем протяжении раннего восстановительного периода оставался в пределах нормальных значений. Угнетение фибринолитической системы крови регистрировалось как сразу после окончания гипертермического воздействия, так и начиная со вторых суток восстановительного периода. При этом в интервале от 5 и до 12 часов первых суток была зафиксирована незначительная активация литической активности плазмы крови.

Показатели системы гемостаза в первые двое суток после однократного общего перегревания (*m* [25–75%])

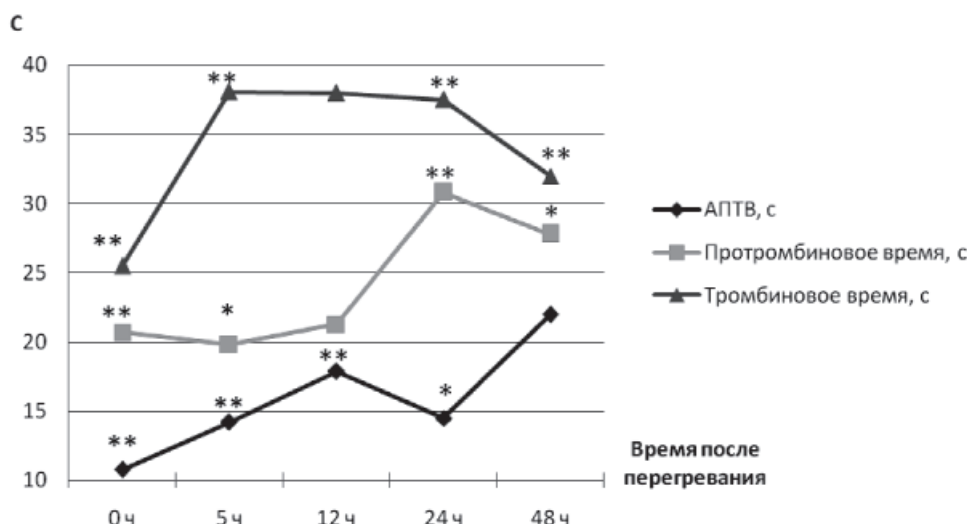
№ п/п	Показатели	Опыт ( <i>n</i> = 15), медиана 25 и 75 процентиля				
		Однократный эксперимент Опыт	Отсроченные результаты через 5 ч 1-я	Отсроченные результаты через 12 ч 2-я	Отсроченные результаты через 24 ч 3-я	Отсроченные результаты через 48 ч 4-я
1	Тромбоциты, ·10 <sup>9</sup> /л	489,0 [476,0–493,5] (Δ – 9%)	532,0 [524,0–543,0]	484,5 [476,5–511,5]	568,0 [532,5–570] (Δ + 9%)	593,0 [577,0–596,0] (Δ + 13%)
2	Агрегация, макс. знач.	45,2 [42,6–49,7] (Δ + 47%)	22,5 [21,0–24,4] (Δ – 28%)	32,8 [28,0–39,7]	31,5 [29,0–35,3]	29,9 [29,9–35,5] (Δ + 7%)
3	АПТВ, с	10,8 [9,0–11,1] (Δ – 33%)	14,2 [13,7–14,9] (Δ – 14%)	17,9 [17,2–18,3]	14,5 [14,2–15,3] (Δ – 14%)	22,0 [22,0–24,8] (Δ + 30%)
4	Протромбиновое время, с	20,7 [18,2–21,4] (Δ – 6%)	19,8 [19,3–21,3] (Δ – 10%)	21,3 [20,7–22,3]	30,8 [30,0–31,9] (Δ + 45%)	27,8 [27,0–27,9] (Δ + 28%)
5	Тромбиновое время, с	25,5 [23,7–26,0] (Δ – 15%)	38,1 [35,4–38,2] (Δ + 19%)	38,0 [36,8–39,7] (Δ + 11%)	37,5 [36,7–41,2] (Δ + 12%)	32,0 [30,4–33,1]
6	ВПФМ, с	51,6 [50,5–55,0] (Δ – 9%)	44,3 [43,4–48,0] (Δ – 22%)	67,0 [59,3–77,0] (Δ + 17%)	59,6 [53,5–77,7]	48,7 [35,3–49,7]
7	РФМК, мг/ 100 мл	7,4 [6,3–7,4] (Δ + 147%)	3,0 [3,0–3,0]	3,0 [3,0–3,0]	3,0 [3,0–3,0]	3,0 [3,0–3,0]
8	Фибриноген, г/л	3,4 [3,0–3,9] (Δ + 17%)	2,0 [1,9–2,0] (Δ – 27%)	2,8 [2,7–2,9]	2,9 [2,8–3,0]	2,7 [2,7–2,8]
9	АТ III, %	90,1 [87,4–92,5] (Δ – 10%)	95,8 [90,7–102,7]	100,5 [99,0–101,5]	100,9 [98,7–103,7]	103,4 [99,2–104,4]
10	Спонтанный эуглобулиновый фибринолиз, мин	690,0 [690,0–750,0] (Δ + 31%)	450,0 [450,0–480,0] (Δ – 17%)	510,0 [480,0–525,0] (Δ – 11%)	870,0 [840,0–870,0] (Δ + 49%)	900,0 [840,0–967,5] (Δ + 46%)

Примечания: РФМК – растворимые фибрин-мономерные комплексы; АПТВ – активированное парциальное тромбопластиновое время; ВПФМ – время полимеризации растворимых фибрин-мономерных комплексов; АТ III – антитромбин III; Δ (%) – статистически значимая разница опытной группы относительно контрольной.

Таким образом, сразу после острого перегревания до ректальной температуры +41,6°C (стадия двигательного возбуждения) регистрируется снижение количества тромбоцитов на фоне значительного повышения их агрегационной активности, гиперкоагуляция как по внутреннему, так и по внешнему пути активации плазменного гемостаза, а также на его конечных этапах. Все это происходит на фоне высоко уровня РФМК и фибриногена. При этом фиксируется снижение активности АТ III и значительное угнетение фибринолитической системы. Совокупность описанных изменений, зафиксированных в эту стадию, может быть охарактеризована как состояние претромбоза.

Начиная с раннего восстановительного периода (через 5 часов) происходит постепенная нормализация процесса. Это характеризуется снижением агрегационной способности тромбоцитов, падением уровня фибриногена и активацией фибринолитической системы. Гиперкоагуляция, зарегистрированная на обоих путях активации плазменного гемостаза, протекает уже на фоне гипокоагуляции, зафиксированной на конечном этапе.

По прошествии 2-х суток большинство показателей гемостаза нормализуется. В то же время стабилизация показателей системы гемокоагуляции протекает на фоне существенного угнетения фибринолитической системы.



Коагуляционное звено системы гемостаза на протяжении 2-х суток после однократного общего перегревания.

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

Полученные результаты позволяют предположить, что первичной реакцией системы коагуляционного гемостаза на общее перегревание является гиперкоагуляция, сопровождающаяся признаками развития состояния тромботической готовности, что может рассматриваться как одно из важнейших звеньев формирования дизадаптивного ответа в ходе реакции срочной адаптации организма к гипертермии [3, 7, 9]. Однако при увеличении продолжительности восстановительного периода после экспериментального воздействия регистрируется восстановление большинства показателей системы гемостаза. Вероятно, это происходит за счет сохранения достаточных адаптивных резервов, использование которых в раннем восстановительном периоде после общего перегревания организма позволяет организму нормализовать параметры гемостаза. Исходя из этого, можно предположить, что используемый режим перегревания не вызывает развития серьезного срыва адаптации ввиду непродолжительного периода экспериментального воздействия.

### Заключение

Таким образом, анализируя материал, полученный в раннем восстановительном периоде после острого однократного перегревания, можно сделать вывод, что система гемостаза на протяжении первых 2-х суток ведет себя разнонаправленно.

В период сразу после перегревания она отвечает фактически состоянием претромботической готовности (гиперкоагуляция на всех этапах свертывания, высокий уровень РФМК на фоне значительного угнетения фибринолитической активности). Однако ко 2-м суткам большинство показателей системы гемостаза полностью нормализуется, за исключением угнетения активности фибринолитической системы.

Следовательно, наиболее опасным этапом в восстановительном периоде в плане развития тромботических осложнений можно считать первые часы после общего перегревания.

### Список литературы

1. 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](http://www.science-education.ru/118-14114) (дата обращения: 29.07.2014).
2. Боженкова М.В. Морфофункциональные изменения спонных желёз белых крыс в условиях воздействия высокой внешней температуры (экспериментальное исследование): дис. ... канд. мед. наук. – Смоленск, 2008. – 182 с.
3. Верещагина И.П., Верещагина Е.И. Ксенотемпературы в медицинской практике: от гипотермии к гипертермии. – Новосибирск: НГТУ, 2013. – 184 с.
4. Баллозек Ф.В., Баллозек М.Ф., Виленский В.И., Грелов С.И., Жигалов С.А. Управляемая гипертермия. – М.: БИНОМ, 2001. – 123 с.
5. Сувернев А.В., Иванов Г.В., Василевич И.В., Гальченко В.Н., Алейников Р.П. Пути практического использования интенсивного теплечения. – Новосибирск: Академическое изд-во «Гео», 2009. – 109 с.

6. Шахматов, И.И. Изменения в системе гемостаза в ответ на однократную физическую нагрузку различной интенсивности / И.И. Шахматов, В.М. Вдовин // Вестн. новых медицинск. технолог. – 2011. – Т. XVIII, № 3. – С. 207–209.

7. Шахматов И.И., Киселев В.И. Влияние кратковременного стресса на гемостаз у крыс // Казанский медицинский журнал. – 2010. – Т. 91, № 4. – С. 464–468.

8. Bert H., Wust P., Ahlers O., Dieing A., Sreenivasa G., Kerner T., Felix R., Riess H. The cellular and molecular basis of hyperthermia // *Critical Reviews in Oncology // Hematology*. – 2002. – № 43. – P. 33–56.

9. Rowe – Horwege R.W. Hyperthermia, systemic // *Encyclopedia of Medical Devices and Instrumentation // Second Edition*, edited by John G. Webster. – 2006. – P. 42–63.

10. Xiaoming He. Thermostability of Biological Systems: Fundamentals, Challenges, and Quantification // *The Open Biomedical Engineering Journal*. – 2011. – № 5. – P. 47–73.

### References

1. Nikolaev V.Ju. Sistema gemostaza u krysh pri razlichnyh rezhimah odnokratnoj gipertermicheskoj nagruzki // *Sovremennye problemy nauki i obrazovanija*. 2014. no. 4 (54), pp. 6. URL: [www.science.education.ru/118\\_14114](http://www.science.education.ru/118_14114) (data obrashhenija: 29.07.2014).

2. Bozhenkova M.V. Morfofunkcionalnye izmenenija sljunnyh zheljoz belyh krysh v uslovijah vozdejstvija vysokoj vneshnej temperatury (jeksperimentalnoe issledovanie): dis. ... kand. med. nauk. Smolensk, 2008. 182 p.

3. Vereshhagina I.P., Vereshhagina E.I. Ksenotemperaturny v medicinskoj praktike: ot gipotermii k gipertermii. Novosibirsk: NGTU, 2013. 184 p.

4. Balljuzek F.V., Balljuzek M.F., Vilenskij V.I., Grelov S.I., Zhigalov S.A. Upravljaemaja gipertermija. M.: BINOM, 2001. 123 p.

5. Suvernev A.V., Ivanov G.V., Vasilevich I.V., Galchenko V.N., Alejnikov R.P. Puti prakticheskogo ispolzovanija intensivnogo teplolichenija. Novosibirsk: Akademicheskoe izd-vo «Geo», 2009. 109 p.

6. Shahmatov, I.I. Izmenenija v sisteme gemostaza v otvet na odnokratnuju fizicheskiju nagruzku razlichnoj intensivnosti / I.I. Shahmatov, V.M. Vdovin // *Vestn. novyh medicinsk. tehnolog.* 2011. T. XVIII, no. 3. pp. 207–209.

7. Shahmatov I.I., Kiselev V.I. Vlijanie kratkovremennogo stressa na gemostaz u krysh // *Kazanskij medicinskij zhurnal*. 2010. T. 91, no. 4. pp. 464–468.

8. Bert H., Wust P., Ahlers O., Dieing A., Sreenivasa G., Kerner T., Felix R., Riess H. The cellular and molecular basis of hyperthermia // *Critical Reviews in Oncology // Hematology*. 2002. no. 43. pp. 33–56.

9. Rowe Horwege R.W. Hyperthermia, systemic // *Encyclopedia of Medical Devices and Instrumentation // Second Edition*, edited by John G. Webster. 2006. pp. 42–63.

10. Xiaoming He. Thermostability of Biological Systems: Fundamentals, Challenges, and Quantification // *The Open Biomedical Engineering Journal*. 2011. no. 5. pp. 47–73.

### Рецензенты:

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

Куликов В.П., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой патофизиологии, функциональной и ультразвуковой диагностики, Алтайский государственный медицинский университет, г. Барнаул.