

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
Государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего профессионального образования
АЛТАЙСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ

На правах рукописи

ЛЫЧЕВА НАТАЛЬЯ АЛЕКСАНДРОВНА

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ И РЕЖИМОВ
ГИПОТЕРМИЧЕСКИХ ВОЗДЕЙСТВИЙ
НА СОСТОЯНИЕ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА У КРЫС

03.03.01 – физиология

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель:
д.м.н. Шахматов Игорь Ильич

Томск – 2015

Введение	6
Глава 1. СОВРЕМЕННОЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЕ О ДЕЙСТВИИ ГИПОТЕРМИИ НА ОРГАНИЗМ И ЕЕ ПРИМЕНЕНИЕ В МЕДИЦИНСКОЙ ПРАКТИКЕ (обзор литературы)	14
1.1. Действие однократной гипотермии на организм.....	16
1.2. Система гемостаза при общем непреднамеренном переохлаждении.....	23
1.3. Постгипотермический период.....	29
1.4. Адаптация к холодовым воздействиям	33
1.5. Применение и методы воспроизведения гипотермии.....	37
Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	40
2.1. Материал и объект исследования.....	40
2.2. Физиологические методы исследования.....	43
2.2.1. Метод создания иммерсионной гипотермии.....	43
2.2.2. Метод создания воздушной гипотермии.....	44
2.2.3. Методы моделирования тренирующего эффекта гипотермии.....	45
2.3. Методы исследования системы гемостаза.....	46
2.3.1. Исследование тромбоцитарного звена гемостаза.....	48
2.3.2. Коагуляционные тесты, позволяющие оценить состояние внутреннего пути коагуляционного гемостаза.....	48
2.3.3. Коагуляционный тест, позволяющий оценить состояние внешнего пути активации коагуляционного гемостаза.....	48
2.3.4. Коагуляционные тесты, позволяющие оценить конечный этап образования фибринового сгустка.....	48
2.3.5. Тест, оценивающий состояние антикоагулянтного звена коагуляционного гемостаза.....	49
2.3.6. Тест, позволяющий оценить состояние фибринолитической системы.....	49
2.3.7. Интегральные методы оценки состояния системы гемостаза.....	49
2.4. Статистическая обработка экспериментальных данных.....	50

2.5. Показатели системы гемостаза у интактных крыс.....	50
Глава 3. ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ РЕЖИМОВ ИММЕРСИОННОЙ ГИПОТЕРМИИ НА СОСТОЯНИЕ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА У КРЫС.....	53
3.1. Система гемостаза при действии однократной иммерсионной гипотермии.....	53
3.1.1. Состояние системы гемостаза у крыс по достижении ими мягкой степени гипотермии под действием однократного иммерсионного переохлаждения.....	53
3.1.2. Состояние системы гемостаза у крыс по достижении ими умеренной степени гипотермии под действием однократного иммерсионного переохлаждения.....	57
3.1.3. Состояние системы гемостаза у крыс по достижении ими глубокой степени гипотермии под действием однократного иммерсионного переохлаждения.....	60
3.1.4. Состояние системы гемостаза у крыс по достижении ими сверхглубокой степени гипотермии под действием однократного иммерсионного переохлаждения.....	63
3.1.5. Состояние системы гемостаза у крыс через сутки после однократного иммерсионного переохлаждения по достижении ими глубокой степени гипотермии.....	66
3.1.6. Состояние системы гемостаза у крыс через сутки после однократного иммерсионного переохлаждения до достижения ими сверхглубокой степени гипотермии.....	69
3.1.7. Сравнение состояния системы гемостаза у крыс сразу и через сутки после однократной иммерсионной гипотермии.....	73
3.1.7.1. Сравнение состояния системы гемостаза у крыс под действием однократной иммерсионной гипотермии сразу и через сутки после достижения ими глубокой степени гипотермии.....	73

3.1.7.2. Сравнение состояния системы гемостаза у крыс под действием однократной иммерсионной гипотермии сразу и через сутки после достижения ими сверхглубокой степени гипотермии.....	77
3.2. Исследование системы гемостаза при действии многократной иммерсионной гипотермии.....	81
3.2.1. Влияние многократной иммерсионной гипотермии на систему гемостаза у крыс сразу по истечении ежедневного охлаждения на протяжении 30 дней в водной среде.....	81
3.2.2. Влияние многократной иммерсионной гипотермии на систему гемостаза у крыс через сутки по истечении ежедневного охлаждения на протяжении 30 дней в водной среде.....	88
Глава 4. ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ РЕЖИМОВ ВОЗДУШНОЙ ГИПОТЕРМИИ НА СОСТОЯНИЕ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА У КРЫС.....	95
4.1. Система гемостаза при действии однократной воздушной гипотермии.....	95
4.1.1. Состояние системы гемостаза у крыс сразу по достижении ими умеренной степени гипотермии под действием однократного воздушного переохлаждения.....	96
4.1.2. Состояние системы гемостаза у крыс через сутки после однократного воздушного переохлаждения по достижении умеренной степени гипотермии.....	99
4.1.3. Сравнение состояния системы гемостаза у крыс под действием однократной воздушной гипотермии сразу и через сутки после достижения ими умеренной гипотермии.....	103
4.2. Исследование системы гемостаза при действии многократной воздушной гипотермии.....	108
4.2.1. Влияние многократной воздушной гипотермии на систему гемостаза у крыс сразу по истечении ежедневного охлаждения на	

протяжении 30 дней.....	108
4.2.2. Влияние многократной воздушной гипотермии на систему гемостаза у крыс через сутки после окончания ежедневного охлаждения на протяжении 30 дней.....	115
Глава 5. ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ МНОГОКРАТНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ГИПОТЕРМИИ НА ФОРМИРОВАНИЕ АДАПТИВНЫХ РЕЗЕРВОВ В СИСТЕМЕ ГЕМОСТАЗА.....	121
5.1. Влияние 3-х и 6-ти часового холодого воздействия после предшествующих 3-х часовых гипотермических нагрузок в течение 30 дней на систему гемостаза в воздушной среде.....	122
5.2. Влияние 40- и 55-минутного холодого воздействия после предшествующих 40-минутных гипотермических нагрузок в течение 30 дней на систему гемостаза в водной среде.....	130
Глава 6. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	139
6.1. Влияние однократного охлаждения на состояние системы гемостаза крыс.....	140
6.2. Влияние однократного охлаждения на состояние системы гемостаза крыс в постгипотермическом периоде.....	154
6.3. Влияние многократного охлаждения на состояние системы гемостаза крыс.....	157
6.4. Влияние различных видов многократного охлаждения на развитие адаптационных эффектов в системе гемостаза.....	163
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	167
ВЫВОДЫ.....	172
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	174
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	175

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования. Гипотермия — состояние организма, при котором температура тела падает ниже, чем необходимо для поддержания нормального обмена веществ и функционирования организма.

Гипотермия оказывает генерализованное воздействие на организм, выступая не только в качестве естественного фактора внешней среды, но и искусственно создаваемой среды, используемой в практической медицине. Воздействие холода может выступать как в качестве повреждающего фактора, вызывая развитие деструктивных процессов в тканях разной степени [2, 14, 15, 40, 69], так и в качестве тренирующего, повышая общую устойчивость организма к различным стрессорам [32, 81, 83, 93]. В практической медицине гипотермия является обязательным условием при проведении операций на открытом сердце [24,41, 70, 89, 127], а также важным компонентом комплексной терапии ряда неотложных состояний [50, 54, 55, 75, 92].

В естественных условиях при действии гипотермии повреждающее действие холода на ткани вызывает комплексную ответную реакцию организма.

В формировании острой ответной реакции на холод вовлекаются все органы и системы. Однако, ключевым звеном, обеспечивающим адекватное функционирование организма в условиях гипотермии, является сердечно-сосудистая система [4, 70, 96]. При этом, основным компонентом, обеспечивающим адекватность трофики тканей, является система гемостаза. Показано, что выраженность ответной реакции со стороны системы гемостаза зависит от скорости отдачи тепла, физико-химических свойств среды, вызывающей переохлаждение, а также уровня температуры тела, достигнутой в ходе гипотермии [29, 68, 90, 91]. При этом регистрируются как гипокоагуляционные нарушения в системе гемостаза [145, 147], так и гиперкоагуляционные сдвиги, вплоть до развития ДВС-синдрома [14,15, 94, 125, 129].

Немаловажным является изучение гемостазиологической картины и в **постгипотермический период**, характеризующийся формированием и манифестацией травматических последствий действия общего переохлаждения на организм [151, 155, 157, 160]. Прогнозирование возможных нарушений со стороны системы гемостаза, развивающихся после прекращения охлаждения, позволит минимизировать последствия повреждающего действия гипотермии на организм.

Возможность развития адаптации к действию холода определяется сочетанным воздействием ряда факторов [23, 67, 68, 91]. Определение оптимального режима для создания адаптационных резервов является одной из актуальных задач, стоящих перед исследователями.

Степень разработанности темы исследования. Исследованию действия общего переохлаждения на целостный организм посвящены исследования Ломиворотова В.Н., Караськова А.М., Алябьевой Ф.В., Парфирьевой А.М., Чесалова Н.П.. В исследования включены данные о функционировании сердца и ответной сосудистой реакции наркотизированных пациентов в условиях стационара. При этом, оценке состояния системы гемостаза в данных работах уделяется намного меньше внимания.

Исследованию системы гемостаза у ряда экспериментальных животных при различной степени охлаждения посвящены работы К. Н. Polderman, J. M. Meunier W.T.W. Chang, M.D., Patrick Meybohm. Однако, полученные данные имеют ограниченную ценность в виду того, что исследования проводились в условиях *in vitro*. Исследование влияния различной степени иммерсионной гипотермии на животных в условиях *in vivo* осуществлялось в цикле работ Севериной Т.Г. Однако, оценка состояния системы гемостаза не являлась основной задачей данных экспериментов.

Состояние системы гемостаза в постгипотермическом периоде оценено в работах Кузника Б.И., Шаповалова К.Г., Сизоненко В.А., Andrew C. Rankin, Alan P. Rae, Eliot A. Phillipson. Однако, работы авторов включают данные о состоянии системы гемостаза лишь при развитии локальных холодовых травм без учета

общей степени переохлаждения, либо содержат информацию о единичных клинических случаях.

Изучению хронобиологических аспектов адаптации организма человека к действию экстремальных факторов Крайнего Севера посвящены работы Ананьева В.Н., Ананьевой О.В., Вороновой И.П., Кривошекова С.Г., Козыревой Т.В., Фатеевой Н.М., Н. Elmarzouki, Н. Yoo. Работы отражают данные о длительном воздействии низких температур, при различных режимах, на сердечно-сосудистую и дыхательную системы. При этом анализу адаптационных изменений в системе гемостаза в данных работах внимания не уделено. Развитию адаптационных изменений в системе гемостаза к действию иных стрессоров посвящены работы Шахматова И.И.

Определение критериев риска развития тромботических или гемофилических осложнений в различные периоды гипотермии и постгипотермии, их тяжесть, а также возможность формирования адаптивных изменений со стороны системы гемостаза при действии холода на организм делает данный вопрос актуальным и определяет цель настоящей работы.

Цель исследования: оценить состояние системы гемостаза при различных видах и режимах однократной и многократной гипотермии сразу по окончании воздействия и в постгипотермическом периоде, а также определить возможность формирования адаптационных резервов в ходе многократных гипотермических воздействий.

Задачи исследования:

1. Исследовать состояние системы гемостаз при действии однократного переохлаждения в зависимости от длительности, интенсивности и скорости холодного воздействия.

2. Исследовать особенности реакций системы гемостаза на охлаждение в различных средах.

3. Оценить риск развития гемостазиологических осложнений в постгипотермическом периоде при охлаждении в различных средах.

4. Исследовать состояние системы гемостаза у животных при многократном действии различных видов гипотермии.

5. Определить возможность формирования адаптационных резервов при многократном действии различных видов гипотермии.

6. Определить направленность дизадаптивной реакции и описать гемостазиологическую картину в ответ на многократное действие холода при срыве адаптационных процессов.

Научная новизна

Установлено, что в процессе последовательного охлаждения при иммерсионной гипотермии изменения в системе гемостаза носят фазный характер, переходя от гипокоагуляции (мягкая степень гипотермии) к тромбинемии (умеренная и глубокая степень гипотермии), с последующим исчезновением признаков активации свертывания при сверхглубокой степени гипотермии.

Показано, что тромбинемия, отсутствующая сразу по достижении сверхглубокой степени гипотермии при иммерсионном непреднамеренном переохлаждении, регистрируется через 24 часа после прекращения холодого воздействия.

Показано, что развитие тромботических осложнений в постгипотермическом периоде зависит не только от степени, но и от скорости охлаждения.

Установлено, что 30-дневное 3-х часовое охлаждение воздухом при температуре $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ повышает адаптационные резервы, способствуя увеличению устойчивости организма к более длительному охлаждению.

Показано, что 30-дневные 40-минутные охлаждения при температуре воды $+5\text{ }^{\circ}\text{C}$ способствуют развитию дистрессорной реакции, характеризующейся формированием подострой формы ДВС-синдрома.

Теоретическая значимость работы

Установлено, что однократное иммерсионное переохлаждение до достижения различных степеней гипотермии сопровождается гипокоагуляционной реакцией системы гемостаза на начальном этапе, сменяющейся гиперкоагуляцией при дальнейшем нарастании гипотермии.

Установлено, что сразу по окончании однократного холодого воздействия до умеренной степени гипотермии при высокой скорости снижения температуры тела формируется гиперкоагуляционная реакция, в то время, как при низкой – регистрируется гипокоагуляция.

Показано, что предшествующие 30-дневные 3-часовые воздушные холодые воздействия повышают устойчивость организма к холоду. Увеличение адаптационных резервов позволило выдержать тестовое охлаждение, в 2 раза превысившее тренировочный режим, без развития гемореологических нарушений.

Установлено, что 30-дневные 40-минутные иммерсионные охлаждения сопровождаются формированием дистрессорной реакции, характеризующейся развитием подострой формы ДВС-синдрома, что можно расценить как срыв адаптационного процесса.

Практическая значимость работы

Установлены гемостазиологические критерии, характеризующие ту или иную степень гипотермии.

Определены степени гипотермии и способы их достижения, приводящие к формированию состояния тромботической готовности в постгипотермическом периоде.

Установлен режим многократной воздушной гипотермии, который может быть использован в качестве тренирующего для повышения толерантности организма к холоду.

Методология и методы исследования

Методологической основой диссертационного исследования послужил диалектический метод познания в медицине, базирующийся на системном

подходе в изучении функционирования живого организма. При проведении данного исследования в комплексе применялись общие и специальные методы научного познания. Были использованы теоретико-эмпирические общенаучные методы: анализа и синтеза, индукции и дедукции, моделирования, научной абстракции, а также метод статистической обработки. Из методов естественнонаучных исследований применялись наблюдение, измерение, эксперимент и сравнение. Были использованы специальные методы инструментальной и функциональной диагностики.

Положения, выносимые на защиту:

1. В зависимости от длительности однократного холодового воздействия, необходимого для достижения той или иной степени гипотермии, регистрируется специфическая совокупность параметров системы гемостаза. По мере увеличения длительности воздействия гемостазиологические нарушения нарастают. Использование различных охлаждающих сред для достижения одной и той же степени гипотермии приводит к формированию различных гемостазиологических реакций.

2. В постгипотермическом периоде развитие состояния тромботической готовности зависит от степени и способа охлаждения. Воздушный способ охлаждения приводит к формированию существенных гемостазиологических нарушений при менее выраженной степени гипотермии. При иммерсионном способе охлаждения развитие состояния тромботической готовности в постгипотермическом периоде регистрируется лишь при сверхглубокой степени гипотермии.

3. В результате ежедневных 30-дневных охлаждений в воздушной среде установлено формирование долговременной адаптации и увеличение устойчивости к холоду. Использование в качестве тренирующего режима ежедневных охлаждений в воздушной среде повышает адаптационные резервы у крыс, что позволяет переносить более продолжительные холодовые нагрузки без развития дистрессорной реакции со стороны системы гемостаза.

4. Иммерсионная гипотермия на протяжении 30 дней сопровождается срывом адаптационных процессов с развитием подострой формы ДВС-синдрома. На этом фоне увеличение длительности холодового воздействия приводит к дальнейшему нарастанию состояния тромботической готовности.

Степень достоверности и апробации результатов. Материалы исследования были доложены и обсуждены на заседаниях кафедры нормальной физиологии Алтайского государственного медицинского университета (2010-2014 гг.); на VII Сибирском съезде физиологов (г. Красноярск) 23-26 июня 2012 г.; на XIV научно-практической конференции молодых ученых «Молодежь-Барнаул», 19-26 ноября 2012 г. (г. Барнаул); на XIV научно-практической конференции молодых ученых «Молодежь-Барнаул» 19-26 ноября 2012 г. (г. Барнаул); на III Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых «Сибирские медико-биологические чтения» 13 мая 2013 г. (г. Барнаул); на XV научно-практической конференции молодых ученых «Молодежь-Барнаул» 11-20 ноября 2013 г. (г. Барнаул); на Научно-практической конференции с международным участием «Нейрогуморальные механизмы регуляции висцеральных функций в норме и патологии» 19-20 ноября 2013 г. (г. Томск); на IV Съезде физиологов СНГ 5-10 октября 2014 г. (г. Сочи).

Внедрение результатов исследования. Результаты диссертационного исследования используются в учебном процессе в рамках изучения нормальной и патологической физиологии (раздел «Терморегуляция и обмен веществ», "Гемостаз", "Общая патофизиология", "Ответ острой фазы. Лихорадка") на базе кафедр нормальной физиологии и патологической физиологии, функциональной и ультразвуковой диагностики ГБОУ ВПО Алтайского государственного медицинского университета Минздрава России.

Публикации. По теме диссертации опубликована 21 научная работа, в том числе 6 статей в журналах, рекомендованных ВАК РФ.

Объем и структура диссертации. Диссертационная работа изложена на 196 страницах, состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, 3 глав собственных исследований, обсуждения

результатов, выводов, списка использованной литературы. Диссертация иллюстрирована 22 таблицами, 35 рисунками. Библиографический указатель всего включает 197 источников, из них 116 отечественных и 81 иностранный источник.

Личный вклад автора. Автором сформулированы цели и задачи исследования, выводы и основные положения, выносимые на защиту. Весь материал, представленный в диссертации, получен, обработан и проанализирован лично автором.

ГЛАВА 1

СОВРЕМЕННОЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЕ О ДЕЙСТВИИ ГИПОТЕРМИИ НА ОРГАНИЗМ И ЕЕ ПРИМЕНЕНИЕ В МЕДИЦИНСКОЙ ПРАКТИКЕ (обзор литературы)

Гипотермия — это патологическое состояние, обусловленное снижением внутренней температуры тела до $+35^{\circ}\text{C}$ и менее.

Несмотря на значительные успехи в профилактике и использовании гипотермии в практической медицине, общее переохлаждение остается одной из причин заболеваемости, инвалидизации и смертности во всем мире [114]. Гипотермия является причиной нарушения работы органов сердечно-сосудистой, дыхательной и репродуктивной систем [2, 16, 31, 33]. При действии гипотермии ответная реакция организма направлена на поддержание равновесия в системе терморегуляции с одной стороны, с другой - на поддержание уровня и скорости метаболических реакций. Поддержание температурного гомеостаза сопровождается усилением процессов теплопродукции и снижением теплоотдачи, а также существенной активацией всех регуляторных систем [37, 41, 49, 56]. В основе полиорганных нарушений, развивающихся вследствие гипотермии, ключевую роль играет система гемостаза, обеспечивающая адекватную микроциркуляцию в тканях [17, 30, 36]. Исследование ответной реакции организма на действие различных видов и режимов гипотермического воздействия позволяет прогнозировать риск гемостазиологических осложнений, в первую очередь, развитие тромбозов [38, 41, 44].

Гипотермия классифицируется по степени охлаждения и длительности воздействия.

Различают кратковременную гипотермию (длительностью от нескольких минут до нескольких часов) и пролонгированную (от нескольких часов до нескольких дней).

По степени охлаждения различают: мягкую гипотермию (температура тела +35... +32 °С), умеренную гипотермию (+32... +28 °С), глубокую гипотермию (+25... +20 °С) и сверхглубокую (< +20 °С).

В рамках развития патогенетической реакции на действие холода выделяют первичную и вторичную гипотермию.

Первичная («случайная», или непреднамеренная) гипотермия развивается у здоровых лиц под влиянием неблагоприятных внешних условий (метеорологических или при погружении в холодную воду), достаточных по интенсивности для снижения внутренней температуры тела.

Вторичная гипотермия возникает как осложнение другого, первичного патологического процесса или заболевания, например, алкогольной интоксикации, травмы или острого инфаркта миокарда [59, 60, 95, 113]. Эта классификация обусловлена различными физиологическими и биохимическими изменениями в организме.

Кроме того, гипотермическое воздействие человек может получить как непреднамеренно, так и в условиях стационара.

В обоих случаях общее переохлаждение организма сопровождается нарушением теплового баланса, при котором теплоотдача превышает теплопродукцию. Снижение температуры приводит к снижению скорости обменных процессов. Однако, при непреднамеренном охлаждении развивается нарушение метаболизма и гипотермия, при которых адекватного замедления всех биохимических реакций не происходит. То есть, следует четко отличать непреднамеренное переохлаждение организма и искусственную гипотермию, создаваемую при анестезиологическом пособии для проведения сложных хирургических операций.

1.1. Действие однократной гипотермии на организм

Охлаждение тела является типичным стрессорным раздражителем, приводящим к активации симпато-адреналовой системы, что также сопровождается выделением нейросекретов гипоталамуса, гормонов гипофиза, коры надпочечников, вызывающим в организме классическую картину «реакции напряжения».

Гипотермическое воздействие сопровождается развитием ответной реакции со стороны всех органов и систем. При этом, данные, полученные рядом исследователей при различных моделях гипотермии о направленности и выраженности ответной реакции со стороны систем организма, зависят от степени переохлаждения.

При достижении **мягкой степени** гипотермии наиболее чувствительной к действию стрессорных раздражителей является сердечно-сосудистая система, первой вовлекаемая в развитие ответной реакции.

Так, при охлаждении крыс (температура воды +5 °С, воздуха +5 °С) и достижении ими ректальной температуры +35... +32 °С в эксперименте, наблюдалось увеличение всех интервалов на ЭКГ, что свидетельствовало о развитии брадикардии и замедлении проводимости сердечной мышцы, вызванной по мнению авторов перераспределением ионов между межклеточным веществом и цитоплазмой клетки [6, 7, 31]. Наряду с этим встречаются работы, в которых описывается развитие тахикардии [81, 121]. При исследовании людей, достигших ректальной температуры +35 °С, показано, что переохлаждение сопровождается на начальных этапах увеличением системного сопротивления, направленного на сохранение тепла [28, 136]. Выброс катехоламинов и кортизола, наблюдаемый на этом этапе гипотермии, также может способствовать повышению артериального давления (АД) [136, 141]. С другой стороны, в результате общего охлаждения организма АВТОРЫ отмечают развитие полиурии и гиповолемии, что приводит к гипотензии и снижению ударного объема. Также встречаются работы,

свидетельствующие об уменьшении ударного объема, однако гипотензии при этом не наблюдается [142, 146].

Изменение внутрисосудистого объема и вязкости крови при гипотермии было зарегистрировано как в естественных условиях [149, 150, 152], так и при исследовании *in vitro* [157, 165, 166]. К.Н. Polderman, V. Poucke, A. Agren при исследовании людей, температура тела которых достигала +33... +35 °С, находившихся в состоянии гипотермии от 30 минут до 2 часов, связывают снижение внутрисосудистого объема с развитием "холодового диуреза", что приводит к сгущению крови [117, 132]. Кроме того, исследования, проведенные в условиях *in vitro*, демонстрируют увеличение вязкости крови с развитием гипотермии из-за снижения деформируемости клеток крови [117, 132, 158].

Описанные изменения при общем холодном поражении теоретически могут привести к изменению гемодинамики и тканевой перфузии. При достижении температуры ядра +33 °С и у людей [141] и у животных [136] наблюдается уменьшение ударного объема. Наряду с этим уменьшается и потребление кислорода. При этом снижается перфузия ткани и может наблюдаться ацидоз [138, 155]. Развитие ацидоза при данной степени гипотермии зависит от размеров организма и фактора, вызывающего переохлаждение [138]. Так, при исследовании новорожденных людей [138, 155, 194] и крыс [158], достигших мягкой степени гипотермии при иммерсионном способе охлаждения, развитие ацидоза не наблюдалось. Это может быть объяснено пропорциональным уменьшением перфузии тканей и непродолжительным действием на организм холодной воды [175, 183]. В качестве еще одной причины R. Santora, D. Wang, J. Zhang указывают сбалансированную работу ферментов, обеспечивающих антиоксидантную защиту [194, 197]. Однако, при исследовании лиц в возрасте 21-40 лет иммерсионная гипотермия уже вызывала выраженное снижение рН [188]. Также ацидоз развивался и при охлаждении крыс до 33°С потоком холодного воздуха в течение 4 часов [196].

Мягкая степень гипотермии сопровождается развитием торможения в коре головного мозга, что обусловлено снижением концентрации медиаторов [124, 154,

159]. Так, при достижении крысами температуры тела $+33,2\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 5 часов под действием холодного воздуха ($-20\text{ }^{\circ}\text{C}$) снижалась продукция медиаторов глиальными клетками. Кроме того, при исследовании нервной ткани мышей, достигших температуры тела $+33\text{ }^{\circ}\text{C}$, снижается концентрация маркеров апоптоза клеток [40].

Исследование биохимических параметров при достижении мягкой степени гипотермии выявило изменение ряда параметров. Так, существенно увеличивается активность комплимента в кровотоке крыс при снижении ректальной температуры до $+32\dots +34\text{ }^{\circ}\text{C}$ (температура воздуха -5°C) в течение 72 часов [48]. Кроме того, в литературе присутствуют данные о незначительном снижении уровня глюкозы [50].

При дальнейшем снижении температуры и достижении **умеренной гипотермии** у экспериментальных животных описывается последовательное угнетение функционального состояния организма.

Охлаждение животных до температуры тела $+30\text{ }^{\circ}\text{C}$ в холодовой камере при температуре воздуха $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 24 часов сопровождается развитием брадикардии, что по мнению авторов является нормальной физиологической ответной реакцией и не нуждается в проведении коррекционных мероприятий [116, 132]. По мнению других исследователей (D. Dietrich, B. Luo), при остром охлаждении животных в водной среде (температура воды $+5\text{ }^{\circ}\text{C}$, воздуха $+7\text{ }^{\circ}\text{C}$) развившаяся брадикардия сопровождается нарушением функциональных резервов сердца, что подтверждается регистрацией J-волн на электрокардиограмме (ЭКГ) [132, 136]. Кроме того, при быстрой скорости охлаждения, достижение умеренной степени гипотермии сопровождается снижением сердечного выброса и повышает риск развития аритмий [153, 155]. Аналогичные изменения были обнаружены при охлаждении свиней до указанной степени гипотермии в камере при температуре воздуха $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ [159, 167]. Снижение сердечного выброса в этих условиях частично компенсируется за счет дальнейшего усиления периферической вазоконстрикции [2, 21, 171]. При различных моделях гипотермии, (медленное охлаждение путем обкладывания пациента мокрыми простынями и обдувом

холодным воздухом, экспериментальное помещение животных в охлаждающую камеру) вторичное повышение давления за счет вазоконстрикции сопровождается выделением натрийуретического пептида и усилением "холодового диуреза" [27, 30, 75]. Развитие "холодового диуреза" в результате острого охлаждения сопровождается гипокалиемией [75]. Наряду с этим, длительное охлаждение воздухом крыс, при температуре -10°C в течение 48 часов, не изменяет состав электролитов [87, 132, 136].

Уменьшение объема циркулирующей крови (ОЦК) в результате полиурии сопровождается повышением вязкости крови, что, в свою очередь, увеличивает сопротивление периферических сосудов [8, 138, 150]. Наряду с этим встречаются работы, в которых описано развитие брадикардии при неизменном артериальном давлении по достижении указанной степени гипотермии как у людей при общем непреднамеренном охлаждении в результате длительных погодных факторов [116, 134, 140], так и при охлаждении животных в условиях эксперимента [136].

Нарушения кровообращения подтверждаются развитием патологических изменений при гистологическом анализе. Так, проведенные исследования в моделях на собаках показали, что умеренная гипотермия, длящаяся 12 минут, приводит к развитию ишемических повреждений в тканях сердца и мозга [150].

Умеренная гипотермия сопровождается нарушением защитных рефлексов со стороны дыхательных путей, что предрасполагает к аспирации и пневмонии [23, 30, 31]. Значительно уменьшается потребление кислорода и образование двуокси углерода [31, 37, 156]. Наряду с этим Piklet J., В. Луо установлено отсутствие изменения газового состава крови при экспериментальном охлаждении крыс (температура воздуха -15°C в течение 32 часов, ректальная температура в диапазоне $+29... +31^{\circ}\text{C}$) [120, 136]. В исследованиях Dietrich W., Altkins C.M., при охлаждении собак до $+30^{\circ}\text{C}$ ректальной температуры наблюдалось значительное уменьшение биодоступности кислорода в тканях, что приводило к развитию гипоксии и ацидоза [132]. Также установлено снижение потребления кислорода тканями мозга [61, 81, 91].

Замедление метаболизма при общем переохлаждении сопровождается развитием декомпенсаторных изменений [20, 29, 36, 40, 51]. Так, при экспериментальном охлаждении крыс умеренное холодное воздействие до +28 °С увеличивает образование активных форм кислорода (АФК) в митохондриях гладкомышечных клеток. Образующиеся при этом АФК способствуют вазоконстрикции сосудов. Кроме того, они способствуют окислительной деструкции липидов плазмы крови и мембран эритроцитов. Аналогичные изменения наблюдаются в крови людей, как пострадавших от иммерсионной гипотермии, так и подвергшихся общей управляемой гипотермии в условиях стационара [36, 41, 61]. В то же время, при гипотермии антиокислительная активность гидрофильных компонентов крови возрастает. По всей видимости, она обеспечивается за счет накопления в крови таких антиоксидантов, как аскорбиновая кислота, мочевая кислота, билирубин [19, 52, 62, 74]. Наряду с этим в экспериментах на крысах (ректальная температура +29 °С, температура в охлаждающей камере -20°С, экспозиция 15 часов) изменения антиокислительной активности не наблюдалось [67, 138, 148].

Изменение в углеводном обмене зарегистрированные при умеренной степени гипотермии характеризуются различными данными. Так, в исследованиях В. Li, Y. Zhu, достижение ректальной температуры +30 °С у крыс действием холодного воздуха в течение 18 часов уменьшает утилизацию глюкозы [165, 171]. В экспериментах на собаках, достигших указанной степени охлаждения, показано увеличение концентрации инсулина и стимуляция глюконеогенеза [20, 27, 29, 38]. Кроме того, в экспериментах на мышах показано, что развившаяся гипергликемия при достижении умеренной гипотермии иммерсионным способом повышает уровень адреналина и кортизола [17, 38, 43].

При оценке уровня цитокинов в экспериментах на свиньях (ректальная температура +28 °С) и крысах (ректальная температура +27 °С) показано увеличение концентрации противовоспалительных цитокинов [165].

Глубокая степень гипотермии (достижение ректальной температуры +25... +20 °С) характеризуется снижением ЧСС. Так, при исследовании мужчин

различного возраста, достигших ректальной температуры +23... +25 °С в результате общего непреднамеренного переохлаждения, была зарегистрирована ЧСС 35 - 40 уд/мин [40, 107, 111]. В этом же исследовании авторы указывали на развитие нарушений в работе миокарда, что проявлялось фибрилляцией предсердий, желудочков, вплоть до развития асистолии [111, 118, 128]. Аналогичные изменения при этой степени гипотермии были зарегистрированы и при охлаждении иммерсионным способом собак (ректальная температура +25 °С, температура воды +4... +6 °С) [133, 134], а также предварительно наркотизированных кошек гипотермия у которых достигалась внутривенным введением охлажденного физиологического раствора (ректальная температура +23 °С, температура раствора NaCl +4 °С) [139]. Кроме того, регистрируется прогрессирующее уменьшение сердечного выброса, как при исследовании иммерсионной гипотермии на собаках, так и при охлаждении воздухом на крысах (температура воздуха -15°С) [144, 148].

При этом данные о реакции АД на данную степень переохлаждения сильно разнятся. Так, при обследовании людей, подвергшихся общему непреднамеренному переохлаждению, величины АД варьировали от 60/40 мм рт. ст. до 170/100 мм рт. ст., что не имело прямой зависимости от величины ректальной температуры [152, 157]. В моделях на свиньях, при длительном охлаждении холодным воздухом, Filseth O.M., Niviol H. показали снижение системного сосудистого сопротивления, системного давления, обусловленного уменьшением уровня катехоламинов [155].

Переохлаждение способствует дальнейшему нарастанию метаболических сдвигов. Последовательно нарушается работа дыхательной системы. При исследовании людей, подвергшихся общему непреднамеренному переохлаждению (действие холодного воздуха и контакт с охлаждающей поверхностью в течение разного периода времени), регистрировалось уменьшение частоты дыхания вплоть до апноэ, снижение концентрации кислорода в альвеолярном воздухе и артериальной крови [157, 159]. Bristow G., Smith R., показано, что нарушения дыхания, развивающиеся при гипотермии,

приводят к усугублению ацидоза. Снижение температуры приводит к увеличению растворимости газов, однако, в виду снижения уровня метаболизма и нарушения микроциркуляции ишемические явления прогрессируют. Так, при оценке пострадавших от гипотермии отмечено увеличение концентрации оксигемоглобина, однако кривая диссоциации смещена влево, что делает невозможным отдачу кислорода тканям [159, 171]. Кроме того, при охлаждении собак до +23 °С отмечается возросший уровень лактата в крови, что также усиливает ацидоз [179, 181].

Глубокая гипотермия ведет к развитию почечной недостаточности и прекращению функции почек. Так, гистологическое исследование тканей почек крыс, подвергшихся иммерсионной гипотермии до +23... +25°С ректальной температуры, а также людей, умерших от общего переохлаждения, демонстрирует наличие микротромбов в сосудах почек и точечные кровоизлияния в слизистой оболочке лоханок [182, 169].

Достижение **сверхглубокой степени гипотермии** характеризуется уменьшением количества эффективных сокращений желудочков вплоть до развития асистолии [164, 166, 175]. АД при этой степени гипотермии прогрессивно снижается [148]. Наблюдается тотальная вазодилатация, что способствует наполнению «шоковых органов» кровью [48, 107, 112, 116, 171]. Так, при исследовании крыс, подвергшихся общему переохлаждению, до сверхглубокой степени гипотермии удалось охладить 70% животных, смерть остальных 30% наступила ранее достижения указанного диапазона температур []. При исследовании ткани сердца крыс, подвергшихся общему переохлаждению до указанной степени гипотермии, наблюдалась экспрессия факторов апоптоза на поверхности кардиомиоцитов [].

Деятельность головного мозга при действии сверхглубокого охлаждения угасает [60, 79, 88]. Так, электроэнцефалограмма становится изоэлектрической. Охлаждение собак до +12 °С при сохранении нормального кровотока (т.е. исключая развитие ишемии), способствует развитию необратимых изменений в головном мозге, характеризующихся нарушением структуры нейронов [117, 129].

Исходя из этого, данная степень гипотермии, достигаемая в условиях стационара, сопровождается использованием систем жизнеобеспечения, что позволяет корректировать метаболические процессы и не допускать необратимых процессов в организме.

В условиях непреднамеренного переохлаждения сверхглубокая степень гипотермии сопровождается полной рассогласованностью ответных реакций организма и развитием необратимых изменений [61, 107, 112]. В результате значительного снижения температуры тела наступает холодовой паралич центра терморегуляции, а затем и дыхательного центра, что приводит к летальному исходу. Ведущим фактором в развитии холодовых параличей нервных и мышечных клеток является повышение внутриклеточной концентрации ионов кальция [29, 91].

1.2. Система гемостаза при общем непреднамеренном переохлаждении

В отличие от хорошо изученных изменений в описанных выше системах, наблюдаемых нарастании однократного гипотермического воздействия, данные о реакции системы гемостаза на усугубляющуюся гипотермию зачастую противоречивы.

Данные, полученные разными исследователями, о влиянии **мягкой гипотермии** на коагуляцию сильно разнятся. Так, при исследовании охлаждения крови в условиях *in vitro* рядом авторов [108,119] было установлено, что мягкая гипотермия не влияет ни на какое звено гемокоагуляции, а способна лишь вызывать умеренную дисфункцию тромбоцитов и иногда незначительное снижение их количества [115, 153].

Так, при исследовании *in vivo*, выполненном на людях, подвергшихся общему непреднамеренному переохлаждению и достигших +33 °С ректальной температуры, также не отмечено какого-либо смещения гемостатического потенциала плазмы крови [111, 112, 115]. Наряду с этим, как при исследовании

людей (мягкая степень гипотермии, охлаждение холодным воздухом в течение 12-15 часов), так и при исследовании крыс (переохлаждение воздухом при температуре $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 5 часов), показано развитие кровотечений [117, 119, 124, 125]. В тоже время, в работе Jiang S., Spahn D., Lindenblatt N. при охлаждении крыс в течение 48 часов и достижении ими $+33\text{ }^{\circ}\text{C}$ ректальной температуры отмечено развитие тромбоцитопении и гиперагрегации на фоне гиперкоагуляции и торможения активности фибринолиза [138, 145, 156, 169].

В исследованиях *in vitro* отмечено, что кинетика ферментов плазмы крови замедляется уже при $+34\text{ }^{\circ}\text{C}$ [125, 108]. Частично это подтверждается и со стороны ферментов системы гемостаза. Так, по данным тромбоэластографии (ТЭГ) при последовательном охлаждении крови отмечено развитие гипокоагуляции и увеличение времени образования сгустка [126]. При этом максимальная плотность сгустка была больше, а процент лизиса, отражающий активность фибринолитической системы, был ниже, что свидетельствует, как минимум, о сохранении активности XIII фактора в условиях мягкой гипотермии [126, 170].

Об этом же свидетельствуют данные, полученные в ходе охлаждения крыс (температура воды $+5\text{ }^{\circ}\text{C}$, воздуха $+5\text{ }^{\circ}\text{C}$) свидетельствующие об увеличении относительной свободной активности ферментов [70], прежде всего - α_2 -макроглобулина, являющегося основным ингибитором сериновых протеаз. Наряду с этим, экспериментальное охлаждение собак до указанной температуры не оказывает влияния на ряд показателей гемостаза (протромбиновое время (ПВ), активированное парциальное тромбопластиновое время (АПТВ)), а лишь снижает хемотаксис лейкоцитов, фагоцитов, и содержание хемокинов [171, 174, 177].

Развитие гипокоагуляционных сдвигов при мягкой гипотермии подтверждается данными, полученными в моделях на животных, охлажденных в воде температурой $+2\text{ }^{\circ}\text{C}$ до указанной степени гипотермии [154, 182]. Также, при охлаждении свиней до $+33\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 12 часов, наблюдалось развитие гипокоагуляционных сдвигов по внешнему и внутреннему путям свертывания при снижении концентрации антитромбина III (АТ III) и ингибитора внешнего пути

свертывания (TFPI) на фоне неизменной концентрации тканевого активатора плазминогена и ингибитора активатора плазминогена [125, 155].

Гипокоагуляция была зарегистрирована и при исследовании людей, пострадавших от общего переохлаждения с сопутствующей неврологической травмой. При этом было зафиксировано лишь незначительное удлинение времени образования сгустка по данным ТЭГ [149, 160]. Исследования антикоагулянтной активности плазмы крови показали усиление противосвертывающего влияния гипотермии только при наличии ацидоза [143, 145]. При исследовании крыс, подвергшихся быстрому охлаждению в холодной воде, уровень АТ III достоверно не отличался от животных в условиях нормотермии [109, 125].

Активность фибринолитической системы при данном уровне гипотермии повышалась. Так, Lindeblatt N., Meunier M. в своих работах по исследованию влияния гипотермии на гемостаз сообщали о снижении активности ингибиторов плазминогена в экспериментах как на животных, так и *in vitro* [169, 170, 177].

При исследовании системы гемостаза у людей и животных, подвергшихся **умеренной степени** гипотермии, мнения авторов относительно общей гемостазиологической картины расходятся.

Биохимические исследования свидетельствуют о том, что при понижении температуры до +30 °С все ферменты и кинетические процессы тормозились [148, 149]. В литературе присутствуют данные о развитии гипокоагуляции на данной стадии гипотермии вследствие снижения активности ферментов [126, 153], приводящего к уменьшению скорости образования сгустков и замедлению их роста [126, 170]. При последовательном охлаждении крови в условиях *in vitro* и регистрации ТЭГ отмечалось увеличение времени формирования тромба и уменьшение его плотности. При этом гипокоагуляционные сдвиги начинали регистрироваться при достижении кровью температуры +30 °С, затем они быстро прогрессировали и достигали максимальных значений при +24 °С [126, 143, 152]. Однако, стабильность тромба не зависела от дальнейшего снижения температуры, т.е. сформированный сгусток не изменял своей плотности под влиянием дальнейшего переохлаждения [115, 153, 154].

Наряду с этими исследованиями клинические работы характеризуют гипотермию как фактор развития тромбоза у пострадавших [114, 122, 154]. Так, при исследовании людей, подвергшихся гипотермическому воздействию, отмечено развитие гиперкоагуляционных сдвигов, обусловленных гемоконцентрацией вследствие увеличения проницаемости сосудов, а также прогрессивное уменьшение времени начала формирования тромба [107, 112, 119, 128]. При исследовании крыс, достигших ректальной температуры +28... +32 °С, отмечается уменьшение количества тромбоцитов и их активация, при этом концентрация рецепторов к коллагену на поверхности тромбоцитов не изменяется, что говорит, по мнению авторов, о наличии в кровотоке других индукторов агрегации [129, 153]. Кроме того, в кровотоке не обнаружено маркеров активации эндотелия, при этом регистрируется возросшая концентрация ингибитора активатора плазминогена (РАI-1), оказывающего протромботический эффект, максимальная концентрация которого достигается при +31 °С [169]. Аналогичные изменения были обнаружены в экспериментах на мышах при охлаждении до +31 °С. В ходе экспериментов было показано значимое увеличение концентрации РАI-1, что расценивалось как возросший риск развития тромбоза у экспериментальных животных [125, 138, 169]. Наряду с этим, при охлаждении крови до +31 °С в условиях *in vitro* отмечена активация системы комплемента [170]. Также, при общей непреднамеренной гипотермии у людей, достигших +30 °С в течение 30 минут, отмечено угнетение активности тканевого активатора плазминогена (t-РА), сопровождающееся развитием лейкоцитоза и тромбоцитопении [141, 156, 170].

Данные о гемостазиологической картине при достижении **глубокой степени** гипотермии довольно противоречивы. Так, при охлаждении собак в течение 40 минут под галотановым наркозом до указанной степени гипотермии отмечено отсутствие изменений в физиологической активности тромбоцитов, при увеличении срока их жизни и незначительном сокращении количества [128, 182]. В то же время, переохлаждение крыс в течение 30 минут и достижение ими +18 °С повышает агрегацию тромбоцитов, в частности, увеличивается показатель

коллаген-индуцированной агрегации, что, по мнению авторов, свидетельствует о повреждении эндотелия и обнажении коллагеновых волокон [161, 173].

При охлаждении крови здоровых доноров в условиях *in vitro* отмечено, что изменения тромбоцитов при гипотермии обратимы в диапазоне температур +25... +30 °С [170, 175, 179, 181]. Так, последовательное охлаждение крови сопровождалось обратимым увеличением объема тромбоцитов и изменением их микроструктуры [156, 163, 174]. Наряду с этим, при охлаждении крыс до субкритической температуры (+23... +25 °С) отмечено замедление деятельности фактора Виллебранда [115, 120, 129]. При этом в исследовании крови *in vitro*, показано, что он сохраняет свою активность в температурном диапазоне от +4 °С до +22 °С, однако охлаждение ниже +17 °С приводило к образованию шаровидных комплексов, снижающих его активность [129]. Также охлаждение собак [141] и кошек [139] до +25 °С характеризовалось появлением в кровотоке ингибиторов эндотелиальной активации и внешнего пути свертывания. Однако, встречаются и работы, в которых указано отсутствие разницы по данным показателям [162]. При исследовании коагуляции *in vitro* описано отсутствие статистически значимых изменений по показателям ТЭГ, зарегистрированных при +24 °С и +30 °С [126, 170].

В целом ряде работ описывается повышение тромбогенности плазмы при достижении глубокой степени гипотермии [2, 14, 24, 33, 35, 148]. Так, в работах Алябьева Ф.В., Закревского Ю.Н., Крылова К.М., Радущкевича В.Л. показано, что данная степень гипотермии характеризуется высвобождением тканевого тромбопластина из ишемизированных тканей и развитием диссеминированного внутрисосудистого свертывания [5, 33, 40, 61]. Кроме того, установлено, что при исследовании людей, подвергшихся общему непреднамеренному охлаждению, риск возникновения тромбоза увеличивается по мере усугубления тяжести гипотермии [107, 112, 159]. Более того, при экспериментальном охлаждении животных до +20 °С ректальной температуры обнаружены тромбы в сосудах легких и почек [152]. Повышение тромбогенности плазмы крови также подтверждается исследованиями на собаках. Так, при иммерсионном охлаждении

животных до указанной степени гипотермии в кровотоке регистрировалась глубокая тромбоцитопения и повышение концентрации фибриногена [178,180,182].

Изменения в системе гемостаза при достижении **сверхглубокой гипотермии** описаны в немногочисленных работах, выполненных в условиях *in vitro* и *ex vivo* [126, 141, 154, 146]. Работы, выполненные в условиях *in vivo*, вообще единичны [130, 140]. Кроме того, отдельно изучено состояние животных, обладающих способностью в состоянии спячки снижать метаболизм до температур, характерных для сверхглубокой степени гипотермии [110].

При исследовании крови здоровых людей, охлажденной в пробирке до +4... +8 °С, было зафиксировано увеличение объема тромбоцитов, сферическая деформация и нарушение их микроструктуры [152, 156, 170]. Однако, эти изменения являлись обратимыми и при снижении концентрации кальция наблюдалось возвращение большей части тромбоцитов к первоначальной форме [170]. Тромбоциты животных, впадающих в спячку, устойчивы к более значительному понижению температур, так описано, сохранение формы и структуры тромбоцитов при понижении температуры до +2 °С [110].

Исследования при снижении температуры менее +20 °С в условиях *in vitro* демонстрируют уменьшение агрегационных свойств тромбоцитов, что проявляется в невосприимчивости тромбоцитов к добавлению различных индукторов [109, 114, 117]. Также при экспериментальном охлаждении свиней до +14 °С в крови не повышался уровень тромбоксана [122, 125]. Функциональная активность тромбоцитов в условиях целостного организма при гипотермии зависит от реологических свойств крови. Повышение вязкости крови при понижении температуры способствует повышению механической активации тромбоцитов [141, 146, 154]. Снижение температуры способствует развитию гемолитических процессов. Так, при исследовании крови крыс обнаружено снижение количества эритроцитов [142]. Данные изменения могут быть объяснены образованием холодových агглютининов [146, 149].

При исследовании коагуляционной системы у гетеротермных животных (мелкие грызуны, впадающие в спячку) при значительном снижении температуры тела до +2... +6 °С описано сохранение реологических свойств крови, при этом основное влияние оказывает экспрессия антикоагулянтных факторов на поверхности стенок сосудов.

Данные, приведенные выше, характеризуют лишь изменения со стороны тромбоцитарного гемостаза при сверхглубокой степени гипотермии. По-видимому, это обусловлено практическим интересом к вопросам, связанным с криоконсервацией и длительным хранением компонентов крови [64, 152]. Результатов исследования плазменного гемостаза при сверхглубокой гипотермии нами не найдено.

1.3. Постгипотермический период

Постгипотермический период очень важный этап в действии гипотермии на организм. Этот период характеризуется манифестацией всех осложнений и развитием тяжелых органопатий у пострадавших [33, 34, 53, 58]. По статистическим данным самое большое число летальных исходов регистрируется в первые 26 часов после возвращения температуры тела к нормальным значениям. Таким образом, понимание, прогнозирование и управление возможными системными побочными эффектами согревания является важным для сохранения нормального функционирования целостного организма после гипотермического воздействия.

Гипотермия первоначально усиливает, а затем уменьшается скорость метаболизма теплокровных организмов. В процессе охлаждения происходит последовательно снижение метаболизма, уменьшение потребления кислорода и нарушение гемодинамики, в том числе за счет уменьшения объема микроциркуляторного русла, вызванного периферической, вазоконстрикцией и "физиологической ампутацией" поврежденных участков [86, 11, 119, 130]. В

отличие от этого, в процессе восстановления температуры развивается вазодилатация и увеличивается несоответствием между потребностью в кислороде и объемом поступающего кислорода к тканям, что показано в исследованиях на собаках [118, 121] и на людях [98, 100, 132]. В свою очередь вазодилатация приводит на ранних этапах согревания к феномену "afterdrop" (вторичное снижение температуры ядра, при поступлении охлажденной крови из периферических сосудов), а нарастающий кислородный долг описан в литературе как один из побочных эффектов постгипотермического периода т.н. "шок согревания": "Это синдром острого ацидоза, или "шок согревания", характеризуется прогрессирующим снижением рН крови связанным с дыхательной недостаточностью" [128, 132].

Все же механизмы множественной дисфункции систем органов не вполне понятны и включают в себя помимо функциональных нарушений и прямую травму тканей, в результате гибели клеток от температурной нагрузки. Так Кузником Б.И., Шаповаловым К.Г., Сизоненко В.А. описано, что первичным нарушением является травматизация эндотелия и активация системы гемостаза, а функциональные нарушения работы систем органов носят вторичный характер [69, 101, 102]. Подтверждением этой точки зрения являются гистопатологические изменения, демонстрирующие повреждения эндотелия, рассеянный внутрисосудистый тромбоз и апоптоз клеток [83, 86, 88].

С момента снижения ректальной температуры до полного согревания в кровотоке регистрируется увеличение количества десквамированных эндотелиальных клеток, являющихся маркерами деструкции сосудистой стенки. Так, при исследовании крови людей, подвергшихся общему переохлаждению на воздухе (ректальная температура $+32^{\circ}\text{C}$) и получивших отморожение I-II степени, в первые 2 часа после получения травмы, в кровотоке регистрируется увеличенное в 2 раза количество десквамированных клеток [72, 73]. Аналогичные данные регистрируются при исследовании людей, подвергшихся иммерсионной гипотермии и достигших в ходе охлаждения умеренной и глубокой степеней гипотермии [98, 101]. Наряду с этим, при исследовании крови людей,

подвергшихся мягкой иммерсионной гипотермии количество десквамированных клеток не превышает контрольных значений [147].

Количество тромбоцитов и их функциональная активность в периоде согревания зависят от степени переохлаждения [100, 101]. Так, при исследовании крови людей, достигших мягкой степени гипотермии, через 4-5 часов отмечен незначительный тромбоцитоз при неизменности функциональной активности красных кровяных пластинок. При исследовании крови людей и обезьян через 4-6 часов после умеренной и глубокой степеней гипотермии отмечается развитие тромбоцитоза при снижении их чувствительности к индукторам агрегации [100, 112, 125, 127, 128, 156], при чем выраженность гипоагрегации напрямую коррелирует со степенью полученных обморожений [129, 133, 143]. Через 2 часа после достижения сверхглубокой степени гипотермии, на свиньях и собаках, показано снижение количества тромбоцитов, кроме того, по мере развития согревания выраженность тромбоцитопении нарастала [97, 156]. Также агрегационная активность тромбоцитов была снижена, как в отношении индукторов агрегации, так и при оценке степени лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии [74, 109].

При анализе гемостатического потенциала в течение периода согревания после достижения мягкой степени гипотермии отмечается возврат всех параметров плазмы крови к исходным значениям [147, 158, 160]. Так, при исследовании крови свиней (ректальная температура $+28^{\circ}\text{C}$) в течение первых 2-3 часов после прекращения иммерсионного охлаждения отмечено незначительное сокращение время свертывания крови и рекальцификации плазмы, кроме того, было установлено снижение активности протеина С, выполняющего антикоагулянтную функцию [149, 154, 160]. При исследовании крови людей, достигших $+23... +24^{\circ}\text{C}$ также в ходе непреднамеренного иммерсионного переохлаждения, через 1,5-2 часа отмечено сокращение АПТВ, ПВ и тромбинового времени (ТВ) свертывания на 30%, при сравнении с показателями, полученными сразу по поступлению таких пациентов в стационар [143, 151, 156]. Также, регистрируется увеличение количества фибриногена [151]. Наряду с этим,

исследование крови людей, подвергшихся общему переохлаждению на воздухе, отмечается выраженное сокращение ПВ и времени образования сгустка (СФТ) по данным ТЭГ [107, 166, 167, 173]. Кроме того, исследование крови пострадавших людей демонстрирует уменьшение активности АТ III [175, 179]. В тоже время, при исследовании крови собак (ректальная температура +23... +24 °С) через 2 часа после прекращения охлаждения было зафиксировано снижение гематокрита, в то время как, показатели СФТ и ПВ не отличались от контрольных значений [176, 180, 182]. Между тем, в первые часы и сутки после переохлаждения ускорение свертывания крови частично компенсируется усилением фибринолитической активности [102]. Так, в ряде работ показан нарастающий уровень продуктов деградации фибрина (ПДФ) [69, 71, 102]. Но, при исследовании *in vitro* охлаждение крови до +25 °С способствует развитию гипокоагуляции, при последующем прогреве ее в термостате до +37 °С не выявлено какого-либо смещения гемостатического потенциала [170].

Данные о гемостатической картине в постгипотермическом периоде разнятся.

На фоне относительно умеренной гиперкоагуляции, развившейся в период согревания, увеличение концентрации маркеров деструкции эндотелия способствует манифестации гемореологических расстройств. При гистологическом анализе через 24 часа после достижения +25 °С ректальной температуры эндотелиальные клетки не только не возвращались к нормальной морфологии, но и усугублялось их состояние [16, 133]. В данный период количество десквамированных эндотелиальных клеток в кровотоке в 5 раз превышает контрольные значения [108, 109]. Выявляются сокращение времени свертывания крови и рекальцификации плазмы, АПТВ, ПВ, ТВ, значительно повышается концентрация фибриногена и ПДФ, уменьшается уровень АТ III и регистрируется выраженное торможение фибринолиза [27, 29 35, 36, 40, 45, 52, 57, 59, 66, 71, 73, 125, 127, 130, 131, 132, 134, 143, 151, 154, 158, 164, 166, 175, 176, 183]. Данные свидетельствуют о том, что к указанному сроку у больных проявляется хроническая форма ДВС-синдрома с одновременно начинающимся

истощением фибринолиза. Наряду с описанными гемостазиологическими нарушениями в ряде работ отмечено, что через 12 часов рН крови возрастает, а изменения объема плазмы и циркулирующей крови не происходит, остается неизменным и электролитный состав [160, 171, 174].

При эндогенной гипотермии, в описанных клинических случаях показано, что при достижении $+31\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 48 часов, а затем отогревании регистрируется прогрессирующая глубокая тромбоцитопения, на фоне неизмененного времени свертывания по показателю ПВ, АПТВ при этом не значительно удлиняется [180]. Кроме того, в ряде клинических случаев описана незначительно возросшая концентрация ПДФ через 24 часа после отогревания, что свидетельствует об активации фибринолитической системы в постгипотермическом периоде [169, 177].

Особый вклад в течение постгипотермического периода и развития осложнений вносит баланс про- и противовоспалительных цитокинов. Так, показано, что в первые 24-48 часов регистрируется максимально возможный уровень фактора некроза опухоли ($\text{TNF}\alpha$), интерлейкинов 6 и 18 (IL-6, IL-18), обладающих мощным прокоагулянтным действием [72, 73, 103, 106].

1.4. Адаптация к холодovým воздействиям

На начальном этапе адаптации к интенсивным внешним воздействиям реализуется срочный, но несовершенный набор защитно-компенсаторных реакций, который позволяет поддерживать адекватную жизнедеятельность за счет усиленного использования функциональных резервов. Уменьшение компенсаторных ответов и появление адаптивных изменений в висцеральных системах служат признаком перехода в долговременную адаптацию [68].

При адаптации организма к низким температурам изменяются пороги термозащитных реакций. У людей адаптированных к холоду снижается количество холодových рецепторов, количество тепловых остается на том же

уровне [11, 27, 44, 63]. Длительная адаптация организма к холоду связана не только с увеличением концентрации катехоламинов, но и с повышением адренергической чувствительности ряда эффекторных органов и тканей к норадреналину [6, 7, 90]. При охлаждении организма резко повышается в периферической крови содержание норадреналина: на 5-й день охлаждения в 1,5 раза; на 15-й день в 1,7 раза, а к 30-му дню эксперимента до 2 раз [8, 9, 10].

После воздействия на организм кроликов низкой температуры отмечалась активизация нейросекреторных клеток в области супраоптического ядра гипоталамуса, а также увеличение размеров капилляров [123]. Следствием увеличения площади контакта поверхности является увеличение содержания серотонина: на 15-й день охлаждения концентрация его возрастала в 2 раза, а на 30-й день эксперимента увеличивалась в 3-4 раза [11, 27, 44]. Наряду с включением в активную работу ядер гипоталамуса при общем охлаждении организма, авторы отмечали интенсивную реакцию всей адреналонадпочечниковой системы организма. Так, после 5-дневного эксперимента продукция АКТГ возрастала в 2 раза, к 30-му дню воздействия увеличилась в 4 раза [68, 77, 83]. Одновременно в эту реакцию включались и надпочечники. Так, первоначально регистрировалось незначительное увеличение количества кортизола: к 15 дню уровень данного гормона возрастал в 1,5 раза, а через 30 дней охлаждения животных кортизол увеличился в периферической крови в 2 раза [11, 14].

Изменения, происходящие в организме под действием гипотермии, затрагивают все системы.

После 30 дней адаптации к холоду уменьшалась чувствительность депрессорной реакции системного давления к ацетилхолину, ЧСС уменьшилась на 20% [9]. Вместе с тем выявлено и существенное снижение сердечного выброса, что свидетельствует об уменьшении силы сокращений, наряду с этим регистрируется уменьшение систолического и минутного объема крови [6].

Рядом авторов показано, что в экстремальных условиях в течение 10 дней эксперимента нарушается нервно-трофический процесс в слизистой бронхов, происходящий к появлению очагов гиперплазии [56].

При выработке адаптации к холодовому воздействию в организме возникают и усиливаются механизмы, способствующие предотвращению процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ). Признаком несостоятельности ответной реакции является достоверное увеличение ПОЛ на 7, 14, 21 и 28 дни эксперимента [20, 26, 36, 43, 62]. Это в свою очередь сопровождается перестройкой фосфолипидов в мембранах эритроцитов и выражается в «текучести» мембран [51, 121]. Так, в форменных элементах и плазме крови у животных, охлаждавшихся в течение 5-30 дней при температуре -30°C по 3 часа в день, отмечается увеличение удельного веса лизофосфатидилхолина, способствующего агрегации и адгезии клеток крови. При сложившейся ситуации в организме подопытных животных отмечался метаболический ацидоз [56, 67].

Исследованию состояния системы гемостаза при длительном холодовом воздействии посвящен ряд работ, в котором приводится сравнительный анализ общего липидного профиля, гемостатического статуса и иных биохимических параметров у коренных жителей Севера и пришлых людей [3, 5, 99, 103].

У коренных жителей Севера отмечается гипокоагуляция, при усилении противосвертывающей активности плазмы крови [40, 95]. При этом в зимнее время все же отмечается развитие реакции напряжения в системе гемостаза, проявляющееся склонности к тромбозам и угнетению фибринолитической активности плазмы крови. В работах Фатеевой Н.М., показано развитие гипокоагуляции при угнетении противосвертывающей системы.

В работах Агаждяна Н.А., Фатеевой Н.М. (1991, 2005), показано, что длительное пребывание пришлых людей в северных широтах сопровождается развитием гипоксических явлений и формированием тромбоцитоза, с преобладанием старых форм кровяных пластинок и уменьшением их функциональной активности [3, 99]. У пришлого населения развивается хронический стресс. Наблюдается разобщение фосфорилирования и свободно-

радикального окисления, в пользу последнего [4, 100]. Гипоксия и активация процессов свободно-радикального окисления липидов через активацию тромбоцитов приводит к усилению свертывания крови.

При перемещении в Заполярье на организм действует климатический контраст, который усиливается напряжением в системе эритрона, гемостаза, механизмах вегетативной регуляции и повышении реактивности сердечно-сосудистой системы по гипертоническому типу [3, 4, 99, 100]. Проявлением дизадаптационных процессов Фатеева Н.М. (2011) считает повышение агрегации тромбоцитов, усиление тромбинообразования и снижение фибринолитической активности. Изменение в эритроцитарном звене крови носят аналогичный характер. Так, отмечается снижение продолжительности жизни эритроцитов, уменьшение концентрации гемоглобина в них, что как следствие приводит к снижению оксигенации крови и развитию гипоксических явлений [3, 97, 98]. Сокращение продолжительности жизни эритроцитов в кровяном русле и усиление кроветворения является результатом компенсаторно-приспособительной перестройки системы крови в ответ на сочетанное воздействие экстремальных климатогеографических и экологических факторов окружающей среды.

Анализ данных литературы показал, что триггерным механизмом, обуславливающим гиперкоагуляцию в системе гемостаза является стресс-реакция, сочетающаяся с активацией процессов перекисного окисления липидов, и снижение функциональной активности сосудистой стенки.

В работах Агаджаняна и Петровой (1991) при освещении вопроса адаптации к действию низких температур выделяют следующие особенности формирования ответной реакции [3]. Наблюдается чередование действие холода и периода нормальных температур, это сопровождается нарушением четких границ фаз адаптации. В первые дни действия холода теплопродукция нарастает избыточно, а теплоотдача не снижена. Спазм поверхностных сосудов приводит к усилению "глубинного" кровотока. При дальнейшем действии холода теплопродукция нарастает, а теплоотдача снижается, отмечается повышение порога чувствительности холодовых рецепторов [98, 99]. Происходит переключение

обмена веществ с использованием в качестве субстрата окисления липиды, что приводит к разобщению фосфорилирования и свободно-радикального окисления. В результате активации процессов перекисного окисления липидов в кровотоке появляются, а затем и нарастает концентрация высших жирных кислот. Со стороны гуморальных систем регистрируется повышенная активность щитовидной железы и надпочечников [82, 84, 87].

Фатеева (2011) в своих работах выделяет три типа стратегии к адаптации при перемещении людей из средних широт на Север [99]. Первый тип реагирования характеризовался тенденцией к гипокоагуляции, при сочетанной активации процессов перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты мембран тромбоцитов (адаптивный тип). Второй тип реагирования характеризовался развитием гиперкоагуляции, при повышении активности процессов ПОЛ и снижении антиоксидантной защиты организма (гипертензивный тип). Третий типа реагирования сопровождался развитием гипокоагуляции, при повышении активности ПОЛ и снижении активности антиоксидантной защитной системы организма (астенический тип).

Таким образом, первый тип реагирования характеризовался повышением компенсаторно-приспособительных механизмов за счет физиологических резервов организма. Второй и третий типы реагирования свидетельствовали о напряженности функциональных систем и возможном развитии патологии.

1.5. Применение и методы воспроизведения гипотермии

В настоящее время общую и локальную гипотермию используют в медицинской практике главным образом в целях снижения кислородных запросов тканей и устранения ишемических, и гипоксических явлений. В виду значительного снижения интенсивности метаболических процессов использование гипотермии позволяет значительно уменьшить последствия инсультов и инфарктов, ишемии. К потенциальным показаниям применения

гипотермии относят постаноксическую энцефалопатию, черепно-мозговые травмы с целью улучшения исходов и уменьшения внутричерепного давления, перинатальную асфиксию, субарахноидальные кровоизлияния, а также интраоперационное использование и развившуюся гипертермию при диэнцефальном синдроме [31, 37, 49, 50, 54, 55, 75, 89, 92]. Интраоперационная гипотермия является рутинным способом снижения метаболизма при операциях на открытом сердце и сосудах головного мозга [5, 50, 54, 55]. Перфузионная гипотермия широко используется как метод профилактики тяжелого неврологического дефекта при сердечно-легочной реанимации после первичной аритмической остановки сердца [75, 92]. Использование гипотермии в педиатрической практике доказывает значимое увеличение выживаемости и улучшение неврологических исходов при перинатальной асфиксии [126]. Кроме того, гипотермия применяется для закаливания организма и включает в себя различные варианты исполнения как обливание холодной водой и моржевание, так и воздушные ванны [30, 135].

Для создания гипотермии в условиях стационара могут быть применены различные методические подходы. Все способы гипотермии можно разделить на две группы. Первую группу составляют способы, при помощи которых гипотермия достигается охлаждением наружной поверхности тела [4, 5, 92]. Ко второй группе относят способы, при которых кровь охлаждается вне организма [21, 24, 89]. Для реализации первой группы способов применяются аппараты - гипотермы, обеспечивающие понижение температуры с помощью криоаппликаторов, в которых циркулирует вода при температуре +5 °С или используется поток переохлажденного воздуха. Наряду с этими методами снижения температуры, популярными остаются и методы отведения тепла с помощью ледяных ванн и пузырей со льдом [5, 41]. Гипотермия с охлаждением наружной поверхности тела может быть как местная, так и общая. Для реализации второй группы способов применяются аппараты искусственного кровообращения, содержащие теплообменник, что позволяет обеспечить экстракорпоральное охлаждение крови и эффективно понижать температуру тела до заданного уровня.

Так же существуют методики комбинированной гипотермии - сочетающие общую и локальную гипотермии.

Закаливающее и общеукрепляющее действие низких температур, вероятно, связано с активацией метаболизма и неспецифических факторов защиты [30, 26, 32]. Процедуры закаливания включают огромное число способов. Процедура закаливания водой заключается в том, что купание в холодной воде выполняют днем, медленно погружая тело в холодную воду с головой (или без), рассчитывая холодовую нагрузку по таблице Бокши – Латышева [32]. Отсутствие согревающих физических упражнений позволяет снизить холодовую нагрузку на организм в момент вхождения в воду, и способствует активации терморегуляторных процессов, после охлаждения [30, 32, 51]. При исследовании влияния методик со средней и большой холодовой нагрузкой на параметры сердечно–сосудистой и дыхательной систем у людей с нормальным артериальным давлением установлено, что средние холодовые нагрузки, длящиеся 35-45 минут, приводят к мобилизации дыхательной системы и не сопровождаются развитием реакции напряжения со стороны сердечно-сосудистой системы [135]. При воспроизведении больших холодовых нагрузок выявлено уменьшение функциональной активности дыхательной системы и развитие гипертензии [5, 77, 135]. Следовательно средние холодовые нагрузки могут быть использованы в процессе физической реабилитации.

ГЛАВА 2

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Материал и объект исследования

В качестве объекта исследования использовали 289 белых половозрелых крыс линии Wistar обоего пола. Линии животных были выведены и выращены в виварии НИИ Цитологии и генетики СО РАН (г. Новосибирск).

Животных, доставленных из центрального вивария, до начала экспериментов содержали на карантине в условиях кафедрального вивария в течение 1-2 недель. За этот срок ослабленных особей выбраковывали, а здоровые животные адаптировались к новым условиям вивария. Содержание животных отвечало международным рекомендациям проведения медико-биологических исследований с использованием животных по правилам GPL. Корм и воду подавали 1 раз в сутки между 10 и 11 часами. Использование крыс в экспериментах осуществляли в соответствии с Директивами – 86/609/ЕЕС [125, 126]. Материалом для исследования являлась цельная кровь, плазма крови богатая и бедная тромбоцитами. На протяжении всего периода эксперимента производилось взвешивание животных, осуществлялось измерение ректальной температуры.

Данные о животных, использованных в различных экспериментальных сериях, представлены в сводной таблице 2.1.

Характеристика животных, использованных в экспериментах ($X \pm m$)

	Серия	Контрольная группа		Опытная группа	
		n	масса	n	масса
Иммерсионная гипотермия					
I.	Однократные воздействия				
1	Однократная иммерсионная гипотермия (ректальная температура +32... +35 °С)	10	251,3±5,9	10	287,2±9,3
2	Однократная иммерсионная гипотермия (ректальная температура +27... +30 °С)			13	295,1±7,9
3	Однократная иммерсионная гипотермия (ректальная температура +20... +23 °С)	10	303,0±10,4	23	327,0±6,9
4	Однократная иммерсионная гипотермия (ректальная температура +10... +16 °С)			10	330,3±98,6
5	Отсроченное действие однократной иммерсионной гипотермии (через 24 часа) по достижении ректальной температуры +20... +23 °С	10	289,3±6,3	11	298,1±6,1
6	Отсроченное воздействие однократной иммерсионной гипотермии (через 24 часа) ректальная температура +10... +16 °С			10	299,0±8,5
II.	Многократные воздействия				
7	Многократная иммерсионная гипотермия (30 дней)	10	283,6±8,7	10	264,8±9,6
8	Отсроченное воздействие многократной иммерсионной гипотермии (31 день)	10	238,2±5,4	10	286,5±9,2

Воздушная гипотермия					
III.	Однократные воздействия				
9	Однократная воздушная гипотермия (ректальная температура +30 °С)	10	224,0±1,5	12	254,4±5,6
10	Отсроченное действие однократной воздушной гипотермии (через 24 часа) по достижении ими +30 °С	10	221,0±1,5	10	264,4±7,6
IV	Многократные воздействия				
11	Многократная воздушная гипотермия (30 дней)	10	280,0±8,6	10	273,7±8,7
12	Отсроченное воздействие многократной воздушной гипотермии (31 день)	12	241,9±4,7	10	240,8±5,8
IV.	Тренирующие эффекты различных видов гипотермии				
13	Многократная воздушная гипотермия 30 дней → субмаксимальное воздействие	10	280,0±8,6	10	267,2±10,2
14	Многократная иммерсионная гипотермия 30 дней → субмаксимальное воздействие	10	283,6±10,0	10	270,3±7,2
Интактные животные					
	n=30		масса = 289,9 ±11,5		

Примечание: \bar{X} – выборочное среднее; m – стандартная ошибка выборочного среднего; n – количество особей в группе.

Животные контрольных и экспериментальных групп в разных сериях по массе тела статистически значимо не отличались.

2.2. Физиологические методы исследования

2.2.1. Метод создания иммерсионной гипотермии

Методика моделирования однократной гипотермии

Иммерсионная гипотермия моделировалась путем помещения животных, находящихся в индивидуальных клетках, в емкости с водой на глубину 4,5 см при температуре воды +5 °С, воздуха +7 °С. Животные находились в камере до достижения ректальной температуры различной величины.

Животные были разбиты на группы в зависимости от величины ректальной температуры достигнутой в ходе эксперимента.

Так, первую группу составили животные достигавшие ректальной температуры +32... +35 °С, что соответствует мягкой степени гипотермии. Время достижения этого уровня ректальной температуры в среднем составило 20 ± 5 минут.

Вторую группу составили животные ректальная температура которых, по окончании эксперимента, составила +27... +30 °С, что соответствует умеренной степени гипотермии. Время экспозиции животных составило 30 ± 5 минут.

В третью группу вошли животные ректальная температура которых в ходе эксперимента достигла +20... +23 °С, что соответствует глубокой степени гипотермии. Время экспозиции животных составило 40 ± 8 минут.

Четвертую группу составили животные ректальная температура которых достигала +10... +16 °С, что соответствует сверхглубокой степени гипотермии. Время экспозиции животных составило 55 ± 5 минут.

В качестве контрольных выступали животные, помещаемые в индивидуальных клетках в воду температурой +30 °С на время, соответствовавшее времени нахождения опытной группы.

В следующей серии экспериментов мы воспроизводили однократное опытное воздействие в котором животные достигали +20... +23 °С и +10... +16 °С, но кровь у животных забиралась по истечении 24 часов.

Методика моделирования многократной гипотермии

Многократные воздействия моделировались путем ежедневного помещения животных, находящихся в индивидуальных клетках, в емкости с водой на глубину 4,5 см при температуре воды +5 °С, воздуха +7 °С. Животные находились в камере 40 минут, что соответствовало времени достижения ректальной температуры +20... +23 °С. В течение 30 дней. Забор крови осуществлялся на 30 день, сразу после извлечения из воды животных, и на 31 сутки.

Контролем служила кровь 20 животных, которые ежедневно, в течение 30 дней помещались в индивидуальных клетках в воду температурой +30 °С на время, соответствовавшее времени нахождения опытной группы. Забор крови у 10 животных производился на 30 день, сразу после извлечения из камеры и на 31 день после экспериментального воздействия еще у 10 животных.

На протяжении всего эксперимента у опытных животных осуществляли измерение ректальной температуры до и после опытного воздействия.

2.2.2. Метод создания воздушной гипотермии

Методика моделирования однократной гипотермии

Воздушная гипотермия моделировалась путем помещения животных, находящихся в индивидуальных клетках, в охлаждающую камеру при температуре воздуха -25 °С. Животные находились в камере до достижения ректальной температуры +30 °С. Время экспозиции было индивидуальным и в среднем составляло 6 ± 3 часа. Контролем служила кровь 10 животных, полученная после того, как животные в индивидуальных клетках помещались в камеру при температуре +22 °С. Время экспозиции соответствовало времени нахождения опытной группы в охлаждающей камере.

Следующая серия экспериментов была проведена для оценки отставленного влияния гипотермии, ее составили животные, кровь которых забиралась через 24 часа после действия однократной воздушной гипотермии.

Методика моделирования многократной гипотермии

Многократные воздействия моделировались путем ежедневного помещения животных, находящихся в индивидуальных клетках, в охлаждающую камеру при температуре воздуха $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ на 3 часа. В течение 30 дней. Забор крови осуществлялся на 30 день, сразу после извлечения из камеры животных, и на 31 сутки.

Контролем служила кровь 20 животных, которые ежедневно, в течение 30 дней помещались в камеру при комнатной температуре. Забор крови у 10 животных производился на 30 день, сразу после извлечения из камеры и на 31 день после экспериментального воздействия еще у 10 животных.

На протяжении всего эксперимента у опытных животных осуществляли измерение ректальной температуры до и после опытного воздействия.

2.2.3. Методы моделирования тренирующего эффекта гипотермии

Многократные воздействия воздушной гипотермии моделировались путем ежедневного помещения животных, находящихся в индивидуальных клетках, в охлаждающую камеру при температуре воздуха $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ на 3 часа. В течение 30 дней. На 31 сутки животные помещались в охлаждающую камеру на 6 часов. Данный временной интервал был выбран нами в соответствии с тем, что при однократном воздействии за это время большая часть экспериментальных животных достигала ректальной температуры $+30\text{ }^{\circ}\text{C}$ и вдвое превышал однократное воздействие в течение цикла тренировок. Забор крови у животных производился на 31 день, сразу после извлечения из камеры.

Контролем служила группа животных, подвергавшаяся многократному воздействию воздушной гипотермии на протяжении 30 дней.

На протяжении всего эксперимента у опытных животных осуществляли измерение ректальной температуры до и после опытного воздействия.

Многократные воздействия иммерсионной гипотермии моделировались путем ежедневного помещения животных, находящихся в индивидуальных

клетках, в емкости с водой на глубину 4,5 см при температуре воды +5 °С, воздуха +7 °С. Животные находились в камере 40 минут, что соответствовало времени достижения ректальной температуры +20... +23 °С. В течение 30 дней. На 31 сутки животные подвергались охлаждению в течении 55 минут, что при однократном воздействии приводило к достижению экспериментальными животными ректальной температуры +10... +16 °С. Забор крови у животных производился на 31 день, сразу после извлечения из емкости с водой.

Контролем служила группа животных, подвергавшаяся многократному воздействию водно-иммерсионной гипотермии на протяжении 30 дней.

На протяжении всего эксперимента у опытных животных осуществляли измерение ректальной температуры до и после опытного воздействия.

Сразу по окончании экспериментального воздействия производился забор крови из печеночного синуса под легким эфирным наркозом, в шприц в объеме 5 мл, с предварительно набранным цитратом натрия в объеме 0,5 мл.

2.3. Методы исследования системы гемостаза

Забор крови, ее стабилизация и получение образцов плазмы осуществлялись по рекомендациям Момота А.П. и Баркагана З.С. (2008).

Забор крови для исследований у животных опытных и контрольных групп производился непосредственно после экспериментального воздействия. После наркотизации у фиксированных к малому операционному столику крыс производилась оценка болевой чувствительности путем сдавливания корня хвоста, по которой оценивали степень наркотизации животного. При удовлетворительной наркотизации животного производилось вскрытие брюшной полости и выделение печеночного синуса. Кровь для исследования, в объеме 5-6 мл, получали путем забора из печеночного синуса в полистироловый градуированный шприц с широкой иглой, содержащий антикоагулянт. В качестве антикоагулянта использовался трехзамещенный 5,5-водный цитрат натрия в

концентрации 3,8 % (0,11 M). Кровь с цитратом натрия смешивалась в соотношении 9:1. После этого кровь со стабилизатором немедленно переносили в полистироловые центрифужные градуированные пробирки. Пробирки закрывались полихлорвиниловыми крышками и переворачивались для перемешивания их содержимого с частотой одно перемешивание в течение двух секунд, десять раз, с целью сохранения рН крови. Центрифугирование также проводилось в закрытых пробирках. Пробирки с кровью, в которых образовывались сгустки или пена, выбраковывали. Кровь центрифугировали 7 минут при скорости 1000 об./мин (160g) при комнатной температуре (+18...+25 °С). В результате центрифугирования получали богатую тромбоцитами плазму крови, часть которой использовали для оценки агрегационной способности тромбоцитов. Оставшуюся богатую тромбоцитами плазму повторно центрифугировали в течение 15 минут при скорости 3000 об./мин (1200 g) в соответствии с рекомендациями З.С. Баркагана и А.П. Момота [18]. Полученную таким образом плазму, лишенную тромбоцитов, переносили при помощи автоматической пипетки в полистироловые градуированные центрифужные пробирки и использовали для оценки показателей коагуляционного гемостаза, антикоагулянтной и фибринолитической систем крови. Данные образцы плазмы находились в работе в течение часа.

Анализ показателей периферической крови проводился при помощи гематологического анализатора «Drew-3», США.

Методики по исследованию системы гемостаза выполнены в мануальном и коагулометрическом вариантах (двухканальный коагулометр “Минилаб”, Россия). Определения уровня антитромбина III с использованием хромогенных субстратов проводились при помощи спектрофотометра СФ-46 (Россия) на длине волны 405 нм. Запись тромбоэластограммы с использованием активатора "Start-tem" проводилась на аппарате Rotem Gamma (München Германия).

После забора крови наркотизированные животные умерщвлялись методом цервикальной дислокации [121].

2.3.1. Исследование тромбоцитарного звена гемостаза

а) На гематологическом анализаторе «Drew-3» проводилось определение:

- количества тромбоцитов ($\times 10^9/\text{л}$);

б) Оценка агрегации тромбоцитов проводилась на двухканальном агрегометре «Viola» ЛАТ 220 по методике G. T. Born [120]. В соответствии с инструкцией к прибору. В силиконизированную кювету вносили 400 мкл богатой тромбоцитами плазмы после чего добавляли 50 мкл индуктора. В качестве индуктора агрегации использовался раствор АДФ в концентрации 10 мкг/мл фирмы «Технология-Стандарт» (Россия).

2.3.2. Общие коагуляционные тесты, позволяющие оценить состояние внутреннего пути коагуляционного гемостаза

а) Силиконовое время свертывания рекальцифицированной бедной тромбоцитами цитратной плазмы по Beller, Graeff (1971).

б) Активированное парциальное тромбопластиновое время (АПТВ) по Caen et al. (1968) с использованием частичного тромбопластина (кефалина) и легкой фракции каолина.

2.3.3. Коагуляционный тест, позволяющий оценить состояние внешнего пути активации коагуляционного гемостаза

а) Протромбиновое время свертывания цитратной бедной тромбоцитами плазмы по Quick (1935) с тромбопластином фирмы "Технология-Стандарт" (Техпластин[™] (тромбопластин-кальциевая смесь из фосфолипидов мозга человека)), стандартизированным по международному индексу чувствительности (ISI =1,1-1,2).

2.3.4. Коагуляционные тесты, позволяющие оценить конечный этап образования фибринового сгустка

а) Тест, выявляющий тромбинемия по наличию в плазме растворимых фибрин-мономерных комплексов (РФМК):

- фенантролиновый тест (ФТ) по В.А. Елыкомову и А.П. Момоту (1987) во флаконном варианте.

б) Содержание фибриногена в плазме хронометрическим методом по Clauss (1961).

2.3.5. Тест, оценивающие состояние антикоагулянтного звена коагуляционного гемостаза

а) Определение количества (в процентах от нормы) антитромбина III в плазме крови на основе гидролиза хромогенного субстрата по В.А. Макарову и соавт. (2002) (Набор реагентов для определения количества антитромбина III – “ХромоТех™-Антитромбин”).

2.3.6. Тест, позволяющие оценить состояние фибринолитической системы

а) Определение спонтанного эуглобулинового лизиса по Kowarzyk, Buluck (1954).

2.3.7. Интегральные методы оценки состояния системы гемостаза

а) Активационная тромбоэластография, выполняется на стабилизированной цитратом натрия цельной крови при добавлении к ней активатора (0,2 моль/л хлорид кальция) коагуляционных реакций. [53].

б) Оценка полимеризации фибрин-мономера, предназначен для определения нарушений конечного этапа свертывания крови, связанных с замедлением или ускорением полимеризации фибрин-мономеров.

Подробное описание большинства перечисленных выше методов исследования приведено в справочном издании под редакцией А.П. Момота [18, 51] в публикациях указанных выше авторов, а также в инструкциях по применению диагностических наборов.

2.4. Статистическая обработка экспериментальных данных

Статистическая обработка данных проводилась на персональном компьютере с использованием пакета статистических программ STATISTICA 6.0 (StatSoft Inc, Tulsa, Oklahoma, США). В виду малого числа животных в группах для расчета статистической значимости различий использовали непараметрический метод статистической обработки результатов исследования *U*-критерий Манна-Уитни. Данные непараметрических совокупностей представлены в виде медиан (Me) и квартилей (25 и 75%). Для всех тестов статистически достоверными считались различия, уровень значимости которых отвечал условию $p < 0,05$.

2.5. Показатели системы гемостаза у интактных крыс

Из исследований ряда авторов известно, что некоторые показатели гемостаза крыс отличаются от показателей полученных на донорской человеческой плазме [69, 138, 169]. Для получения референтных нормальных показателей было проведено исследование состояния системы гемостаза у группы интактных животных. Данная группа находилась на свободном пищевом рационе и не подвергалась каким-либо предварительным воздействиям. В интактную группу животных вошли случайным образом отобранные крысы линии Wistar обоего пола общей численностью 30 особей. Эти данные использовались для установления исходной гемостазиологической картины. Забор крови для исследований у данной группы животных производился после эфирной наркотизации.

Кровь для исследования, в объеме 5-6 мл, получали путем забора из печеночного синуса в полистироловый шприц с широкой иглой, содержащий 0,11 М (3,8 %) раствор цитрата натрия (соотношение крови и цитрата 9:1). Подготовка и отбор образцов плазмы крови для исследования производился по описанной

ранее методике (см. п. 2.3). У всех животных исследовались показатели тромбоцитарного и коагуляционного гемостаза, антикоагулянтной и фибринолитической систем в том же объеме, что и у контрольных и опытных групп.

В таблице 2.2 представлены нормальные показатели системы гемостаза у интактных крыс.

Таблица 2.2

Референтные показатели системы гемостаза у интактных крыс

Показатели гемостаза	Me	25÷75
Количество тромбоцитов, $10^9/л$	416,0	277,0÷552,5
Агрегация, отн.ед.	25,2	24,9÷38,7
Силиконовое время, с	250,0	174,0÷359,5
АПТВ, с	16,8	15,9÷17,6
Протромбиновое время, с	23,6	20,1÷25,2
РФМК	3,0	3,0÷3,0
Фибриноген, г/л	1,7	1,4÷2,0
ВПФМ, г	2,3	2,0÷2,4
АТ III, %	97,5	84,9÷112,3
Эуглобулиновый фибринолиз, мин	490,5	422,2÷554,5
СТ, с	259,0	227,5 ÷ 279,5
CFT, с	98,0	82,0 ÷ 118,5
ML, %	15,0	0,0 ÷ 20,5

Примечание: Me – медиана выборки; 25÷75 – процентиля выборки.

АПТВ – активированное парциальное тромбопластиновое время; РФМК – растворимые фибрин-мономерные комплексы; ВПФМ, г – время полимеризации растворимых фибрин-мономерных комплексов; АТ III – антитромбин III; СТ – время коагуляции; CFT – время образования сгустка; ML – максимальный лизис.

Полученные параметры системы гемостаза у группы интактных крыс находятся в пределах физиологической нормы и соответствуют большинству приводимых в литературе данных.

ГЛАВА 3. ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ РЕЖИМОВ ИММЕРСИОННОЙ ГИПОТЕРМИИ НА СОСТОЯНИЕ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА У КРЫС

3.1. Система гемостаза при действии однократной иммерсионной гипотермии

Однократная иммерсионная гипотермия моделировалась путем помещения животных, находившихся в индивидуальных клетках, в емкости с водой на глубину 4,5 см при температуре воды +5 °С, воздуха +7 °С. Животные находились в воде до достижения ректальной температуры различной величины, которая соответствовала степеням гипотермии (см. Главы 1). Измерение ректальной температуры осуществлялось через каждые 10 минут. Время экспозиции было индивидуальным и в среднем составляло: для животных, достигших температуры +32... +35 °С - 20 минут (мягкая степень гипотермии); +27... +30 °С - 30 минут (умеренная); +20... +23 °С - 40 минут (глубокая); а также +10... +16 °С - 55 минут (сверхглубокая) соответственно. В качестве контрольных выступали животные, помещавшиеся в индивидуальные клетки с погружением в воду температурой +30 °С на время, соответствовавшее времени нахождения в холодной воде крыс опытной группы. Забор крови у животных обеих групп осуществлялся сразу после извлечения из воды.

Изменения в системе гемостаза оценивали по состоянию тромбоцитарного и коагуляционного гемостаза, уровню антикоагулянтов и активности фибринолитической системы по описанным во 2 главе методикам, а также по результатам тромбоэластографии.

3.1.1. Состояние системы гемостаза у крыс по достижении ими мягкой степени гипотермии под действием однократного иммерсионного переохлаждения

Результаты исследования показателей системы гемостаза у крыс по достижении ректальной температуры +32... +35 °С при действии однократной водно-иммерсионной гипотермии представлены в таблице 3.1.

Таблица 3.1.

Показатели системы гемостаза у крыс по достижении ректальной температуры +32... +35 °С под действием однократной иммерсионной гипотермии

Параметр	Контроль (n= 10)	Опыт (n= 10)	p
Количество тромбоцитов, 10 ⁹ / л	511,0 [502,0÷554,0]	559,5 [516,5÷599,2]	< 0,05
Агрегация, отн.ед	6,7 [3,1÷19]	3,1 [2,6÷4,1]	< 0,05
Силиконовое время, с	122,0 [82,0÷148,0]	215,0 [210,5÷243,0]	< 0,05
АПТВ, с	15,4 [11÷16]	20,0 [19,4÷22,9]	< 0,05
Протромбиновое время, с	22,2 [21,8÷23,1]	32,8 [27,4÷36,6]	< 0,05
РФМК, мг/ 100 мл	3,0 [3,0÷3,0]	3,0 [3,0÷3,0]	> 0,05
Фибриноген, г/л	2,1 [2,1÷2,2]	2,2 [1,7÷2,3]	> 0,05
ВПФМ, г	1,8 [1,6÷2,1]	2,2 [2,1÷2,3]	> 0,05
АТ III, %	116,5 [114,2÷117,0]	86,0 [74,3÷92,2]	> 0,05
Эуглобулиновый фибринолиз, мин	558,0 [360,0÷558,0]	215,5 [180,0÷247,0]	< 0,001
СТ, с	259,0 [227,5 ÷ 279,5]	324,0 [211,0 ÷ 340,0]	< 0,05
СФТ, с	98,0 [82,0 ÷ 118,5]	97,0 [92,0 ÷ 108,0]	> 0,05
ML, %	15,0 [0,0 ÷ 20,5]	49,0 [3,0 ÷ 56,0]	< 0,05

Примечание: данные представлены в виде Me – медиана выборки; [25÷75] – процентилю выборки; n – число наблюдений; p – уровень статистической

значимости различий сравниваемых показателей. АПТВ - активированное парциальное тромбопластиновое время; РФМК - растворимые фибрин-мономерные комплексы; ВПФМ, г - время полимеризации растворимых фибрин-мономерных комплексов; АТ III - антитромбин III; СТ – время коагуляции; СFT – время образования сгустка; ML – максимальный лизис.

Как видно из таблицы, снижение ректальной температуры до +32... +35 °С сопровождалось увеличением количества тромбоцитов на 9% ($p < 0,05$), при двукратном снижении их агрегационной способности ($p < 0,05$).

Со стороны начальных этапов плазменного гемостаза наблюдалась гипокоагуляция. Угнетение контактной фазы характеризовалось удлинением силиконового времени свертывания в 2 раза ($p < 0,05$). Гипокоагуляционный сдвиг по внешнему и внутреннему пути характеризовался удлинением протромбинового и активированного парциального тромбопластинового времен свертывания на 45% и 61% соответственно ($p < 0,05$). Данные подтверждались результатами тромбоэластографии, что сопровождалось увеличением времени коагуляции (СТ) на 25% ($p < 0,05$).

Активность фибринолитической системы возрастала, что подтверждалось как уменьшением времени лизиса в 2 раза ($p < 0,001$), так и увеличением процента лизиса (ML) по данным тромбоэластографии.

В качестве примера представлены тромбоэластограммы, полученные у животных из контрольной (рис. 3.1) и опытной (рис. 3.2) групп.

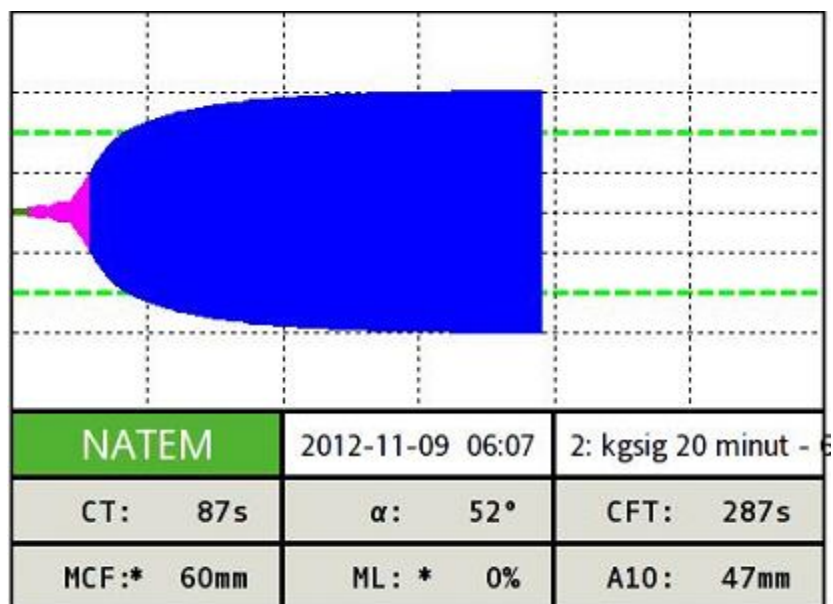


Рисунок 3.1 Тромбоэластограмма (контрольная группа, животное №6), зарегистрированная сразу по завершении однократной экспозиции при температуре 30°C в течение 20 минут

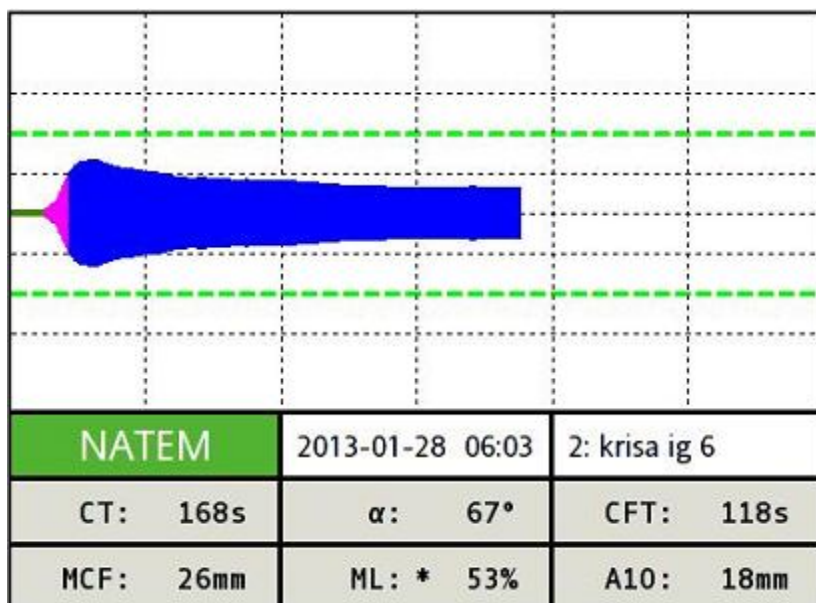


Рисунок 3.2 Тромбоэластограмма (опытная группа, животное №6), зарегистрированная сразу по достижении ректальной температуры +32... +35 °C под действием однократной иммерсионной гипотермии

Таким образом, снижение ректальной температуры до +32... +35 °C сопровождалось со стороны тромбоцитарного гемостаза незначительным

увеличением количества тромбоцитов и выраженным снижением их агрегационной активности. Со стороны плазменного гемостаза наблюдался гипокоагуляционный сдвиг контактной фазы свертывания, а также на внешнем и внутреннем путях свертывания гемостатического каскада реакций. Кроме того, регистрировалась активация фибринолитической системы. При этом, конечный этап свертывания и уровень антикоагулянтов оказались нечувствительными к действию гипотермии.

3.1.2. Состояние системы гемостаза у крыс по достижении ими умеренной степени гипотермии под действием однократного иммерсионного переохлаждения

Результаты исследования показателей системы гемостаза у крыс по достижении ректальной температуры +27... +30 °С при действии однократной водно-иммерсионной гипотермии представлены в таблице 3.2.

Таблица 3.2

Показатели системы гемостаза у крыс по достижении ректальной температуры +28... +30 °С под действием однократной иммерсионной гипотермии

Параметр	Контроль (n= 10)	Опыт (n= 13)	p
Количество тромбоцитов, 10 ⁹ / л	511,0 [502,0÷554,0]	588,0 [548,0÷641,0]	<0,05
Агрегация, отн.ед	6,7 [3,1÷19]	56,0 [33,6÷74,1]	< 0,05
Силиконовое время, с	122,0 [82,0÷148,0]	136,0 [130÷155]	> 0,05
АПТВ, с	15,4 [11÷16]	17,4 [16,3÷26,2]	> 0,05
Протромбиновое время, с	22,2 [21,8÷23,1]	25,3 [23,3÷28,3]	> 0,05
РФМК, мг/ 100 мл	3,0 [3,0÷3,0]	5,5 [4,5÷5]	< 0,05
Фибриноген, г/л	2,1 [2,1÷2,2]	2,1 [1,9÷2,2]	> 0,05

Продолжение таблицы 3.2

ВПФМ, г	1,8 [1,6÷2,1]	2 [1,6÷2,1]	< 0,05
АТ III, %	116,5 [114,2÷117,0]	70,0 [47,3÷109,0]	< 0,05
Эуглобулиновый фибринолиз, мин	558,0 [360,0÷558,0]	1248,0 [1212÷1248]	< 0,01
СТ, с	259,0 [227,5 ÷ 279,5]	224,0 [221,0 ÷ 240,0]	> 0,05
CFT, с	98,0 [82,0 ÷ 118,5]	57,0 [42,0 ÷ 68,0]	< 0,05
ML, %	15,0 [0,0 ÷ 20,5]	5,0 [0,0 ÷ 12,5]	< 0,05

Примечание: данные представлены в виде Me – медиана выборки; [25÷75] – процентиля выборки; n – число наблюдений; p – уровень статистической значимости различий сравниваемых показателей. АПТВ - активированное парциальное тромбопластиновое время; РФМК - растворимые фибрин-мономерные комплексы; ВПФМ, г - время полимеризации растворимых фибрин-мономерных комплексов; АТ III - антитромбин III; СТ – время коагуляции; CFT – время образования сгустка; ML – максимальный лизис.

Со стороны тромбоцитарного гемостаза регистрировалось увеличение количества тромбоцитов на 15% ($p<0,05$) и повышение их агрегационной способности в 4,5 раза ($p<0,05$).

Плазменный гемостаз реагировал активацией конечного этапа свертывания, что проявлялось в увеличении концентрации растворимых фибрин-мономерных комплексов на 80% ($p<0,05$) и укорочении времени их самосборки на 20% ($p<0,05$). Данные гемостатические сдвиги нашли отражение и в показателях тромбоэластографии. Так, время образования сгустка в крови экспериментальных животных уменьшалось на 42% ($p<0,05$).

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 ($p<0,001$). Уменьшение функциональной активности фибринолитической системы

подтверждалось также снижением показателя максимального лизиса по данным тромбоэластографии в 3 раза ($p < 0,05$).

В качестве примера представлены тромбоэластограммы, полученные у животных из контрольной (рис. 3.3) и опытной (рис. 3.4) групп.

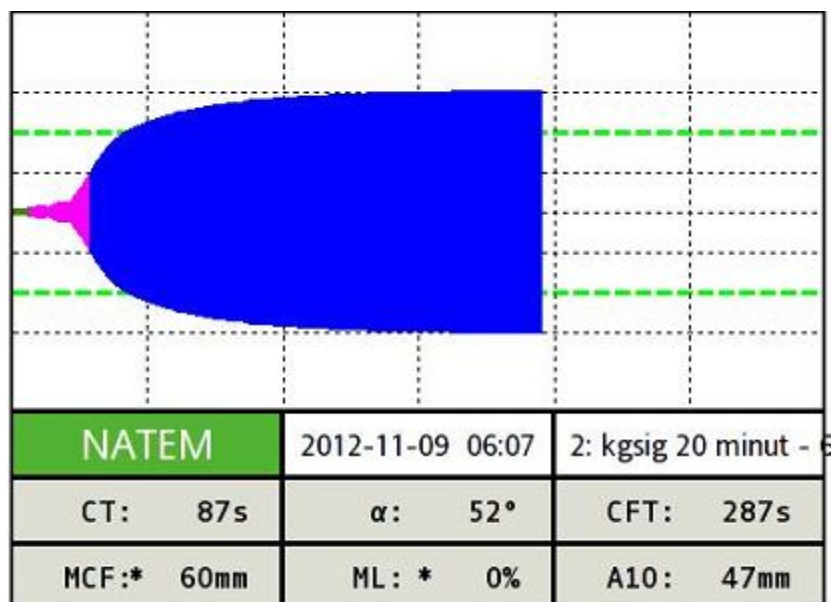


Рисунок 3.3 Тромбоэластограмма (контрольная группа, животное №6), зарегистрированная сразу по завершении однократной экспозиции при температуре +30 °С в течение 30 минут

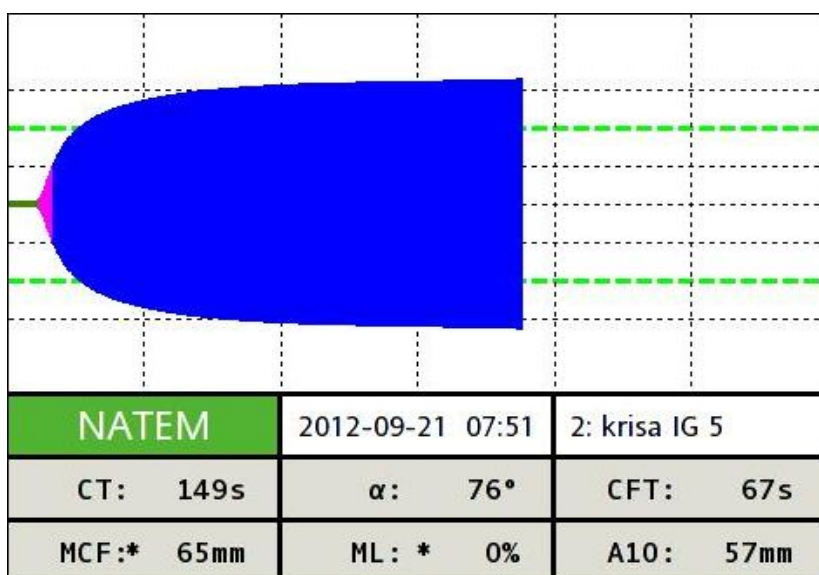


Рисунок 3.4 Тромбоэластограмма (опытная группа, животное №5), зарегистрированная сразу по достижении ректальной температуры +27... +30 °С под действием однократной иммерсионной гипотермии

Таким образом, достижение ректальной температуры +27... +30 °С сопровождалось тромбоцитозом и активацией их агрегационной функции. Лабораторные показатели, характеризующие начальные этапы плазменного гемостаза, а также внешний и внутренний пути активации, не изменялись при такой интенсивности гипотермического воздействия. В тоже время на конечном этапе свертывания регистрировалась выраженная тромбинемия, что подтверждалось значительным увеличением концентрации РФМК и уменьшением времени их самосборки. Кроме того, наблюдалось угнетение фибринолитической активности плазмы на фоне снижения концентрации антитромбина III.

3.1.3. Состояние системы гемостаза у крыс по достижении ими глубокой степени гипотермии под действием однократного иммерсионного переохлаждения

Результаты исследования показателей системы гемостаза у крыс по достижении ректальной температуры +20... +23 °С при действии однократной водно-иммерсионной гипотермии представлены в таблице 3.3.

Таблица 3.3

Показатели системы гемостаза у крыс по достижении ректальной температуры +23... +20 °С под действием однократной иммерсионной гипотермии

Параметр	Контроль (n= 10)	Опыт (n= 23)	p
Количество тромбоцитов, 10 ⁹ /л	529,5 [505,5÷562,0]	572,0 [552,5÷638,0]	> 0,05
Агрегация, отн.ед	5,6 [2,9÷13,5]	47,7 [31,6÷72,7]	< 0,05
Силиконовое время, с	136,0 [108,7÷163,0]	137,0 [109,0÷157,5]	> 0,05
АПТВ, с	11,2 [10,5÷11,3]	19,0 [17,3÷23,5]	<0,001

Продолжение таблицы 3.3

Протромбиновое время, с	23,2 [21,9÷24,3]	27,1 [24,7÷28]	< 0,05
РФМК, мг/ 100 мл	3,0 [3,0÷3,0]	4,5 [4,0÷4,6]	< 0,05
Фибриноген, г/л	2,1 [2,1÷2,2]	2,4 [2,1÷2,7]	> 0,05
ВПФМ, г	1,9 [1,9÷2,1]	1,7 [1,5÷1,8]	> 0,05
АТ III, %	118,0 [118,0÷118,0]	90,9 [79,2÷126,3]	> 0,05
Эуглобулиновый фибринолиз, мин	447,0 [360,0÷558,0]	1248,0 [560÷1286,5]	<0,01
СТ, с	206,0 [161,0 ÷ 231,0]	246,0 [213,2 ÷ 264,5]	< 0,05
СFT, с	72,0 [58,2 ÷ 85,0]	72,0 [63,0 ÷ 117,0]	> 0,05
ML, %	15,0 [11,0 ÷ 22,0]	0,0 [0,0 ÷ 0,0]	< 0,05

Примечание: данные представлены в виде Me – медиана выборки; [25÷75] – процентиля выборки; n – число наблюдений; p – уровень статистической значимости различий сравниваемых показателей. АПТВ - активированное парциальное тромбoplastиновое время; РФМК - растворимые фибрин-мономерные комплексы; ВПФМ, г - время полимеризации растворимых фибрин-мономерных комплексов; АТ III - антитромбин III; СТ – время коагуляции; СFT – время образования сгустка; ML – максимальный лизис.

Как следует из результатов, приведенных в таблице, количество тромбоцитов под воздействием гипотермии не изменялось, при этом агрегационная способность кровяных пластинок в экспериментальной группе животных в 5,7 раз превышала данный показатель контрольной группы ($p < 0,05$).

Анализ результатов измерения АПТВ выявлял удлинение данного показателя в 2 раза ($p < 0,001$), а протромбинового времени - удлинение по сравнению с контрольной группой на 16% ($p < 0,05$). Данные изменения говорят о развитии гипокоагуляционного сдвига на внешнем и внутреннем путях свертывания. Выявленный гипокоагуляционный сдвиг подтверждался данными тромбоэластографии, что характеризовалось увеличением времени коагуляции на 20% ($p < 0,05$).

В то же время, результаты, приведенные в таблице, свидетельствуют о том, что содержание фибриногена в экспериментальной группе не изменялось. При этом следует отметить, что уровень фибрин-мономерных комплексов в плазме крови у животных, подвергшихся холодовому воздействию, возрастал на 50% ($p < 0,05$) при неизменности времени их самосборки.

Исследование фибринолитической активности плазмы крови в экспериментальной группе выявляло угнетение фибринолиза, что выражалось в значительном удлинении (в 2,1 раза) анализируемого показателя ($p < 0,01$) по сравнению с контрольной группой. Это подтверждалось данным тромбозластографии. Так, в крови опытных животных показатель максимального лизиса был равен нулю. Концентрация антитромбина III не изменялась.

В качестве примера представлены тромбозластограммы, полученные у животных из контрольной (рис. 3.5) и опытной (рис. 3.6) групп.

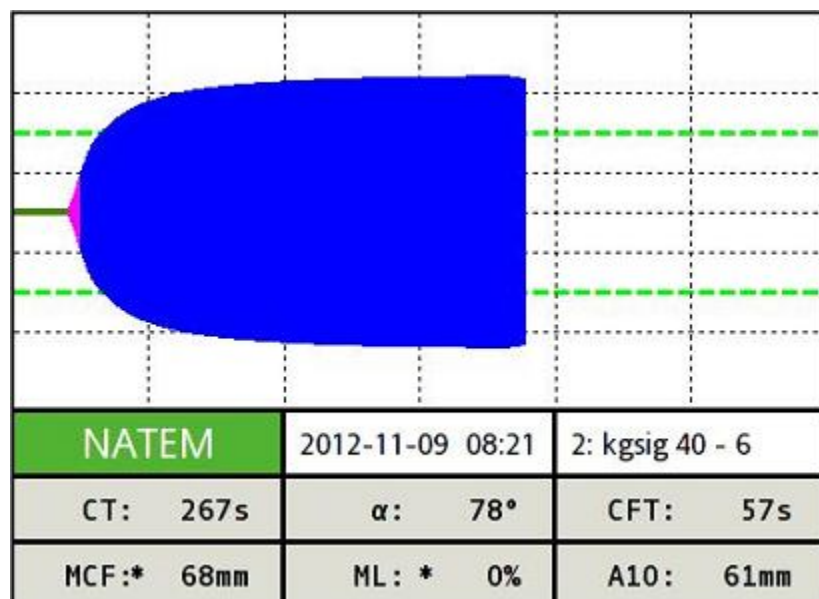


Рисунок 3.5 Тромбозластограмма (контрольная группа, животное №6), зарегистрированная сразу по завершении однократной экспозиции при температуре +30°C в течение 40 минут

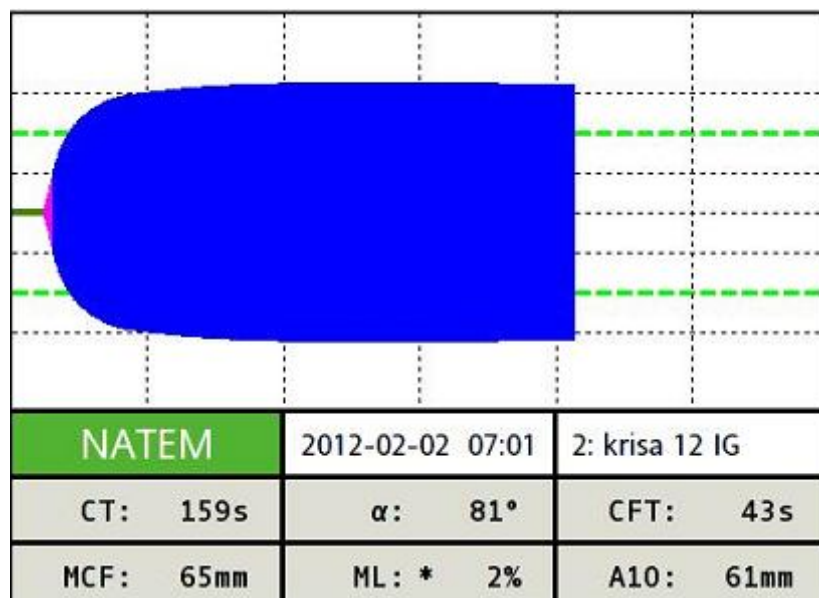


Рисунок 3.6 Тромбоэластограмма (опытная группа, животное №12), зарегистрированная сразу по достижении ректальной температуры +20... +23°C под действием однократной иммерсионной гипотермии

Таким образом, достижение ректальной температуры +20... +23 °С сопровождалось увеличением агрегационной способности тромбоцитов при неизменности их количества. Кроме того, наблюдался гипокоагуляционный сдвиг на внешнем и внутреннем путях активации гемокоагуляции. При этом еще регистрировались остаточные признаки тромбинемии и выраженное угнетение фибринолитической активности плазмы крови экспериментальных животных.

3.1.4. Состояние системы гемостаза у крыс по достижении ими сверхглубокой степени гипотермии под действием однократного иммерсионного переохлаждения

Результаты исследования показателей системы гемостаза у крыс по достижении ректальной температуры +10... +16 °С при действии однократной водно-иммерсионной гипотермии представлены в таблице 3.4.

Показатели системы гемостаза у крыс по достижении ректальной температуры +10... +16 °С под действием однократной иммерсионной гипотермии

Параметр	Контроль (n= 10)	Опыт (n= 13)	p
Количество тромбоцитов, 10 ⁹ / л	529,5 [505,5÷562,0]	643,0 [596,0÷691,0]	< 0,05
Агрегация, отн.ед	5,6 [2,9÷13,5]	4,5 [2,5÷7,5]	> 0,05
Силиконовое время, с	136,0 [108,7÷163,0]	150,5 [120,7÷180,7]	> 0,05
АПТВ, с	11,2 [10,5÷11,3]	20,7 [18,5÷21]	< 0,05
Протромбиновое время, с	23,2 [21,9÷24,3]	26,8 [25,6÷29,1]	< 0,05
РФМК, мг/ 100 мл	3,0 [3,0÷3,0]	3,0 [3,0÷4,2]	> 0,05
Фибриноген, г/л	2,1 [2,1÷2,2]	2,8 [2,4÷3,4]	< 0,01
ВПФМ, г	1,9 [1,9÷2,1]	2,0 [1,8÷2,7]	> 0,05
АТ III, %	118,0 [118,0÷118,0]	77,2 [72,3÷78,7]	< 0,01
Эуглобулиновый фибринолиз, мин	447,0 [360,0÷558,0]	1689,0 [1689,0÷1734,0]	< 0,05
СТ, с	206,0 [161,0 ÷ 231,0]	286,0 [233,2 ÷ 343,0]	< 0,05
СФТ, с	72,0 [58,2 ÷ 85,0]	84,0 [70,0 ÷ 95,0]	> 0,05
ML, %	15,0 [11,0 ÷ 22,0]	2,0 [0,0 ÷ 4,0]	< 0,05

Примечание: данные представлены в виде Me – медиана выборки; [25÷75] – процентиля выборки; n – число наблюдений; p – уровень статистической значимости различий сравниваемых показателей. АПТВ - активированное парциальное тромбопластиновое время; РФМК - растворимые фибрин-мономерные комплексы; ВПФМ, г - время полимеризации растворимых фибрин-мономерных комплексов; АТ III - антитромбин III; СТ – время коагуляции; СФТ – время образования сгустка; ML – максимальный лизис.

Полученные результаты свидетельствовали об увеличении после холодового воздействия числа тромбоцитов на 16% (p<0,05), при неизменности их агрегационной активности.

Коагуляционный гемостаз на достижение данного уровня ректальной температуры отреагировал гипокоагуляционным сдвигом по внутреннему и внешнему путям активации. Так, показатели АПТВ и протромбинового времени удлинились на 80% и 16% соответственно ($p < 0,05$). Также развитие гипокоагуляции подтверждается увеличением времени коагуляции, по данным тромбоэластографии, на 38% ($p < 0,05$). При анализе данных, характеризующих конечный этап свертывания, было выявлено увеличение содержания фибриногена на 30% ($p < 0,05$).

Кроме того, наблюдалось снижение активности антикоагулянтной и фибринолитической систем плазмы крови, что проявлялось в снижении уровня антитромбина III в 1,6 раза и удлинении времени спонтанного лизиса эуглобулинов в 3,4 раза ($p < 0,01$ и $p < 0,05$). Угнетение активности фибринолитической системы регистрировалось и по данным тромбоэластографии. Так, показатель максимального лизиса в крови животных опытной группы был в 7 раз меньше контрольного показателя ($p < 0,05$).

В качестве примера представлены тромбоэластограммы, полученные у животных из контрольной (рис. 3.7) и опытной (рис. 3.8) групп.

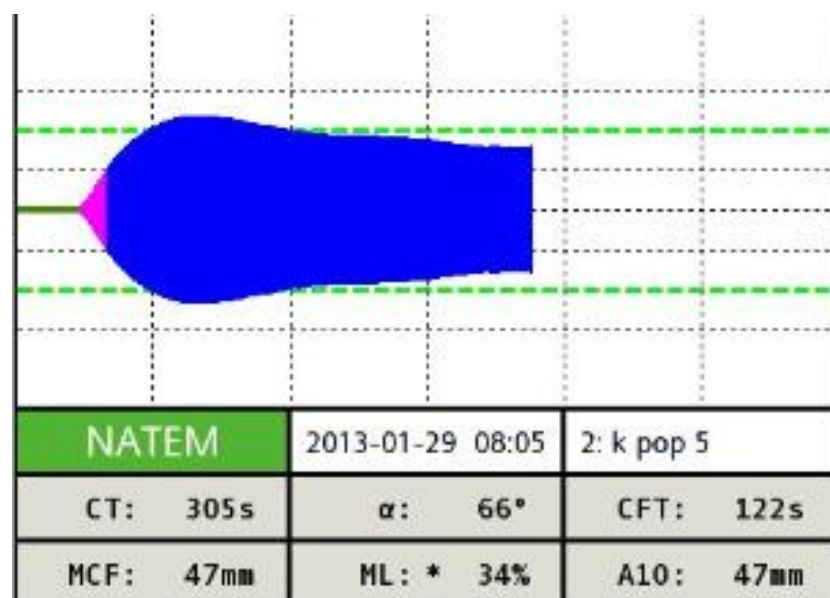


Рисунок 3.7 Тромбоэластограмма (контрольная группа, животное №5), зарегистрированная сразу по завершении однократной экспозиции при температуре +30 °С в течение 55 мин

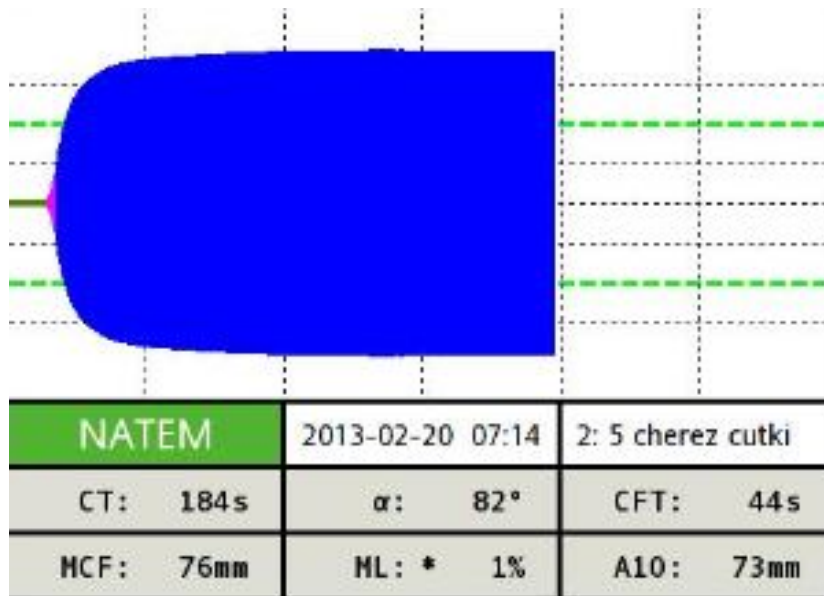


Рисунок 3.8 Тромбоэластограмма (опытная группа, животное №5), зарегистрированная сразу по достижении ректальной температуры +10... +16 °С под действием однократной иммерсионной гипотермии

Таким образом, достижение опытными животными критического уровня ректальной температуры сопровождалось значительными изменениями в системе гемостаза. Это проявлялось в увеличении числа тромбоцитов, а также в развитии гипокоагуляционных сдвигов на внутреннем и внешнем путях свертывания на фоне повышения концентрации фибриногена. Кроме того, регистрировалось снижение концентрации антитромбина III и выраженное угнетение фибринолитической активности плазмы крови экспериментальных животных.

3.1.5. Состояние системы гемостаза у крыс через сутки после однократного иммерсионного переохлаждения по достижении ими глубокой степени гипотермии

Результаты исследования показателей системы гемостаза у крыс по истечении 24 часов по достижении ректальной температуры +20... +23 °С при действии однократной иммерсионной гипотермии представлены в таблице 3.5.

Показатели системы гемостаза у крыс через сутки после однократной иммерсионной гипотермии по достижении ректальной температуры +20... +23 °С

Параметр	Контроль (n=10)	Опыт (n=10)	p
Количество тромбоцитов, 10 ⁹ /л	504,0 [497,0÷558,5]	534,5 [519,0÷563,5]	> 0,05
Агрегация, отн.ед	16,4 [12,8÷29,9]	22,7 [9,1÷25,2]	> 0,05
Силиконовое время, с	240,0 [209,0÷252,5]	235,0 [217,7÷252,5]	>0,01
АПТВ, с	15,3[14,9÷18,3]	26,5[25,6÷27,2]	< 0,005
Протромбиновое время, с	23,9 [21,7÷25,5]	31,0 [27,9÷33,1]	< 0,05
РФМК, мг/ 100 мл	3,0 [3,0÷3,0]	3,0 [3,0÷3,0]	> 0,05
Фибриноген, г/л	2,2 [2,0÷2,5]	2,0 [1,9÷2,1]	> 0,05
ВПФМ, г	2,3 [2,3÷2,3]	1,9 [1,7÷2,2]	> 0,05
АТ III, %	110,0 [103,6÷117,0]	101,9 [94,2÷103,3]	> 0,05
Эуглобулиновый фибринолиз, мин	340,0 [300,0÷415,0]	231,0 [230,0÷273,0]	> 0,05
СТ, с	227,5 [221,2÷237,5]	275,0 [250,0÷297,0]	< 0,05
СФТ, с	72,5 [60,5÷81,5]	81,0 [71,0÷93,0]	> 0,05
ML, %	27,5 [17,2÷47]	34,0 [27,0÷55,0]	> 0,05

Примечание: данные представлены в виде Me – медиана выборки; [25÷75] – процентиля выборки; n – число наблюдений; p – уровень статистической значимости различий сравниваемых показателей. АПТВ - активированное парциальное тромбопластиновое время; РФМК - растворимые фибрин-мономерные комплексы; ВПФМ, г - время полимеризации растворимых фибрин-мономерных комплексов; АТ III - антитромбин III; СТ – время коагуляции; СФТ – время образования сгустка; ML – максимальный лизис.

Как следует из представленных в таблице результатов, через сутки после опытного воздействия изменений в состоянии компонентов сосудисто-тромбоцитарного гемостаза выявлено не было. Показатели, характеризующие

внешний и внутренний пути активации свертывания, демонстрировали гипокоагуляционные изменения. Так, протромбиновое время и АПТВ соответственно удлинялись на 38% и 62% ($p > 0,05$). Показатель времени свертывания по результатам тромбоэластограммы также увеличивался на 20% ($p > 0,05$), подтверждая наличие гипокоагуляционного сдвига.

Показатели, характеризующие конечный этап свертывания, по истечении суток не отличались от контрольных величин. Изменений со стороны антикоагулянтной и фибринолитической систем также зафиксировано не было.

В качестве примера представлены тромбоэластограммы, полученные у животных из контрольной (рис. 3.9) и опытной (рис. 3.10) групп.

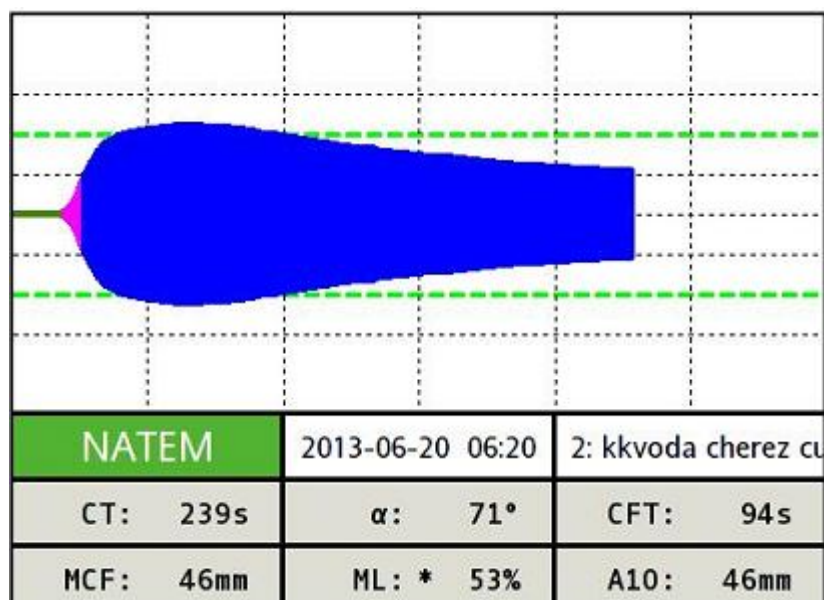


Рисунок 3.9 Тромбоэластограмма (контрольная группа, животное №7), зарегистрированная через сутки по завершении однократной экспозиции при температуре +30 °С в течение 40 минут

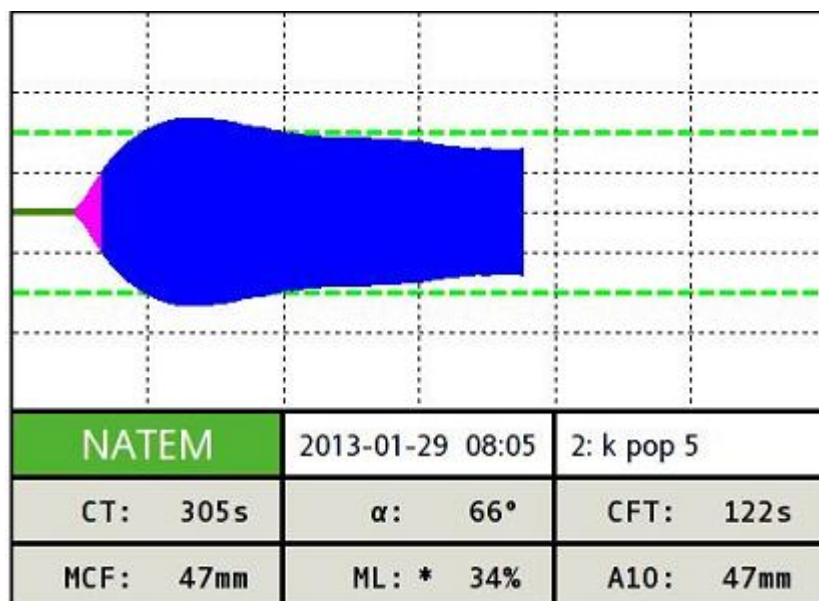


Рисунок 3.10. Тромбоэластограмма (опытная группа, животное №5), зарегистрированная через сутки по достижении ректальной температуры +20...+23 °С под действием однократной иммерсионной гипотермии

Таким образом, через сутки после однократного иммерсионного переохлаждения и достижения животными глубокой степени гипотермии в кровотоке не наблюдалось изменений в состоянии сосудисто-тромбоцитарного гемостаза и конечного этапа свертывания. Регистрировался лишь определенный гипокоагуляционный сдвиг на внешнем и внутреннем этапе гемокоагуляции. Со стороны фибринолитической и антикоагулянтной систем изменений зарегистрировано не было.

3.1.6. Состояние системы гемостаза у крыс через сутки после однократного иммерсионного переохлаждения до достижения ими сверхглубокой степени гипотермии

Результаты исследования показателей системы гемостаза у крыс по истечении 24 часов после охлаждения до достижения ректальной температуры +10... +16 °С (сверхглубокая степень переохлаждения) при действии однократной иммерсионной гипотермии, представлены в таблице 3.6

Таблица 3.6

Показатели системы гемостаза у крыс через сутки после однократной иммерсионной гипотермии по достижении ректальной температуры +10... +16 °С

Параметр	Контроль (n= 10)	Опыт (n= 10)	p
Количество тромбоцитов, 10 ⁹ /л	504,0 [497,0÷558,5]	447,0 [428,0÷482,0]	< 0,05
Агрегация, отн. ед	16,4 [12,8÷29,9]	24,9 [22,7÷26,9]	< 0,005
Силиконовое время, с	240,0 [209,0÷252,5]	234,0 [193,0÷262,0]	> 0,05
АПТВ, с	15,3 [14,9÷18,3]	24,3 [23,5÷26,0]	< 0,005
Протромбиновое время, с	23,9 [21,7÷25,5]	29,0 [25,0÷30,3]	< 0,05
РФМК, мг/ 100 мл	3,0 [3,0÷3,0]	5,5 [4,5÷6,0]	< 0,05
Фибриноген, г/л	2,2 [2,0÷2,5]	3,1 [2,4÷3,3]	< 0,05
ВПФМ, г	2,3 [2,3÷2,3]	2,5 [2,1÷2,9]	> 0,05
АТ III, %	110,0 [103,6÷117,0]	108,9 [97,6÷128,0]	> 0,05
Эуглобулиновый фибринолиз, мин	340,0 [300,0÷415,0]	231,0 [230,5÷284]	> 0,05
СТ, с	227,5 [221,2÷237,5]	262,0 [233,0÷281,0]	< 0,05
СФТ, с	72,5 [60,5÷81,5]	55,0 [36,0÷66,5]	< 0,05
ML, %	27,5 [17,2÷47]	22,0 [14,5÷42,5]	> 0,05

Примечание: данные представлены в виде Me – медиана выборки; [25÷75] – процентиля выборки; n – число наблюдений; p – уровень статистической значимости различий сравниваемых показателей. АПТВ - активированное парциальное тромбопластиновое время; РФМК - растворимые фибрин-мономерные комплексы; ВПФМ, г - время полимеризации растворимых фибрин-мономерных комплексов; АТ III - антитромбин III; СТ – время коагуляции; СФТ – время образования сгустка; ML – максимальный лизис.

Приведенные в таблице данные свидетельствуют о том, что через сутки у животных, подвергшихся иммерсионной гипотермии и достигших в ходе неё

ректальной температуры +10... +16 °С, со стороны сосудисто-тромбоцитарного гемостаза регистрировалось снижение количества тромбоцитов на 13% при увеличении их агрегационной активности на 40% ($p < 0,005$).

Со стороны начальных этапов активации плазменного гемостаза наблюдалось смещение гемостатического потенциала в сторону гипокоагуляции. Так, показатель АПТВ, характеризующий внутренний этап активации, увеличивался на 42% ($p < 0,005$). Также регистрировалось удлинение протромбинового времени свертывания, характеризующего внешней путь активации гемокоагуляции, на 31% ($p < 0,05$). Гипокоагуляция подтверждалась и изменением показателя СТ. Так, в группе экспериментальных животных он увеличивался на 15% ($p < 0,05$).

В то же время, через сутки после воздействия в крови опытных животных регистрировался уровень РФМК, превосходящий контрольные значения на 56% ($p < 0,05$). Также возрастала концентрация фибриногена на 45% ($p < 0,05$). Кроме того, по данным тромбоэластографии регистрировалось уменьшение времени образования сгустка на 24% ($p < 0,05$), что свидетельствовало о смещении гемостатического потенциала плазмы крови в сторону гиперкоагуляции.

Активность антикоагулянтной и фибринолитической систем через сутки после экспериментального воздействия не изменялась.

В качестве примера представлены тромбоэластограммы, полученные у животных из контрольной (рис. 3.11) и опытной (рис. 3.12) групп.

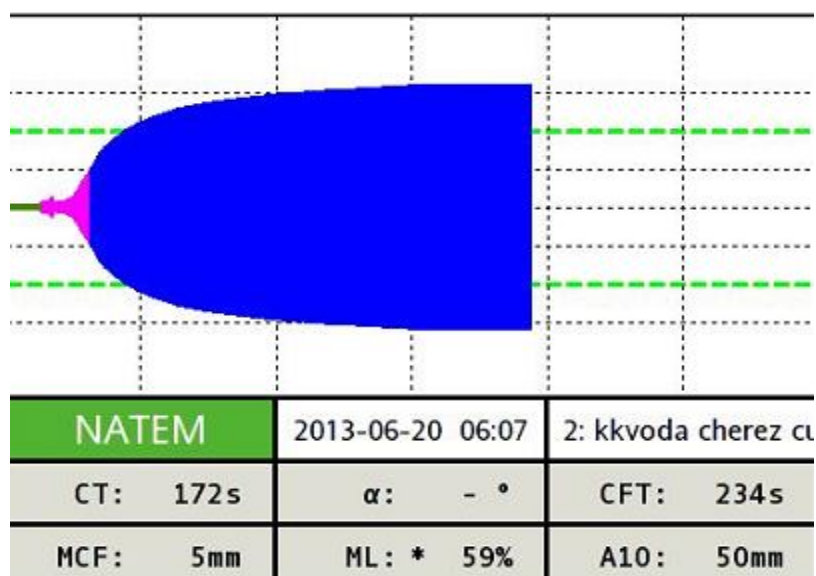


Рисунок 3.11 Тромбоэластограмма (контрольная группа, животное №10), зарегистрированная через сутки по завершении однократной экспозиции при температуре + 30°C в течение 40 минут

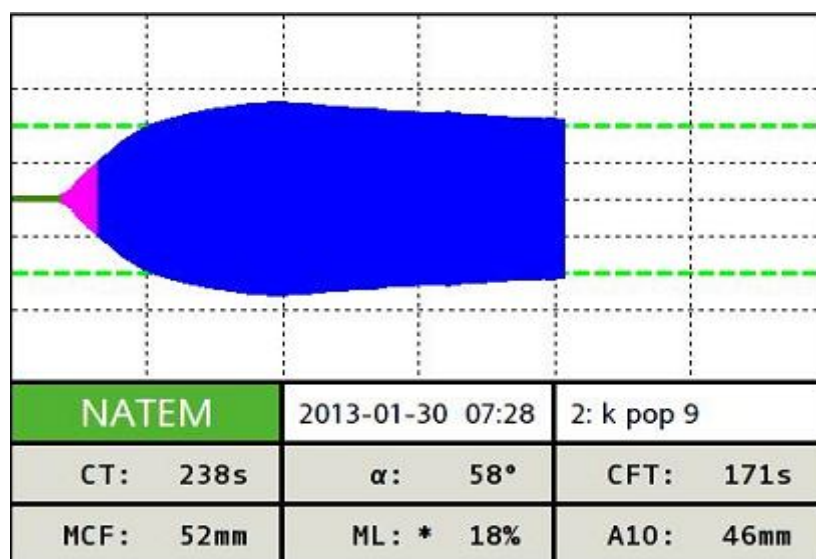


Рисунок 3.12 Тромбоэластограмма (опытная группа, животное №9), зарегистрированная через сутки по достижении ректальной температуры +10... +16 °С под действием однократной иммерсионной гипотермии

Таким образом, через сутки после охлаждения крыс до достижения ректальной температуры +10... +16 °С в кровотоке животных регистрировалось снижение концентрации тромбоцитов при увеличении их агрегационной способности. Наблюдалось развитие гипокоагуляционного сдвига на внешнем и

внутреннем этапах гемокоагуляции на фоне повышения концентрации фибриногена и появлении в кровотоке РФМК.

3.1.7. Сравнение состояния системы гемостаза у крыс сразу и через сутки после однократной иммерсионной гипотермии

По данным литературы, основные гемостазиологические нарушения, вызванные общим переохлаждением, проявляются не сразу по окончании гипотермического воздействия, а манифестируют в постгипотермическом периоде [33, 34, 53, 58]. Для выявления отставленного влияния гипотермии на систему гемостаза нами было проведено 2 серии экспериментов, в которых охлаждение достигало глубокой и сверхглубокой степеней. Оценка состояния системы гемостаза в обеих сериях экспериментов осуществлялась через сутки после окончания гипотермического воздействия.

3.1.7.1. Сравнение состояния системы гемостаза у крыс под действием однократной иммерсионной гипотермии сразу и через сутки после достижения ими умеренной степени гипотермии

В данном разделе представлен анализ изменений в системе гемостаза, зарегистрированных у животных при достижении ими ректальной температуры +20... +23 °С сразу (раздел 3.1.3) и через сутки (раздел 3.1.6) после прекращения холодного воздействия (табл. 3.7).

Сравнительный анализ результатов показал, что сразу по окончании однократного холодного воздействия наблюдалось значимое повышение агрегационной активности тромбоцитов. Через сутки после опытного воздействия агрегационная активность тромбоцитов приходила в норму и не отличалась от значений в контрольной группе. Аналогичные изменения наблюдались и при оценке концентрации РФМК. Так, сразу после извлечения животных из холодной воды наблюдалось появление в крови маркеров тромбинемии. По истечении же суток данный показатель уже не отличался от показателей контрольной группы.

Анализ активности фибринолитической системы также демонстрировал стабилизацию этого параметра по истечении суток. Так, сразу после извлечения экспериментальных животных из камеры наблюдалось угнетение активности фибринолитической системы как по данным теста спонтанного лизиса эуглобулинов, так и при анализе показателя ML тромбоэластограммы, характеризующего процент лизиса сгустка. Через сутки после прекращения экспериментального воздействия фибринолитическая активность возвращалась к нормальному уровню.

В то же время, гипокоагуляция, регистрируемая по показателям АПТВ и ПВ сразу по достижении ректальной температуры искомой величины, сохранялась и через сутки после прекращения холодого воздействия.

Таким образом, по истечении суток после прекращения холодого воздействия большинство показателей системы гемостаза, отклонившихся от нормального уровня сразу по завершении эксперимента, нормализовалось. Отставленный эффект гипотермии при данном режиме холодого воздействия проявлялся лишь гипокоагуляционными сдвигами на начальных этапах свертывания.

Таблица 3.7

Результаты исследования показателей системы гемостаза у крыс после достижения ректальной температуры +20... +23 °С сразу и по истечении 24 часов

Параметр	Контроль ₁ * (n= 10)	Опыт ₁ * (n= 10)	Контроль ₂ * (n= 10)	Опыт ₂ * (n= 23)	p
Количество тромбоцитов, 10 ⁹ /л	529,5 [505,5÷562,0]	572,0 [552,5÷638,0]	504,0 [497,0÷558,5]	534,5 [519,0÷563,5]	p ₁₋₂ >0,05 p ₃₋₄ >0,05
Агрегация, отн.ед	5,6 [2,9÷13,5]	47,7 [31,6÷72,7] (Δ+851%)	16,4 [12,8÷29,9]	22,7 [9,1÷25,2]	p ₁₋₂ <0,05 p ₃₋₄ >0,05
Силиконовое время, с	136,0 [108,7÷163,0]	137,0 [109,0÷157,5]	240,0 [209,0÷252,5]	235,0 [217,7÷252,5]	p ₁₋₂ >0,05 p ₃₋₄ >0,05
АПТВ, с	11,2 [10,5÷11,3]	19,0 [17,3÷23,5] (Δ+172%)	15,3 [14,9÷18,3]	26,5 [25,6÷27,2] (Δ+62%)	p ₁₋₂ <0,05 p ₃₋₄ <0,05
Протромбиновое время, с	23,2 [21,9÷24,3]	27,1 [24,7÷28] (Δ+16%)	23,9 [21,7÷25,5]	31,0 [27,9÷33,1] (Δ+38%)	p ₁₋₂ >0,05 p ₃₋₄ <0,05
РФМК, мг/ 100 мл	3,0 [3,0÷3,0]	3,0 [3,0÷4,45] (Δ+50%)	3,0 [3,0÷3,0]	3,0 [3,0÷3,0]	p ₁₋₂ <0,05 p ₃₋₄ >0,05
Фибриноген, г/л	2,1 [2,1÷2,2]	2,4 [2,1÷2,7]	2,2 [2,0÷2,5]	2,0 [1,9÷2,1]	p ₁₋₂ >0,05 p ₃₋₄ >0,05
ВПФМ, г	1,9 [1,9÷2,1]	1,7 [1,5÷1,8]	2,3 [2,3÷2,3]	1,9 [1,7÷2,2]	p ₁₋₂ >0,05 p ₃₋₄ >0,05
АТ III, %	118,0 [118,0÷118,0]	90,9 [79,2÷126,3]	110,0 [103,6÷117,0]	101,9 [94,2÷103,3]	p ₁₋₂ >0,05 p ₃₋₄ >0,05

Продолжение таблицы 3.7

Эуглобулиновый фибринолиз, мин	447,0 [360,0÷558,0]	1248,0 [560÷1286,5] ($\Delta+279\%$)	340,0 [300,0÷415,0]	231,0 [230,0÷273,0]	$p_{1-2}<0,05$ $p_{3-4}>0,05$
СТ, с	206,0 [161,0 ÷ 231,0]	246,0 [213,2 ÷ 264,5] ($\Delta+20\%$)	227,5 [221,2÷237,5]	275,0 [250,0÷297,0] ($\Delta+20\%$)	$p_{1-2}<0,05$ $p_{3-4}<0,05$
CFT, с	72,0 [58,2 ÷ 85,0]	72,0 [63,0 ÷ 117,0]	72,5 [60,5÷81,5]	81,0 [71,0÷93,0]	$p_{1-2}>0,05$ $p_{3-4}>0,05$
ML, %	15,0 [11,0 ÷ 22,0]	0,0 [0,0 ÷ 0,0] ($\Delta-100\%$)	27,5 [17,2÷47]	34,0 [27,0÷55,0]	$p_{1-2}<0,05$ $p_{3-4}>0,05$

Примечание: данные представлены в виде Me – медиана выборки; [25÷75] – процентиля выборки; n – число наблюдений; p – уровень статистической значимости различий сравниваемых показателей. 1^* -кровь животных сразу после извлечения из камеры, 2^* - кровь животных через 24 часа после извлечения из камеры; АПТВ - активированное парциальное тромбопластиновое время; РФМК - растворимые фибрин-мономерные комплексы; ВПФМ, г - время полимеризации растворимых фибрин-мономерных комплексов; АТ III - антитромбин III; СТ – время коагуляции; CFT – время образования сгустка; ML – максимальный лизис.

3.1.7.2. Сравнение состояния системы гемостаза у крыс под действием однократной иммерсионной гипотермии сразу и через сутки после достижения ими сверхглубокой степени гипотермии

В данном разделе представлен анализ изменений в системе гемостаза, полученных у животных сразу по достижении (раздел 3.1.4) ректальной температуры +10... +16 °С сразу и через сутки (3.1.6) после прекращения холодого воздействия (табл. 3.8).

При анализе острого влияния гипотермии сразу по завершении воздействия наблюдалось повышение числа тромбоцитов при неизменности их агрегационных свойств, тогда как через сутки после прекращения опытного воздействия количество кровяных пластинок снижалось, а их агрегационная активность значительно возрастала.

В то же время, сразу по достижении ректальной температуры заданного уровня и через сутки после опытного воздействия однонаправленные изменения регистрировались как на внутреннем этапе гемокоагуляции, так и на внешнем (сохранялась тенденция к удлинению АПТВ и протромбинового времени). Лабораторные показатели подтверждаются и данными тромбоэластограммы. Показатель СТ возрастал как в группе острого воздействия, так и в группе при оценке отставленного влияния гипотермии.

Через сутки после прекращения опытного воздействия в кровотоке животных впервые регистрировались РФМК, отсутствовавшие на момент окончания общего переохлаждения. Возросший уровень фибриногена регистрировался как сразу после прекращения гипотермии, так и по истечении суток.

Сразу по завершении действия гипотермии регистрировалось снижение концентрации антитромбина III, тогда как через сутки его уровень приходил в норму и не отличался от показателей контрольной группы. Аналогичные изменения наблюдались и в активности фибринолитической системы. Так, острое воздействие приводило к выраженному угнетению активности системы

фибринолиза, в то время как по истечении суток она возвращалась к норме, что также подтверждается данными тромбозластографии. Так, показатель ML, характеризующий процент лизиса сгустка, в группе острого воздействия был достоверно ниже уровня контрольных значений, в то время как при оценке оставленного влияния гипотермии достоверных различий по данному показателю обнаружено не было.

Таким образом, сразу по завершении гипотермического воздействия обращали на себя внимание возросший уровень фибриногена, а также снижение концентрации АТ III и угнетение фибринолитической активности плазмы крови, что подтверждало развитие состояния дистресса. Через сутки после достижения экспериментальными животными критической температуры ядра в кровотоке увеличивалась концентрация фибриногена и регистрировались маркеры тромбинемии. Таким образом, через сутки после общего переохлаждения сохранялся риск развития состояния тромботической готовности и усиливалось состояние дистресса.

Результаты исследования показателей системы гемостаза у крыс сразу после достижения ректальной температуры +10... +16 °С и по истечении 24 часов

Параметр	Контроль ₁ (n= 10)	Опыт ₁ (n= 10)	Контроль ₂ (n= 10)	Опыт ₂ (n= 10)	p
Количество тромбоцитов, 10 ⁹ / л	529,5 [505,5÷562,0]	643,0 [596,0÷691,0] (Δ+16%)	504,0 [497,0÷558,5]	447,0 [428,0÷482,0] (Δ-13%)	p ₁₋₂ <0,05 p ₃₋₄ <0,05
Агрегация, отн.ед	5,6 [2,9÷13,5]	4,5 [2,5÷7,5]	16,4 [12,8÷29,9]	24,9 [22,7÷26,9] (Δ+40%)	p ₁₋₂ >0,05 p ₃₋₄ <0,05
Силиконовое время, с	136,0 [108,7÷163,0]	150,5 [120,7÷180,7]	240,0 [209,0÷252,5]	234,0 [193,0÷262,0]	p ₁₋₂ >0,05 p ₃₋₄ >0,05
АПТВ, с	11,2 [10,5÷11,3]	20,7 [18,5÷21] (Δ+80%)	15,3 [14,9÷18,3]	24,3 [23,5÷26,0] (Δ+42%)	p ₁₋₂ <0,05 p ₃₋₄ <0,05
Протромбиновое время, с	23,2 [21,9÷24,3]	26,8 [25,6÷29,1] (Δ+16%)	23,9 [21,7÷25,5]	29,0 [25,0÷30,3] (Δ+31%)	p ₁₋₂ <0,05 p ₃₋₄ <0,05
Тромбиновое время, с	36,6 [34,5÷39,4]	46,1 [34,6÷55,0]	41,0 [39,1÷44,1]	47,0 [44,7÷48,5]	p ₁₋₂ >0,05 p ₃₋₄ >0,05
РФМК, мг/ 100 мл	3,0 [3,0÷3,0]	3,0 [3,0÷4,2]	3,0 [3,0÷3,0]	5,5 [4,5÷6,0] (Δ+56%)	p ₁₋₂ >0,05 p ₃₋₄ <0,05
Фибриноген, г/л	2,1 [2,1÷2,2]	2,8 [2,4÷3,4] (Δ+30%)	2,2 [2,0÷2,5]	3,1 [2,4÷3,3] (Δ+45%)	p ₁₋₂ <0,05 p ₃₋₄ <0,05
ВПФМ,г	1,9 [1,9÷2,1]	2,0 [1,8÷2,7]	2,3 [2,3÷2,3]	2,5 [2,1÷2,9]	p ₁₋₂ >0,05 p ₃₋₄ >0,05
АТ III, %	118,0 [118,0÷118,0]	77,2 [72,3÷78,7] (Δ-65%)	110,0 [103,6÷117,0]	108,9 [97,6÷128,0]	p ₁₋₂ <0,05 p ₃₋₄ >0,05

Продолжение таблицы 3.8

Эуглобулиновый фибринолиз, мин	447,0 [360,0÷558,0]	1689,0 [1689,0÷1734,0] ($\Delta+377\%$)	340,0 [300,0÷415,0]	231,0 [230,5÷284]	$p_{1-2}<0,05$ $p_{3-4}>0,05$
СТ, с	206,0 [161,0 ÷ 231,0]	286,0 [233,2 ÷ 343,0] ($\Delta+38\%$)	227,5 [221,2÷237,5]	262,0 [233,0÷281,0] ($\Delta+20\%$)	$p_{1-2}<0,05$ $p_{3-4}<0,05$
CFT, с	72,0 [58,2 ÷ 85,0]	84,0 [70,0 ÷ 95,0]	72,5 [60,5÷81,5]	55,0 [36,0÷66,5]	$p_{1-2}>0,05$ $p_{3-4}>0,05$
ML, %	15,0 [11,0 ÷ 22,0]	2,0 [0,0 ÷ 4,0] ($\Delta-87\%$)	27,5 [17,2÷47]	22,0 [14,5÷42,5]	$p_{1-2}<0,05$ $p_{3-4}>0,05$

Примечание: данные представлены в виде Me – медиана выборки; [25÷75] – проценти выборки; n – число наблюдений; p – уровень статистической значимости различий сравниваемых показателей. 1^* -кровь животных сразу после извлечения из камеры, 2^* - кровь животных через 24 часа после извлечения из камеры; АПТВ - активированное парциальное тромбопластиновое время; РФМК - растворимые фибрин-мономерные комплексы; ВПФМ, t - время полимеризации растворимых фибрин-мономерных комплексов; АТ III - антитромбин III; СТ – время коагуляции; CFT – время образования сгустка; ML – максимальный лизис.

3.2. Исследование системы гемостаза при действии многократной иммерсионной гипотермии

Для выявления адаптивных эффектов со стороны системы гемостаза при многократном использовании иммерсионного охлаждения нами был выполнен следующий блок экспериментов.

Многократная водно-иммерсионная гипотермия моделировалась путем ежедневного помещения животных на 40 минут в индивидуальных клетках в воду при температуре воды +5 °С, воздуха +7 °С, в течение 30 дней.

Контролем служила кровь животных, полученная после того, как они в индивидуальных клетках ежедневно помещались на этот же отрезок времени в воду при температуре +30 °С, воздуха 25 °С, в течение 30 дней.

В первой серии экспериментов забор крови у животных обеих групп осуществлялся на 30-й день сразу после окончания экспериментального воздействия. Во вторую серию вошли животные, забор крови у которых осуществлялся на 31-й день, т.е. через сутки после окончания последнего воздействия.

Изменения в системе гемостаза оценивали по состоянию тромбоцитарного и коагуляционного гемостаза, а также состоянию антикоагулянтной и фибринолитической систем по описанным во 2 главе методикам.

3.2.1. Влияние многократной иммерсионной гипотермии на систему гемостаза у крыс сразу по истечении ежедневного охлаждения на протяжении 30 дней в водной среде

В процессе экспериментов в качестве показателей, характеризующих процесс развития долговременной адаптации, производилось измерение массы тела и ректальной температуры экспериментальных животных на протяжении месяца тренировок (рис. 3.13).

Оценка измерения массы тела животных выявляла отчетливое снижение показателя, максимальная ниша которого приходилась на 1-3 дни воздействия, т.е. на период начального этапа формирования процессов «незавершенной долговременной адаптации» [4]. С 3-го по 10-й экспериментальный день наблюдалось увеличение массы тела, что привело к исчезновению достоверных отличий от исходной величины. Однако, начиная с 10-го дня вновь регистрировалось последовательное снижение массы тела. Последовательное снижением массы тела привело к статистически значимому снижению показателя к 30-му дню эксперимента. Данный факт можно расценить как проявление срыва адаптации при многократном воздействии раздражителя чрезмерной силы.

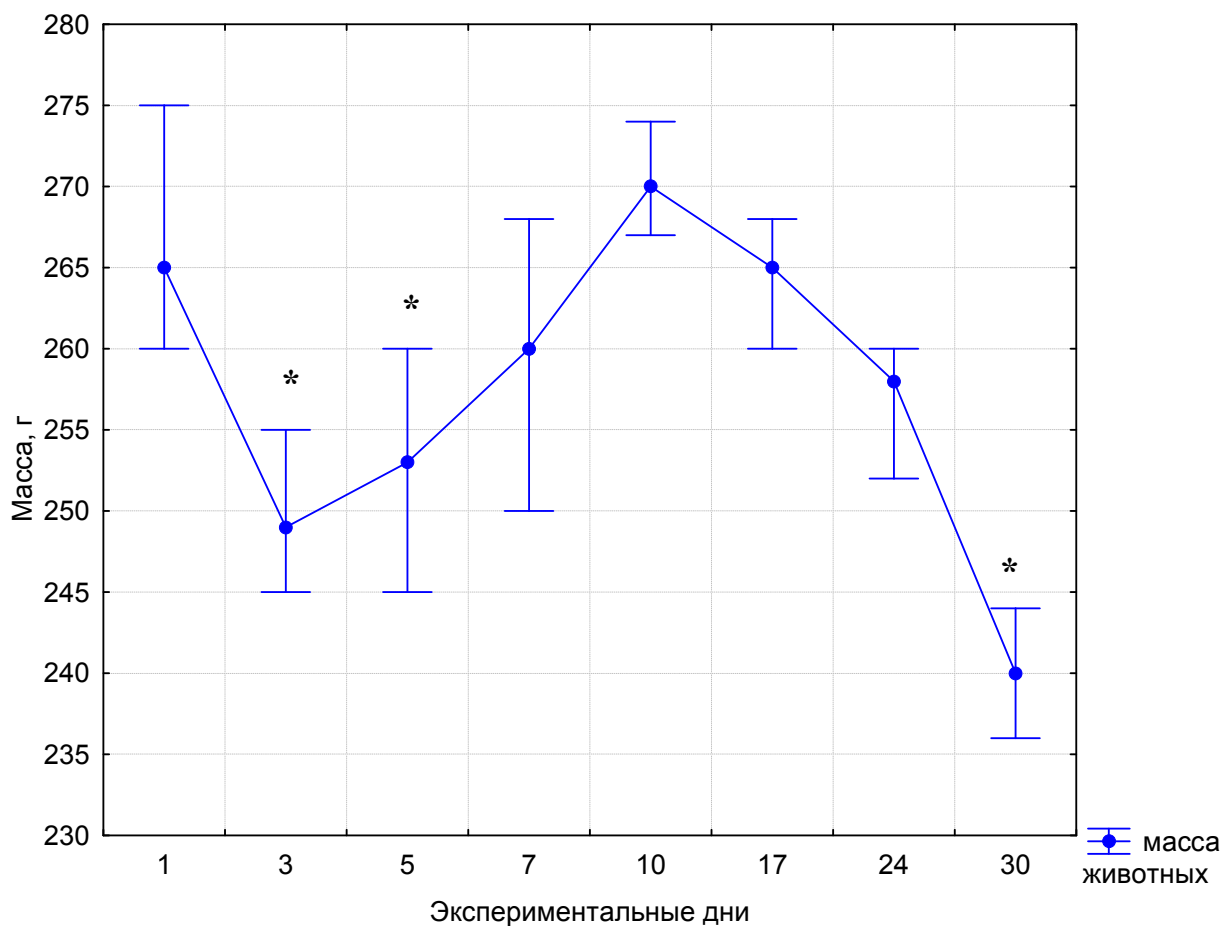


Рисунок 3.13 Динамика массы тела крыс в ходе 30-дневного цикла ежедневных охлаждений в водной среде

Примечание: * - достоверность отличий между исходной массой тела крыс и зарегистрированной в процессе 30-дневного иммерсионного гипотермического воздействия.

Кроме того, в ходе всего экспериментального воздействия нами регистрировалась ректальная температура до и после завершения охлаждения (рис. 3.14).

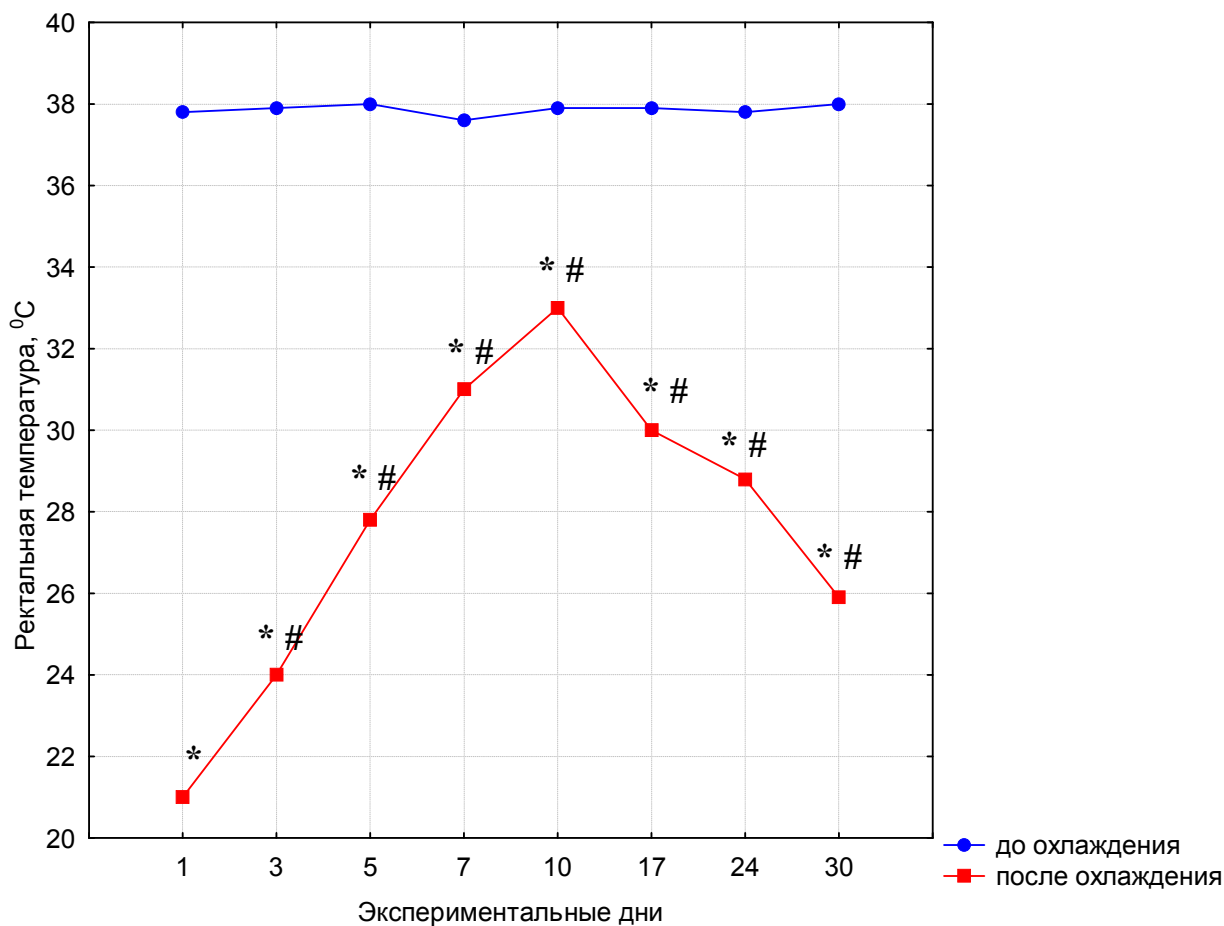


Рисунок 3.14 Динамика ректальной температуры до и после охлаждения при ежедневном 30-дневном холодовом иммерсионном воздействии у крыс

Примечание: * - достоверность отличий до и после охлаждения; # - достоверность отличий между ректальной температурой, достигнутой в 1-й и последующие дни эксперимента.

Так, из рисунка видно, что охлаждение в первый экспериментальный день сопровождалось снижением ректальной температуры на $16,8 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$ до абсолютной величины $21,4 \pm 0,3^{\circ}\text{C}$. На 3-й экспериментальный день также наблюдалось значительное снижение ректальной температуры в ходе 40-минутного охлаждения, что приводило к снижению температуры ядра до $24,2 \pm 2,1^{\circ}\text{C}$. На 5-й экспериментальный день ректальная температура у животных

снижалась менее выражено и достигала $27,8 \pm 0,4^{\circ}\text{C}$. На 7-й и 10-й день наблюдалось менее значимое падение ректальной температуры, и ее величина достигала $31,0 \pm 1,2^{\circ}\text{C}$ и $33,0 \pm 0,8^{\circ}\text{C}$ соответственно. Однако, начиная с 10-го дня, мы регистрировали достоверное увеличение степени снижения ректальной температуры (нарастание гипотермического состояния) у опытных животных. В последующие дни тенденция, выявленная на 10-й день эксперимента, усугублялась. Это проявлялось в увеличении снижения ректальной температуры до $30,2 \pm 0,3^{\circ}\text{C}$ на 17-й день воздействия и $28,8 \pm 0,3^{\circ}\text{C}$ - на 24-й экспериментальный день. На 30-й день после извлечения животных из воды ректальная температура составила $25,9 \pm 0,4^{\circ}\text{C}$. Утрата способности животными поддерживать температуру ядра в рамках физиологической достаточности свидетельствует также о чрезмерности холодового воздействия для возможности развития долговременной адаптации.

Таким образом, результаты исследования массы тела и ректальной температуры животных в ходе 30-дневного эксперимента позволяют предположить о срыве адаптационных процессов к иммерсионному холодovому воздействию. Отсутствие развития долговременной адаптации у экспериментальных животных, на наш взгляд, обусловлено превышением силы стрессирующего фактора, вызывающего поломку адаптивных процессов при длительном воздействии.

Результаты исследования показателей системы гемостаза у крыс сразу по завершении многократного действия водно-иммерсионной гипотермии представлены в таблице 3.8.

Показатели системы гемостаза у крыс сразу по завершении 30-дневного 40-минутного холодого воздействия водой

Параметр	Контроль (n= 10)	Опыт (n= 10)	p
Количество тромбоцитов, $10^9/л$	515,5 [324,7÷532,7]	472,0 [431,7÷515,2]	> 0,05
Агрегация, отн.ед.	22,9 [21,9÷25,4]	8,3 [6,8÷10,3]	< 0,01
Силиконовое время, с	330,0 [259,0÷334,0]	375,0 [307,5÷397,5]	> 0,05
АПТВ, с	15,0 [13,3÷15,7]	40,0 [35,4÷42,2]	< 0,01
Протромбиновое время, с	27,6 [26,4÷29,4]	35,5 [24,4÷26,3]	< 0,05
РФМК, мг/ 100 мл	3,0 [3,0÷3,0]	15,0 [13,0÷16,0]	< 0,001
Фибриноген, г/л	2,5 [2,1÷2,7]	1,3 [1,2÷1,6]	< 0,01
ВПФМ, г	1,8 [1,7÷2,0]	2,7 [2,4÷2,9]	< 0,05
АТ III, %	97,1 [88,0÷115,1]	60,4 [55,1÷64,3]	< 0,05
Эуглобулиновый фибринолиз, мин	240,0 [171,2÷297,5]	657,5 [645,2÷670,2]	< 0,001
СТ, с	298,5 [278,5±323,2]	356,0 [332,0±415,0]	< 0,05
СФТ, с	88,5 [78,7±99,5]	112,5 [85,7±132,2]	< 0,05
ML, %	93,0 [77,0±98,0]	29,0 [14,5±70,7]	< 0,05

Примечание: данные представлены в виде Me – медиана выборки; [25÷75] – проценти выборки; n – число наблюдений; p – уровень статистической значимости различий сравниваемых показателей. АПТВ - активированное парциальное тромбопластиновое время; РФМК - растворимые фибриномерные комплексы; ВПФМ, г - время полимеризации растворимых фибриномерных комплексов; АТ III - антитромбин III; СТ – время коагуляции; СФТ – время образования сгустка; ML – максимальный лизис.

Как видно из таблицы, ежедневное гипотермическое воздействие в течение 30 дней приводило к выраженному снижению агрегационной способности тромбоцитов в 2,7 раза ($p < 0,01$) при неизменности их числа.

Со стороны плазменного гемостаза было зарегистрирован гипокоагуляционный сдвиг на всех этапах гемостатического каскада. Так, протромбиновое время свертывания, характеризующее внешний путь коагуляции, удлинялось на 30% ($p < 0,05$). Показатель АПТВ, характеризующий внутренний путь свертывания, также увеличивался и превышал контрольные значения в 2,6 раза ($p < 0,01$). Об этом же свидетельствовало время коагуляции (СТ) по данным тромбоэластографии, которое возрастало на 19% ($p < 0,05$). При анализе активности конечного этапа свертывания наблюдались выраженные гемостатические сдвиги. По истечении 30 дней ежедневных экспозиций в холодной воде в кровотоке регистрировались РФМК, концентрация которых в 5 раз превышала уровень контрольной группы ($p < 0,001$). При этом, концентрация фибриногена в кровотоке животных снижалась в 1,9 раза ($p < 0,01$). Кроме того, регистрировалось удлинение ВПФМ в 1,5 раза ($p < 0,05$). Увеличение времени самосборки фибрин-мономерных комплексов подтверждалось удлинением времени образования сгустка по данным тромбоэластографии на 27% ($p < 0,05$).

Со стороны антикоагулянтной системы регистрировалось снижение антитромбина III на 30 % ($p < 0,05$).

Активность фибринолитической системы была снижена, что выражалось в увеличении времени спонтанного лизиса эуглобулинов в 2,7 раза ($p < 0,001$). Данные также подтверждались результатами тромбоэластографии, что выражалось в уменьшении максимального лизиса в 3 раза ($p < 0,05$).

В качестве примера представлены тромбоэластограммы, полученные у животных из контрольной (рис. 3.15) и опытной (рис. 3.16) групп.

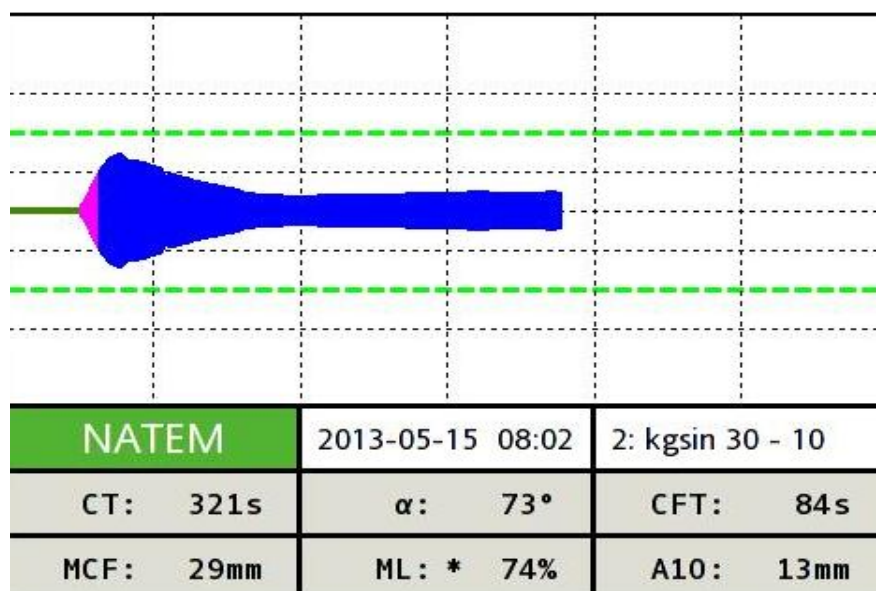


Рисунок 3.15 Тромбоэластограмма (контрольная группа, животное № 10), зарегистрированная сразу по завершении 30-дневной 40-минутной экспозиции в воде при температуре +30 °С

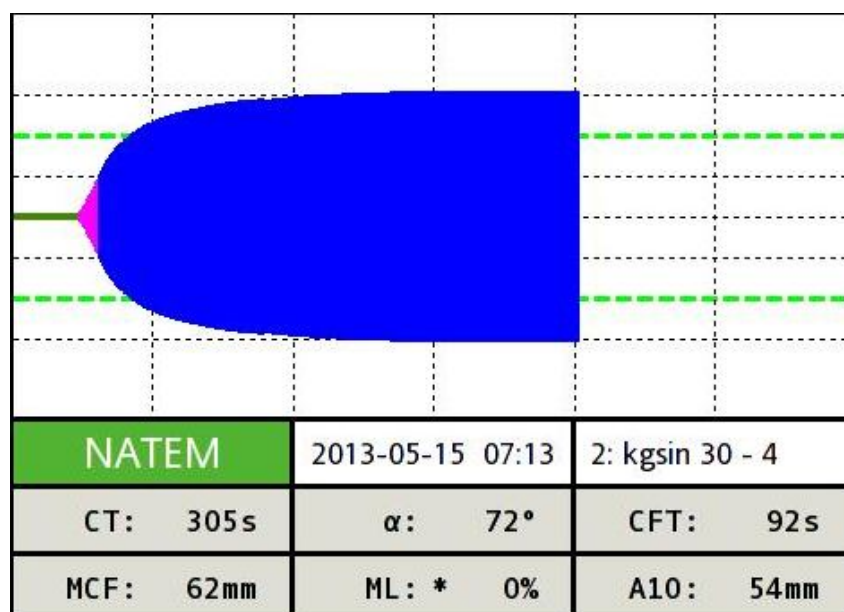


Рисунок 3.16 Тромбоэластограмма (опытная группа, животное № 4), зарегистрированная сразу по завершении 30-дневной 40-минутной экспозиции в воде при температуре +5 °С

Таким образом, сразу после извлечения из воды, по окончании цикла ежедневных 30-дневных охлаждений в крови опытных животных

регистрировался возросший уровень РФМК на фоне снижения концентрации фибриногена при увеличении времени их полимеризации. Также наблюдался выраженный гипокоагуляционный сдвиг на всех путях свертывания. Состояние экспериментальных животных усугублялось снижением концентрации антитромбина III и выраженным угнетением активности фибринолитической системы. Описанная гемостазиологическая картина укладывается в клиническую картину течения подострой формы ДВС-синдрома.

Таким образом, признаки дистресса выявленные при оценке массы и температуры тела подтверждаются и лабораторными данными, оценивающими состояние системы гемостаза у экспериментальных животных.

3.2.2. Влияние многократной иммерсионной гипотермии на систему гемостаза у крыс через сутки по истечении ежедневного охлаждения на протяжении 30 дней в водной среде

В процессе экспериментов в качестве показателей, характеризующих процесс развития долговременной адаптации, производилось измерение массы тела (рис. 3.17) и ректальной температуры (рис. 3.18) экспериментальных животных на протяжении месяца тренировок.

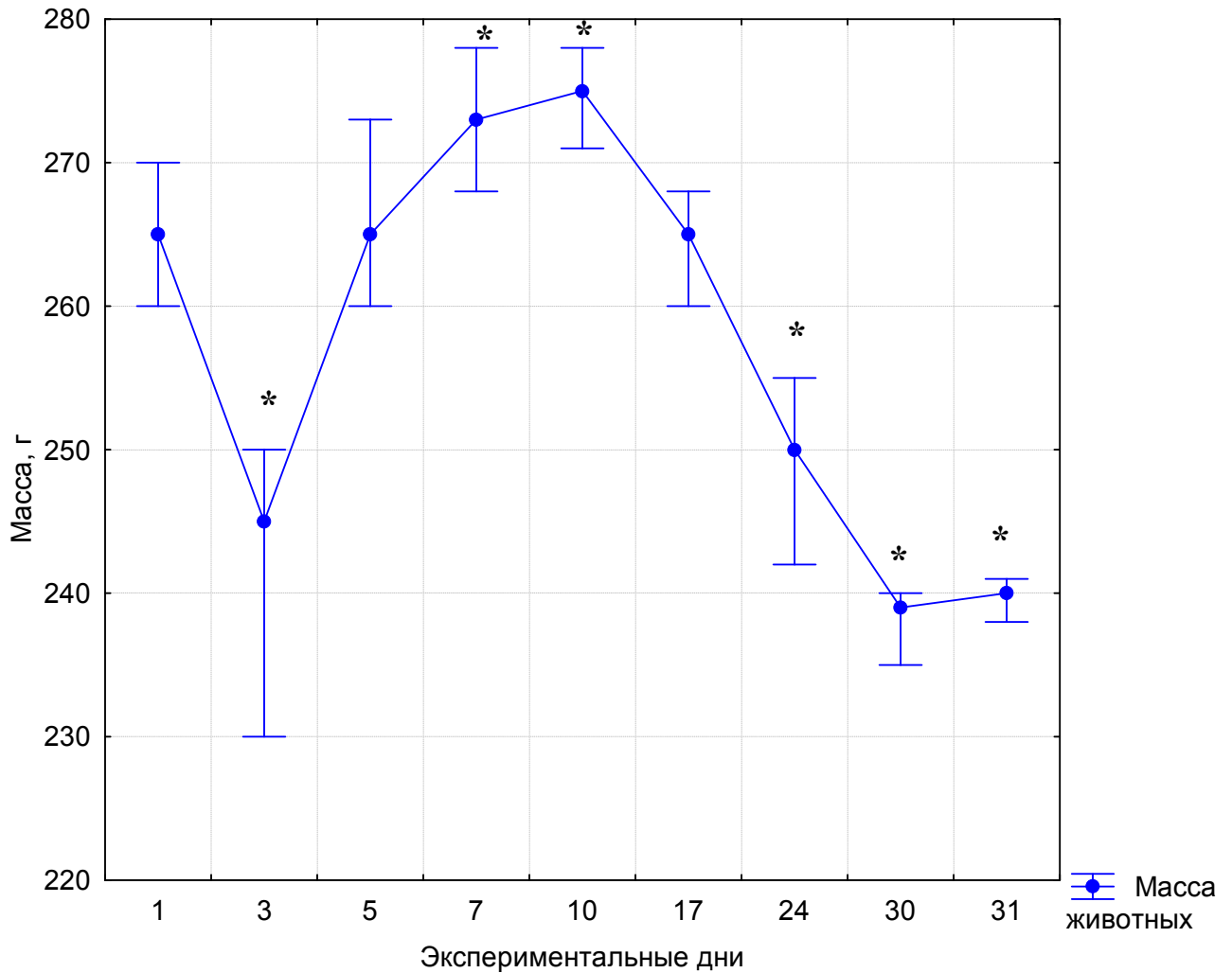


Рисунок 3.17 Динамика массы тела крыс в ходе 30-дневного цикла ежедневных охлаждений в водной среде

Примечание: * - достоверность отличий между исходной массой тела крыс и зарегистрированной в процессе 30-дневного иммерсионного гипотермического воздействия

Как видно из динамики показателя массы тела, представленного на рисунке 3.17, выбранный режим гипотермического воздействия являлся стрессорным для организма. Первоначальное снижение массы тела приходилось на 3-й экспериментальный день, в последующие дни (7-й, 10-й дни) происходит статистически значимый прирост массы тела животных. Далее наблюдалось вторичное снижение массы тела. Начиная с 10-го экспериментального дня и по завершении 30 дней воздействий, отмечено прогрессивное снижение массы тела. Относительно исходной величины и максимально высокой, достигнутой в ходе

эксперимента (10-й день), снижение массы тела регистрировалось начиная с 24-го дня и продолжалось вплоть до окончания воздействий.

Кроме того, для оценки влияния многократного действия стрессора и развития адаптационных изменений в течение всего эксперимента нами фиксировалась ректальная температура до и после охлаждения (рис. 3.18).

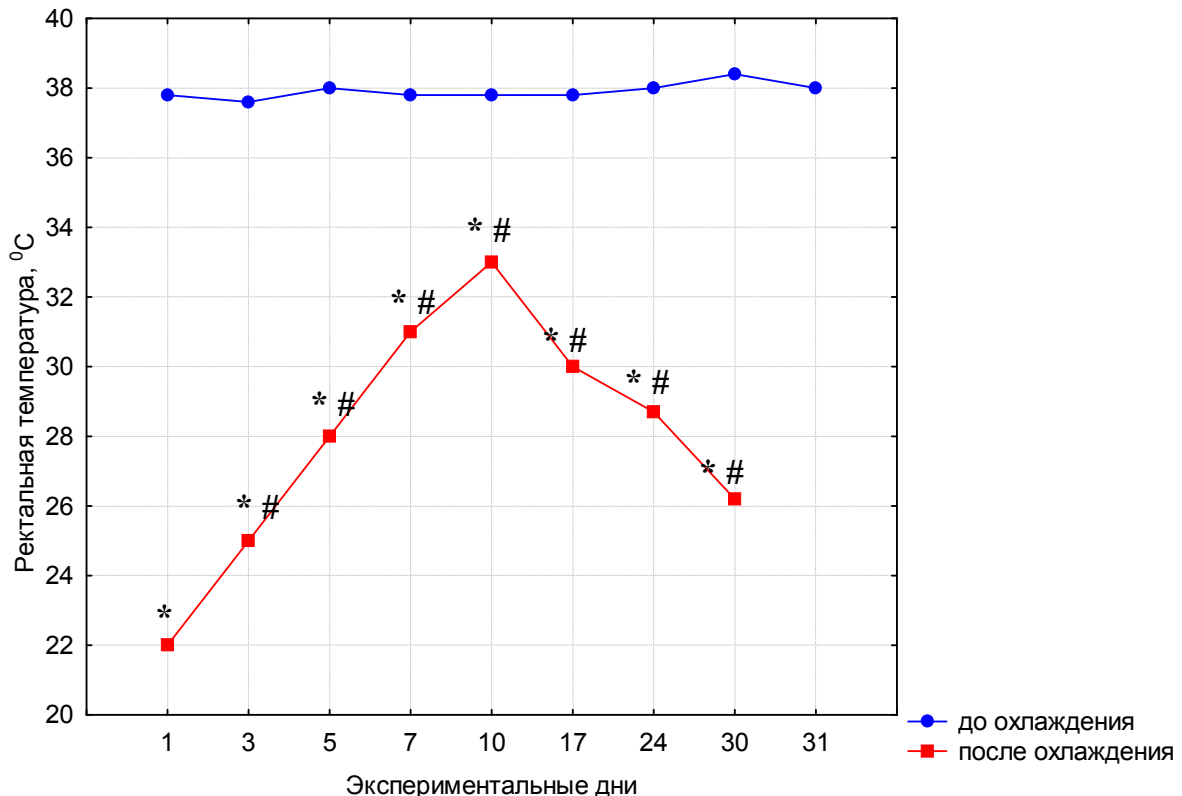


Рисунок 3.18 Динамика ректальной температуры до и после охлаждения при ежедневном 30-дневном охлаждении у крыс

Примечание: * - достоверность отличий до и после охлаждения; # - достоверность отличий между ректальной температурой, достигнутой в 1-й и последующие дни эксперимента.

На рисунке 3.18 показано, что в первый экспериментальный день в ходе 40 минутного охлаждения температура ядра снижалась на $15,0\text{ }^{\circ}\text{C}$ и достигала $22,0\pm 0,3\text{ }^{\circ}\text{C}$. С 3-го по 10-й экспериментальный день наблюдалось последовательное уменьшение диапазона температур до и после охлаждения. Минимальный диапазон регистрировался на 10-й день и составлял $4,8\text{ }^{\circ}\text{C}$ при абсолютном значении температуры тела $33\pm 0,3\text{ }^{\circ}\text{C}$. Однако, после 10-го дня

воздействий, мы наблюдали последовательное нарастание гипотермического состояния в ходе 40-минутного охлаждения. Так, на 17-й экспериментальный день температура ядра снижалась на $7,8^{\circ}\text{C}$ до $30\pm 0,4^{\circ}\text{C}$, а на 24-й день воздействия - $10,7^{\circ}\text{C}$ и составляла уже $28,7\pm 0,1^{\circ}\text{C}$. К 30-му экспериментальному дню при 40-минутном охлаждении ректальная температура снижалась уже на $12,2^{\circ}\text{C}$ и достигала $26,2\pm 0,1^{\circ}\text{C}$.

Описанная динамика массы тела и ректальной температуры говорит о формировании на ранних этапах (1-10-й дни эксперимента) воздействия процессов «незавершенной адаптации», и последующем срыве адаптивных возможностей организма.

Результаты исследования показателей системы гемостаза у крыс сразу по завершении многократного действия водно-иммерсионной гипотермии представлены в таблице 3.9.

Таблица 3.9

Показатели системы гемостаза у крыс через 24 часа по завершении 30-дневного 40-минутного холодого воздействия водой

Параметр	Контроль (n= 10)	Опыт (n= 10)	p
Количество тромбоцитов, $10^9/\text{л}$	514,0 [438,7÷533,2]	452,0 [442,0÷478,0]	> 0,05
Агрегация, отн.ед.	29,0 [23,6÷36,5]	6,8 [4,0÷8,6]	< 0,01
Силиконовое время, с	255,0 [232,5÷308,7]	370,0 [350,0÷436,0]	< 0,05
АПТВ, с	15,5 [15,2÷15,9]	40,0 [34,1÷45,2]	< 0,01
Протромбиновое время, с	21,2 [20,0÷22,7]	30,1 [29,2÷30,9]	< 0,05
РФМК, мг/ 100 мл	3,0 [3,0÷3,0]	16,0 [15,0÷17,0]	< 0,001
Фибриноген, г/л	2,6 [2,5÷2,7]	1,4 [1,2÷1,6]	< 0,01
ВПФМ, г	2,0 [1,7÷2,1]	2,8 [2,6÷3,0]	< 0,05

Продолжение таблицы 3.9

АТ III, %	101,7 [90,4÷109]	65,9 [88,6÷107,0]	< 0,05
Эуглобулиновый фибринолиз, мин	235,0 [171,2÷297,5]	660,0 [640,0÷685,0]	< 0,001
СТ, с	215,0 [198,0÷216,0]	321,0 [300,0÷384,0]	< 0,05
CFT, с	73,0 [66,0÷75,0]	84,0 [750,0÷90,0]	> 0,05
ML, %	87,0 [85,0÷90,0]	28,0 [26,0÷33,0]	< 0,05

Примечание: данные представлены в виде Me – медиана выборки; [25÷75] – процентиля выборки; n – число наблюдений; p – уровень статистической значимости различий сравниваемых показателей. АПТВ - активированное парциальное тромбопластиновое время; РФМК - растворимые фибрин-мономерные комплексы; ВПФМ, г - время полимеризации растворимых фибрин-мономерных комплексов; АТ III - антитромбин III; СТ – время коагуляции; CFT – время образования сгустка; ML – максимальный лизис.

Через сутки после окончания ежедневных 30-дневных охлаждений в водной среде в кровотоке животных не изменялось количество тромбоцитов, при этом их агрегационная способность снижалась в 4,2 раза ($p < 0,01$).

Со стороны начальных этапов коагуляционного гемостаза наблюдалось удлинение силиконового времени свертывания в 1,4 раза ($p < 0,05$) и увеличение АПТВ в 2,5 раза ($p < 0,01$). Также гипокоагуляционный сдвиг регистрировался на внешнем этапе активации гемостатического каскада, что проявлялось в увеличении протромбинового времени свертывания на 40% ($p < 0,05$). Наряду с зарегистрированными гипокоагуляционными сдвигами в кровотоке регистрировался уровень РФМК, превосходивший контрольные значения в 5,3 раза ($p < 0,001$). При этом время самосборки РФМК увеличивалось на 40% ($p < 0,05$). Кроме того, регистрировалось уменьшение концентрации фибриногена в 1,8 раза ($p < 0,01$).

Об этом же свидетельствуют изменения, зафиксированные на тромбоэластограмме: регистрировалось удлинение показателя СТ,

характеризующего общее время коагуляции, на 50% ($p < 0,05$), при неизменности времени образования сгустка (CFT).

Концентрация АТ III через сутки после окончания многократного экспериментального воздействия снижалась на 35% ($p < 0,05$). Также активность фибринолитической системы снижалась в 2,8 раза ($p < 0,001$), что также подтверждалось данными тромбоэластографии (показатель максимального лизиса уменьшился в 3 раза ($p < 0,05$)).

В качестве примера представлены тромбоэластограммы, полученные у животных из контрольной (рис. 3.19) и опытной (рис. 3.20) групп.

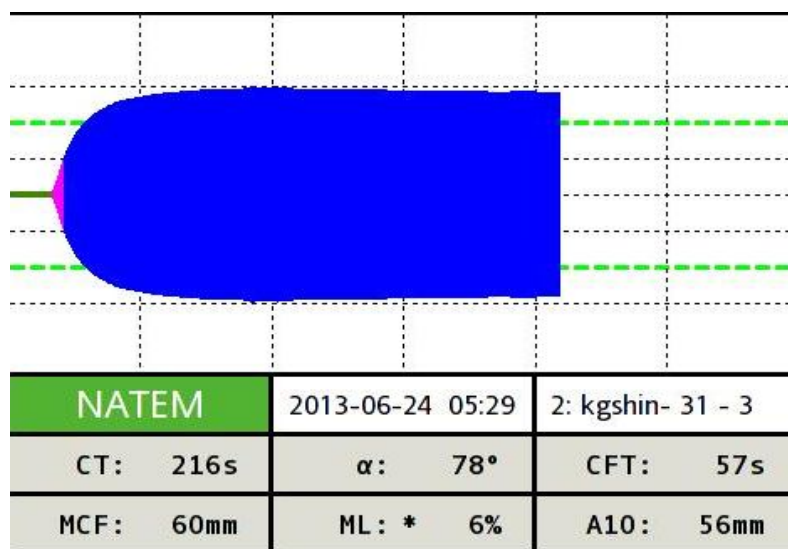


Рисунок 3.19 Тромбоэластограмма (контрольная группа, животное №3), зарегистрированная через сутки по завершении 30-дневной 40-минутной экспозиции в воде при температуре +30 °С

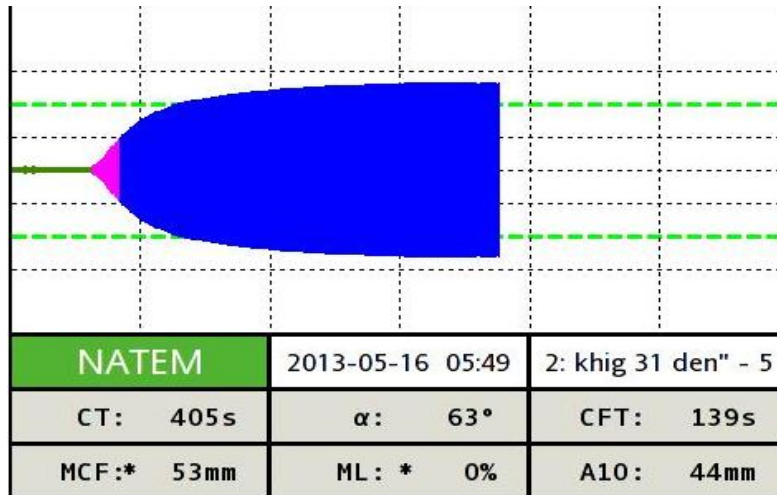


Рисунок 3.20 Тромбоэластограмма (опытная группа, животное №5), зарегистрированная через 24 часа по завершении 30-дневной 40-минутной экспозиции в воде при температуре +5 °С

Таким образом, спустя сутки после окончания 30-дневного охлаждения наблюдался гипокоагуляционный сдвиг в контактной фазе свертывания, а также на внутреннем и внешнем этапах активации гемокоагуляции. Кроме того, в кровотоке регистрировался возросший уровень РФМК на фоне сниженной концентрации фибриногена, что свидетельствовало о развитии тромбинемии. Также было зафиксировано уменьшение концентрации АТ III и выраженное угнетение активности фибринолитической системы.

ГЛАВА 4. ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ РЕЖИМОВ ВОЗДУШНОЙ ГИПОТЕРМИИ НА СОСТОЯНИЕ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА У КРЫС

4.1. Система гемостаза при действии однократной воздушной гипотермии

Однократная воздушная гипотермия моделировалась путем помещения животных, находящихся в индивидуальных клетках, в охлаждающую камеру при температуре воздуха $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$. Критерием прекращения воздействия служило достижение экспериментальными животными ректальной температуры $+30\text{ }^{\circ}\text{C}$. Время экспозиции было индивидуальным и в среднем составляло 6 ± 3 часа.

В первой серии экспериментов забор крови у животных обеих групп осуществлялся сразу после окончания экспериментального воздействия. Во вторую серию вошли животные, забор крови у которых осуществлялся по истечении суток после окончания экспериментального воздействия.

Контролем служила кровь 20 животных, полученная сразу и через сутки ($n=2 \times 10$) после того, как они в индивидуальных клетках помещались в камеру при температуре $+22\text{ }^{\circ}\text{C}$. Время экспозиции соответствовало времени нахождения животных опытной группы в охлаждающей камере и составляло 3, 4, 6, 8 и 9 часов соответственно.

Изменения в системе гемостаза оценивали по состоянию тромбоцитарного и коагуляционного гемостаза, включающего в себя анализ свертывающей, антикоагулянтной и фибринолитической систем, а также по результатам тромбоэластографии (методы описаны во 2 главе).

4.1.1. Состояние системы гемостаза у крыс сразу по достижении ими умеренной степени гипотермии под действием однократного воздушного переохлаждения

Результаты исследования показателей системы гемостаза у крыс после однократной воздушной гипотермии представлены в таблице 4.1.

Таблица 4.1

Показатели системы гемостаза у крыс сразу по достижении ректальной температуры +30 °С под действием однократной воздушной гипотермии

Параметр	Контроль (n=10)	Опыт (n=10)	p
Количество тромбоцитов, 10 ⁹ /л	534,5 [505,2 ÷ 556]	613,5 [602,7 ÷ 628,2]	< 0,05
Агрегация, отн.ед	19,9 [18,5 ÷ 20,4]	2,6 [1,4 ÷ 3,4]	< 0,001
Силиконовое время, с	225,0 [204,7 ÷ 238,7]	206,5 [200,0 ÷ 225,0]	> 0,05
АПТВ, с	16,3 [15,4 ÷ 17,3]	14,8 [14,3 ÷ 16,2]	> 0,05
Протромбиновое время, с	21,9 [20,1 ÷ 22,7]	23,2 [21,8 ÷ 24,6]	> 0,05
РФМК, мг/ 100 мл	3,0 [3,0 ÷ 3,0]	3,0 [3,0 ÷ 3,0]	> 0,05
Фибриноген, г/л	2,0 [1,7 ÷ 2,5]	1,5 [1,4 ÷ 1,6]	< 0,05
ВПФМ, г	2,1 [2,1 ÷ 2,4]	2,5 [2,1 ÷ 2,6]	< 0,05
АТ III, %	93,2 [86,4 ÷ 96,4]	94,8 [94 ÷ 97,3]	> 0,05
Эуглобулиновый фибринолиз, мин	205,0 [205,0 ÷ 205,0]	529,0 [313,0 ÷ 529,0]	< 0,001
СТ, с	230,5 [214,2 ÷ 253,7]	289,0 [251,0 ÷ 300]	< 0,05
СФТ, с	94,0 [86,5 ÷ 154,7]	113,0 [73,2 ÷ 150,5]	< 0,05
ML, %	88,0 [61,7 ÷ 90,0]	28,5 [14,7 ÷ 50,7]	< 0,01

Примечание: данные представлены в виде Me – медиана выборки; [25÷75] – процентиля выборки; n – число наблюдений; p – уровень статистической значимости различий сравниваемых показателей. АПТВ - активированное

парциальное тромбопластиновое время; РФМК - растворимые фибрин-мономерные комплексы; ВПФМ, г - время полимеризации растворимых фибрин-мономерных комплексов; АТ III - антитромбин III; СТ – время коагуляции; СFT – время образования сгустка; ML – максимальный лизис.

Как видно из таблицы, достижение экспериментальными животными ректальной температуры 30°C сопровождалось увеличением числа кровяных пластинок на 14% ($p < 0,05$) и снижением их агрегационной способности в 9 раз ($p < 0,001$).

Со стороны коагуляционного гемостаза регистрировался гипокоагуляционный сдвиг на конечном этапе свертывания, характеризующийся удлинением тромбинового времени на 27% ($p < 0,05$). Гипокоагуляция также подтверждалась и результатами тромбоэластографии, что выражалось в увеличении времени коагуляции (СТ) на 25% ($p < 0,05$). Наряду с этим, наблюдалось снижение концентрации фибриногена на 25% ($p < 0,05$). Удлинение времени полимеризации фибрин-мономерных комплексов на 19% ($p < 0,05$) также подтверждало факт снижения концентрации I фактора в крови. Описанная динамика этих параметров сопровождалась увеличением времени образования сгустка (СFT) на 20% ($p < 0,05$).

Антикоагулянтная активность плазмы крови в ходе экспериментального воздействия не изменялась. Время спонтанного лизиса эуглобулинов удлинялось в 2 раза ($p < 0,001$), что демонстрировало выраженное угнетение фибринолитической системы. Данный факт также подтверждается данными тромбоэластографии. Так, показатель характеризующий степень лизиса сгустка (ML) уменьшался в 3 раза ($p < 0,01$).

В качестве примера представлены тромбоэластограммы, полученные у животных из контрольной (рис. 4.1) и опытной (рис. 4.2) групп

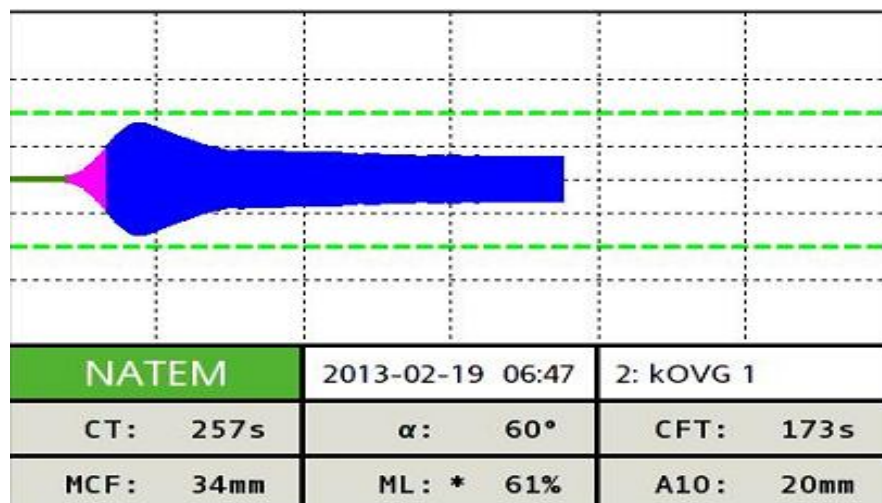


Рисунок 4.1 Тромбоэластограмма (контрольная группа, животное №1), зарегистрированная сразу по завершении однократной экспозиции при температуре +22 °С

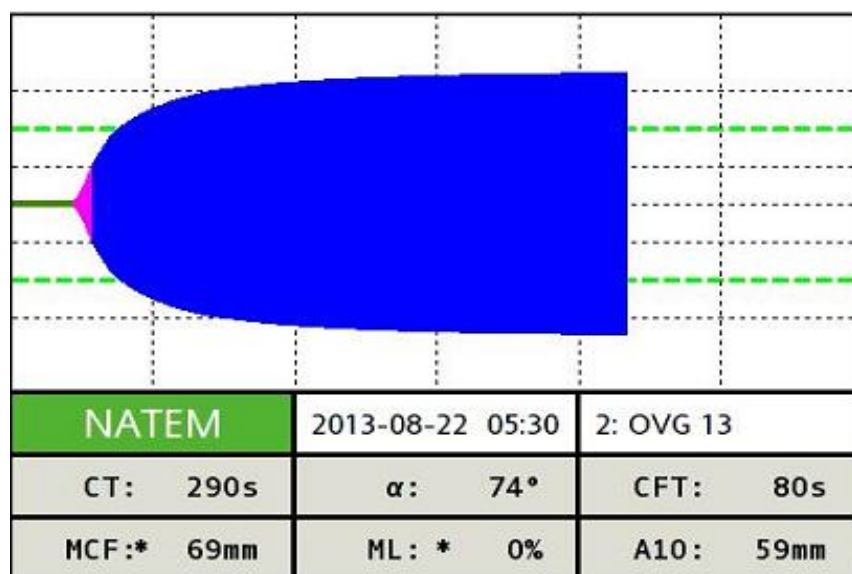


Рисунок 4.2 Тромбоэластограмма (опытная группа, животное №13), зарегистрированная сразу по достижении ректальной температуры +30 °С под действием однократной воздушной гипотермии

Таким образом, однократная воздушная гипотермия, сопровождавшаяся достижением ректальной температуры +30 °С, вызывала существенные изменения в системе гемостаза. Сосудисто-тромбоцитарный гемостаз реагировал на воздействие существенным снижением агрегационной активности

тромбоцитов. Со стороны плазменного гемостаза в наибольшей степени вовлекался конечный этап свертывания, что проявлялось гипокоагуляционными сдвигами. Наряду с этим регистрировалось выраженное угнетение фибринолитической активности плазмы крови.

4.1.2. Состояние системы гемостаза у крыс через сутки после однократного воздушного переохлаждения по достижению умеренной степени гипотермии

Моделирование однократной воздушной гипотермии, а также создание условий для контрольной группы животных осуществлялось по методике, описанной ранее (см. раздел 4.1.).

Забор крови у животных обеих групп осуществлялся по истечении 24 часов после окончания экспериментального воздействия.

Результаты исследования показателей системы гемостаза у крыс по истечении 24 часов при действии однократной воздушной гипотермии представлены в таблице 4.2.

Таблица 4.2

Показатели системы гемостаза у крыс через сутки после достижения ректальной температуры $+30\text{ }^{\circ}\text{C}$ под действием однократной воздушной гипотермии

Параметр	Контроль (n= 10)	Опыт (n= 10)	p
Количество тромбоцитов, $10^9/\text{л}$	484,5 [461,7÷494,0]	422,5 [403,2÷450,7]	<0,05
Агрегация, отн.ед	37,5[25,8÷47,2]	45,6 [39,5÷49,5]	>0,05
Силиконовое время, с	167,5 [143,7÷208,7]	240,0 [232,2÷265,0]	<0,01
АПТВ, с	14,4[14,0÷14,6]	17,8 [16,6÷18,8]	<0,01
Протромбиновое время, с	21,5 [17,1÷23,1]	23,0 [21,6÷24,1]	>0,05
РФМК, мг/ 100 мл	3,0 [3,0 ÷ 3,0]	28,0 [28,0÷28,0]	<0,001

Продолжение таблицы 4.2

Фибриноген, г/л	1,9 [1,8÷2,1]	4,3 [4÷4,6]	<0,001
ВПФМ, г	2,1 [1,9÷2,2]	1,0 [0,9÷1,1]	<0,01
АТ III, %	166,5 [142,7÷186]	93,8 [80,1÷103,2]	<0,01
Эуглобулиновый фибринолиз, мин	460,0 [400,0÷560]	ЧЕРЕЗ 24 ЧАСА НЕ НАСТУПИЛ	<0,001
СТ, с	262,5 [256,0 ÷ 288,0]	215,0 [184,0 ÷ 231,0]	<0,05
CFT, с	107,0 [96,5 ÷ 295,0]	58,5 [48,0 ÷ 66,0]	<0,05
ML, %	21 [18,7 ÷ 35,0]	0,0 [0,0 ÷ 0,25]	<0,01

Примечание: данные представлены в виде Me – медиана выборки; [25÷75] – процентилю выборки; n – число наблюдений; p – уровень статистической значимости различий сравниваемых показателей. АПТВ- активированное парциальное тромбoplastинное время; РФМК- растворимые фибрин-мономерные комплексы; ВПФМ, г- время полимеризации растворимых фибрин-мономерных комплексов; АТ III - антитромбин III; СТ – время коагуляции; CFT – время образования сгустка; ML – максимальный лизис.

Через 24 часа после окончания холодого воздействия сосудисто-тромбоцитарный гемостаз реагировал снижением количества тромбоцитов на 13% ($p<0,05$), при этом агрегационная способность кровяных телец относительно контроля не изменялась.

Анализ данных показал, что данный период характеризовался выраженными изменениями в состоянии коагуляционного гемостаза. При этом силиконовое время, характеризующее контактную фазу гемокоагуляции, удлинялось на 43% ($p<0,01$). АПТВ, характеризующее внутренний этап коагуляционного гемостаза, также было удлинено на 23% ($p<0,01$), что свидетельствовало о развитии гипокоагуляционных сдвигов. В то же время со стороны конечных этапов свертывания регистрировались выраженные гиперкоагуляционные сдвиги. Это проявлялось в существенном (в 8,8 раза) увеличении концентрации в плазме крови растворимых фибрин-мономерных комплексов ($p<0,001$), повышении в 2 раза концентрации фибриногена ($p<0,001$) и

уменьшении времени полимеризации фибрин-мономерных комплексов на 45% ($p < 0,01$). При разнонаправленных сдвигах, зарегистрированных на начальных и конечном этапах в системе гемостаза, в качестве интегрального метода выступает тромбоэластография. Так, анализ кривых показал, что гемостатический потенциал крови смещается в сторону гиперкоагуляции. Это подтверждается уменьшением времени свертывания (СТ укорачивается на 20% ($p < 0,05$)) и времени образования сгустка (СФТ на 55% ($p < 0,05$)) по результатам тромбоэластограммы.

Гиперкоагуляция осложнялась падением уровня основного антикоагулянта плазмы крови. Это проявлялось в снижении концентрации антитромбина III на 43% ($p < 0,01$). Выраженное угнетение активности фибринолитической системы (отсутствие по истечении 24 часов лизиса эуглобулиновых сгустков) в еще большей степени увеличивало риск тромбообразования. Угнетение активности фибринолитической системы также подтверждалось данными тромбоэластограммы, что выражалось в нулевом значении показателя максимального лизиса. Описанная совокупность гемостатических сдвигов с большой долей вероятности свидетельствовала о развитии состояния тромботической готовности в сосудистом русле экспериментальных животных.

В качестве примера представлены тромбоэластограммы, полученные у животных из контрольной (рис. 4.3) и опытной (рис. 4.4) групп.

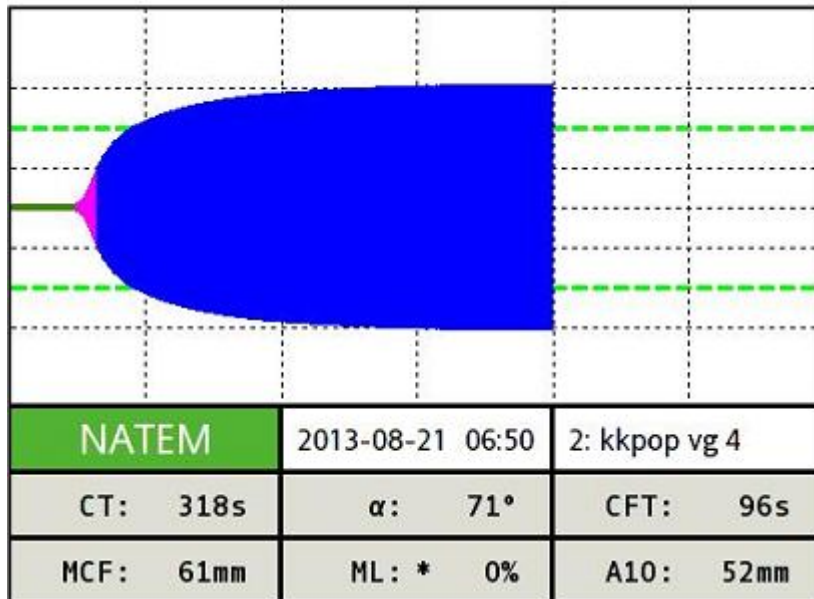


Рисунок 4.3 Тромбоэластограмма (контрольная группа, животное №4), зарегистрированная через сутки после однократной экспозиции при температуре +22 °С

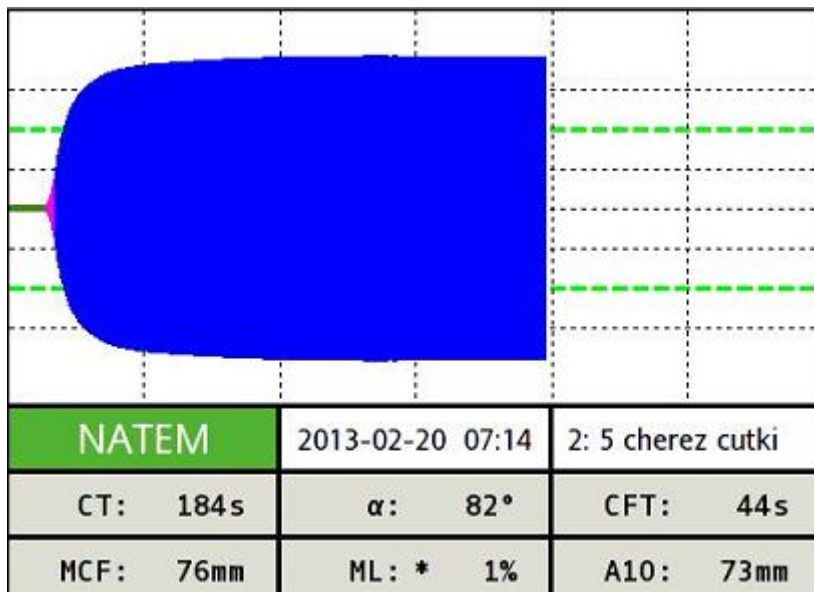


Рисунок 4.4. Тромбоэластограмма (опытная группа, животное №5), зарегистрированная через сутки после достижения ректальной температуры +30 °С под действием однократной воздушной гипотермии

Таким образом, по истечении 24-х часов после прекращения воздействия однократной воздушной гипотермии регистрировались существенные изменения

в системе гемостаза. Так, со стороны сосудисто-тромбоцитарного гемостаза было зафиксировано уменьшение количества тромбоцитов. При анализе данных, характеризующих плазменный гемостаз, было установлено развитие выраженных гиперкоагуляционных сдвигов на конечном этапе свертывания, сопровождавшихся существенным снижением активности антикоагулянтной и фибринолитической систем. Наблюдаемая гемостазиологическая картина укладывается в описание состояния тромботической готовности.

4.1.3. Сравнение показателей гемостаза у крыс под действием однократной воздушной гипотермии сразу и через сутки после достижения ими умеренной степени гипотермии

Анализ изменений, полученных у животных сразу по достижении ректальной температуры $+30^{\circ}\text{C}$ и через сутки после прекращения опытного воздействия, представлен в таблице 4.3.

Так, при оценке действия однократной гипотермии на гемостаз были зафиксированы разносторонние изменения со стороны как сосудисто-тромбоцитарного, так и плазменного гемостаза. Увеличение количества тромбоцитов, зарегистрированное сразу по окончании острого действия гипотермии, сменялось уменьшением их числа через 24 часа после прекращения холодого воздействия. Анализ функционального состояния тромбоцитов показал, что выраженное падение их агрегационной активности (в 9 раз) при оценке острого воздействия сменялось нормализацией показателя по истечении суток.

Со стороны коагуляционного гемостаза по истечении суток был зафиксирован гипокоагуляционный сдвиг в реакциях контактной фазы и внутреннего пути свертывания, отсутствующий сразу по окончании холодого воздействия.

В то же время, через сутки в кровотоке опытных животных развивалось состояние тромботической готовности, отсутствующее сразу по окончании

холодового воздействия. Это характеризовалось существенным ростом (в 9 раз) в кровотоке маркеров тромбинемии (РФМК) и ускорением их самосборки (по данным ВПФМ) на фоне увеличения концентрации фибриногена. Концентрация АТ III через сутки после прекращения действия острой гипотермии снижалась, очевидно, вследствие потребления этого антикоагулянта для нейтрализации активных молекул тромбина. Кроме того, состояние экспериментальных животных через сутки после воздействия усугублялось выраженным угнетением фибринолитической системы, что характеризовалось последовательным снижением литической активности плазмы крови. Так, при остром воздействии время лизиса эуглобулинов увеличивалось в 2 раза, в то время как отставленное воздействие приводило к столь значимому его угнетению, что лизис сгустков не был зафиксирован даже по завершении 24 часов наблюдения.

При оценке комплексной гемостатической реакции с помощью тромбоэластографии сразу по достижении ректальной температуры $+30\text{ }^{\circ}\text{C}$ было зафиксировано смещение гемостатического потенциала плазмы крови в сторону гипокоагуляции, в отличие от скрининговых тестов, которые ее не выявили. Так, по данным тромбоэластографии увеличивалось общее время коагуляции и время образования сгустка.

Через сутки общий гемостатический потенциал плазмы по данным тромбоэластограммы оценивался как гиперкоагуляционный. Так, по данным тромбоэластографии наблюдалось уменьшение времени коагуляции и значительное снижение времени образования сгустка. Данные изменения усугублялись выраженным угнетением фибринолитической системы. Так, показатель максимального лизиса по истечении времени записи кривой был равен нулю.

Таким образом, комплекс описанных параметров системы гемостаза демонстрирует существенное изменение гемостатического статуса по истечении 24 часов после прекращения действия острой гипотермии.

Угнетение всего каскада гемостатических реакций, зафиксированное сразу по достижении животными ректальной температуры $+30\text{ }^{\circ}\text{C}$, обусловлено, по-

видимому, снижением скорости ферментативных процессов вследствие общего переохлаждения.

В то же время, по истечении суток после прекращения однократного холодого воздействия гемостазиологический статус существенно ухудшился. Это проявлялось в развитии состояния тромботической готовности, что подтверждалось целым комплексом коагулологических и инструментальных исследований [18, 51]. Очевидно, общее ухудшение гемостазиологической картины обусловлено деструкцией эндотелия в результате получения локальных холодых травм в ходе общего непреднамеренного переохлаждения.

Таблица 4.3

Результаты исследования показателей системы гемостаза у крыс после однократной воздушной гипотермии и по истечении 24 часов

Параметр	Контроль 1* (n= 10)	Опыт 1* (n= 12)	Контроль 2* (n= 10)	Опыт 2* (n= 10)	p
Количество тромбоцитов, 10 ⁹ / л	534,5 [505,2÷556]	613,5 [602,7÷ 628,2] (Δ+14%)	484,5 [461,7÷494,0]	422,5 [403,2÷450,7] (Δ-13%)	p ₁₋₂ <0,05 p ₃₋₄ <0,05
Агрегация, отн.ед	19,9 [18,5 ÷ 20,4]	2,6 [1,4 ÷ 3,4] (Δ-130%)	37,5[25,8÷47,2]	45,6 [39,5÷49,5]	p ₁₋₂ <0,01 p ₃₋₄ >0,05
Силиконовое время, с	225 [204,7 ÷ 238,7]	206,5 [200 ÷ 225]	167,5 [143,7÷208,7]	240,0 [232,2÷265,0] (Δ+143%)	p ₁₋₂ >0,05 p ₃₋₄ <0,01
АПТВ, с	16,3 [15,4 ÷ 17,3]	14,8 [14,3 ÷ 16,2]	14,4[14,0÷14,6]	17,8 [16,6÷18,8] (Δ+23%)	p ₁₋₂ >0,05 p ₃₋₄ <0,01
Протромбиновое время, с	21,9 [20,1 ÷ 22,7]	23,2 [21,8 ÷ 24,6]	21,5 [17,1÷23,1]	23,0 [21,6÷24,1]	p ₁₋₂ >0,05 p ₃₋₄ >0,05
Тромбиновое время, с	41,7 [38,8 ÷ 44,8]	53,2 [48,9 ÷ 62,6] (Δ+27%)	35,1 [32,9÷37,6]	38,9 [35,5÷43,6]	p ₁₋₂ <0,05 p ₃₋₄ >0,05
РФМК, мг/ 100 мл	3,0 [3,0 ÷ 3,0]	3,0 [3,0 ÷ 3,0]	3,0 [3,0 ÷ 3,0]	28,0 [28,0÷28,0] (Δ+933%)	p ₁₋₂ >0,05 p ₃₋₄ <0,001
Фибриноген, г/л	2 [1,7 ÷ 2,5]	1,5 [1,4 ÷ 1,6] (Δ-25%)	1,9 [1,8÷2,1]	4,3 [4÷4,6] (Δ+226%)	p ₁₋₂ <0,05 p ₃₋₄ <0,001
ВПФМ, г	2,1 [2,1 ÷ 2,4]	2,5 [2,1 ÷ 2,6] (Δ+19%)	2,1 [1,9÷2,2]	1,0 [0,9÷1,1] (Δ-47%)	p ₁₋₂ <0,05 p ₃₋₄ <0,01
АТ III, %	93,2 [86,4 ÷ 96,4]	94,8 [94 ÷ 97,3]	166,5 [142,7÷186]	93,8 [80,1÷103,2] (Δ-56%)	p ₁₋₂ >0,05 p ₃₋₄ <0,01

Продолжение таблицы 4.3

Эуглобулиновый фибринолиз, мин	205,0 [205,0 ÷ 205,0]	529,0 [313,0 ÷ 529,0] (Δ+258%)	460,0 [400,0 ÷ 560]	ЧЕРЕЗ 24 ЧАСА НЕ НАСТУПИЛ	$p_{1-2} < 0,001$ $p_{3-4} < 0,001$
СТ, с	230,5 [214,2 ÷ 253,7]	289,0 [251,0 ÷ 300] (Δ+25%)	262,5 [256,0 ÷ 288,0]	215,0 [184,0 ÷ 231,0] (Δ-20%)	$p_{1-2} < 0,05$ $p_{3-4} < 0,05$
CFT, с	94,0 [86,5 ÷ 154,7]	113,0 [73,2 ÷ 150,5] (Δ+20%)	107,0 [96,5 ÷ 295,0]	58,5 [48,0 ÷ 66,0] (Δ-55%)	$p_{1-2} < 0,05$ $p_{3-4} < 0,05$
ML, %	88,0 [61,7 ÷ 90,0]	28,5 [14,7 ÷ 50,7] (Δ-70%)	21,0 [18,7 ÷ 35,0]	0,0 [0,0 ÷ 0,25]	$p_{1-2} < 0,05$ $p_{3-4} < 0,01$

Примечание: данные представлены в виде Me – медиана выборки; [25÷75] – процентиля выборки; Δ - прирост показателя, %; n – число наблюдений; p – уровень статистической значимости различий сравниваемых показателей. 1^* - кровь животных сразу после извлечения из камеры, 2^* - кровь животных через 24 часа после извлечения из камеры; АПТВ - активированное парциальное тромбопластиновое время; РФМК - растворимые фибрин-мономерные комплексы; ВПФМ, г - время полимеризации растворимых фибрин-мономерных комплексов; АТ III - антитромбин III; СТ – время коагуляции; CFT – время образования сгустка; ML – максимальный лизис.

4.2. Исследование системы гемостаза при действии многократной воздушной гипотермии

Многократная воздушная гипотермия моделировалась путем ежедневного помещения животных в индивидуальных клетках в охлаждающую камеру при температуре воздуха $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$, в течение 30 дней. Животные находились в камере по 3 часа.

В первой серии экспериментов забор крови у животных обеих групп осуществлялся на 30-й день сразу после окончания экспериментального воздействия. Во вторую серию вошли животные, забор крови у которых осуществлялся на 31-й день, т.е. по истечении суток после окончания последнего воздействия.

Контролем служила кровь 20 животных, полученная сразу и через сутки ($n=2 \times 10$) после истечения времени нахождения в индивидуальных клетках при температуре $+22\text{ }^{\circ}\text{C}$, на протяжении 30 дней. Время экспозиции соответствовало времени нахождения животных опытной группы в холодной камере и составляло 3 часа соответственно.

Изменения в системе гемостаза оценивали по состоянию тромбоцитарного и коагуляционного гемостаза, а также состоянию антикоагулянтной и фибринолитической систем по описанным во 2 главе методикам.

4.2.1. Влияние многократной воздушной гипотермии на систему гемостаза у крыс сразу по истечении ежедневного охлаждения на протяжении 30 дней

В процессе экспериментов в качестве показателей, характеризующих процесс развития долговременной адаптации, производилось измерение массы тела и ректальной температуры экспериментальных животных на протяжении месяца тренировок (рис. 4.5).

Подтверждением того, что выбранные модели являлись для крыс стрессором, говорит тот факт, что измерение массы тела животных выявляло отчетливое снижение показателя, максимальная ниша которого приходилась на 3–9 дни воздействия, т.е. на период, когда шло становление «незавершенной долговременной адаптации» [4]. Начиная с 10-го дня наблюдалось увеличение массы тела до исходных показателей, которое удерживалось вплоть до 30-го дня эксперимента.

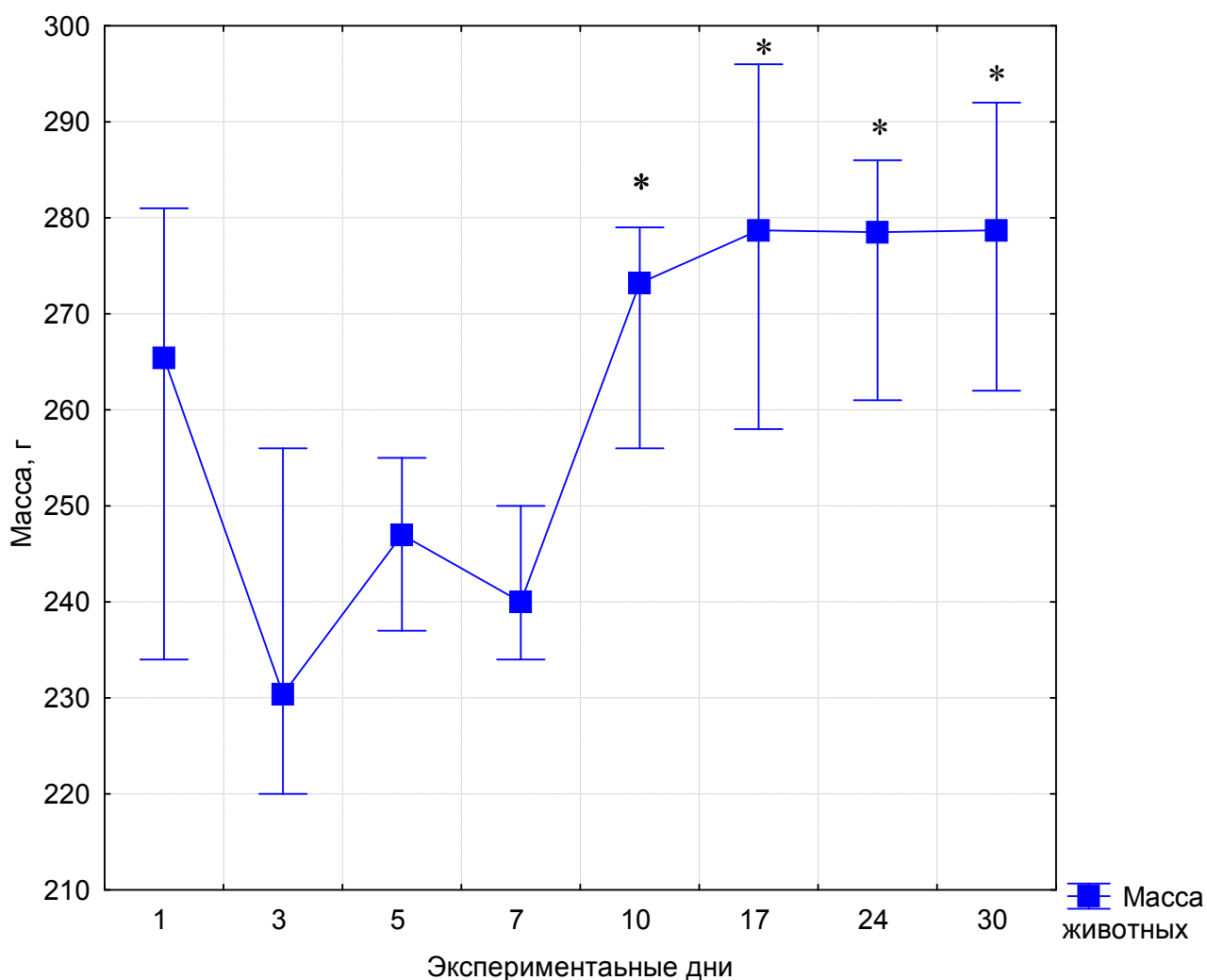


Рисунок 4.5 Динамика массы тела крыс в ходе 30-дневного цикла ежедневных охлаждений в воздушной среде.

Примечание: * - достоверность отличий между исходной массой тела крыс и зарегистрированной в процессе 30-дневного иммерсионного гипотермического воздействия

Кроме того, в ходе всего экспериментального воздействия нами регистрировалась ректальная температура до и после завершения охлаждения (рис. 4.6). Так, из рисунка видно, что охлаждение в первый экспериментальный день сопровождалось снижением ректальной температуры на $7\text{ }^{\circ}\text{C}$ до $32,2 \pm 1,2\text{ }^{\circ}\text{C}$. С 3-го по 10-й экспериментальный день наблюдалось последовательное уменьшение выраженности снижения ректальной температуры у животных. Это приводило к тому, что к окончанию эксперимента на 10-й день ректальная температура после охлаждения достоверно превышала таковую в 1-й экспериментальный день. Дальнейшие охлаждения сопровождалось менее выраженным падением ректальной температуры. Уже с 17-го дня и до окончания эксперимента ректальная температура после охлаждения снижалась лишь на $2\text{ }^{\circ}\text{C}$ и стабилизировалась на величине $37,8 \pm 0,4\text{ }^{\circ}\text{C}$. Таким образом, ежедневные 30 дневные охлаждения приводят к развитию адаптивных изменений в реакции на холод, что проявляется в менее выраженном падении ректальной температуры по сравнению с первым экспериментальным днем. Обнаруженные изменения являются одним из подтверждений развития у крыс долговременной адаптации на холодное воздействие.

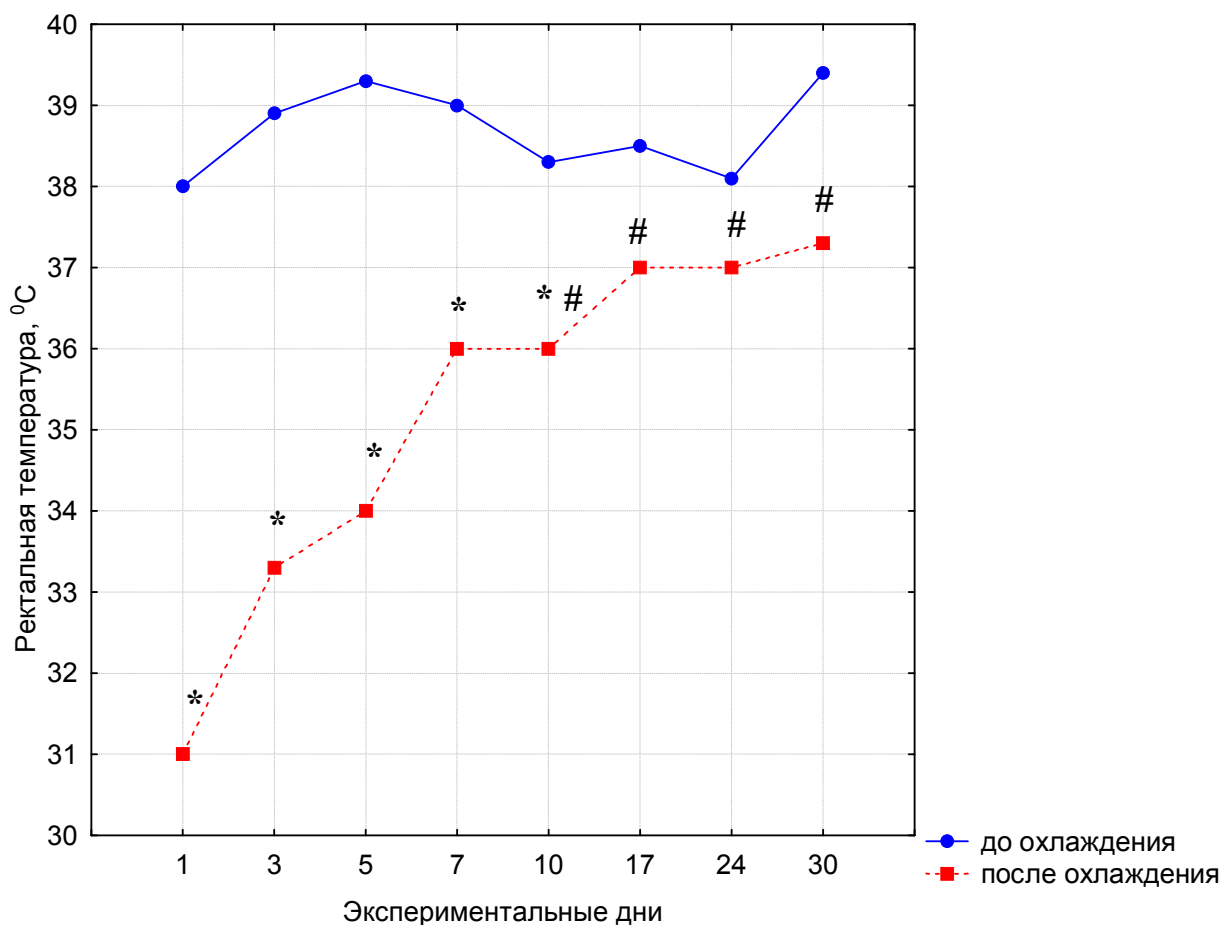


Рисунок 4.6 Динамика ректальной температуры до и после охлаждения при ежедневном 30-дневном воздушном холодом воздействии у крыс.

Примечание: * - достоверность отличий до и после охлаждения; # - достоверность отличий между ректальной температурой, достигнутой в 1-й и последующие дни эксперимента.

Таким образом, результаты исследования массы тела и ректальной температуры животных в ходе 30-дневного эксперимента позволяют предположить развитие долговременной адаптации в холодом воздействию воздухом уже с 10-го дня экспериментального воздействия. Процессы, связанные с незавершенной долговременной адаптацией, регистрировались с 3-го по 7-й день эксперимента.

Результаты исследования показателей системы гемостаза у крыс после многократного действия воздушной гипотермии представлены в таблице 4.4.

Показатели системы гемостаза у крыс сразу по завершении
30-дневного 3-часового холодого воздействия воздухом

Параметр	Контроль (n=10)	Опыт (n=10)	p
Количество тромбоцитов, $10^9/л$	552,5 [538,7÷575,2]	530,0 [460,5÷565,5]	<0,05
Агрегация, отн.ед	20,2[16,1÷27,9]	4,4 [2,6÷7,0]	<0,01
Силиконовое время, с	103,0 [72,7÷131,5]	272,0 [239,5÷296,5]	<0,001
АПТВ, с	16,4 [15,3÷16,9]	15,5 [14,8÷15,7]	>0,05
Протромбиновое время, с	16,6 [15,9÷18,9]	24,1 [22,4÷24,7]	<0,05
РФМК, мг/ 100 мл	3,0 [3÷3]	3,0 [3,0÷3,7]	>0,05
Фибриноген, г/л	1,4[1,3÷1,5]	1,3[1,2÷1,6]	>0,05
ВПФМ, г	2,4[2,2÷2,9]	2,9[2,6÷3,1]	<0,05
АТ III, %	102,8 [93,1÷113,0]	78,2 [77,3÷78,9]	<0,05
Эуглобулиновый фибринолиз, мин	350,0 [290,0÷392,5]	245,5 [200,9÷300,2]	<0,05
СТ, с	180,5 [147,5 ÷ 190,7]	250,0 [226,0÷ 270,0]	<0,05
СФТ, с	80,0 [66,5 ÷ 104,2]	105,0 [97,0 ÷ 124,0]	<0,05
ML, %	37,0 [29,0 ÷ 46,0]	57,5 [42,7 ÷ 61,7]	<0,05

Примечание: данные представлены в виде Me – медиана выборки; [25÷75] – проценти выборки; *n* – число наблюдений; *p* – уровень статистической значимости различий сравниваемых показателей. АПТВ - активированное парциальное тромбопластиновое время; РФМК - растворимые фибрин-мономерные комплексы; ВПФМ, г - время полимеризации растворимых фибрин-мономерных комплексов; АТ III - антитромбин III; СТ – время коагуляции; СФТ – время образования сгустка; ML – максимальный лизис.

Как следует из таблицы, ежедневное нахождение животных в охлаждающей камере сопровождалось незначительным (на 10%) снижением количества

тромбоцитов при выраженном (в 3,2 раза) снижении их агрегационной активности ($p < 0,01$).

Со стороны плазменного гемостаза регистрировался гипокоагуляционный сдвиг в контактной фазе свертывания и на внешнем пути активации коагуляционного гемостаза, что проявлялось в удлинении силиконового и протромбинового времен свертывания в 2,5 ($p < 0,01$) и 1,3 раза соответственно ($p < 0,05$).

Показатели, характеризующие конечный этап свертывания, также свидетельствовали о смещении гемостатического потенциала в сторону гипокоагуляции, что подтверждалось удлинением ВПФМ на 20% ($p < 0,05$) на фоне неизменного количества фибриногена.

Лабораторные показатели, оценивающие параметры свертывающей системы крови, подтверждались данными тромбоэластометрии. Так, показатели, отражающие общее время свертывания и время формирования сгустка, были увеличены на 38% и 31% ($p < 0,05$) соответственно.

При этом, концентрация антитромбина III на 30-й день экспериментального воздействия снижалась на 25% ($p < 0,05$).

Наряду с этим, время лизиса эуглобулинового сгустка, характеризующая активность фибринолитической системы, уменьшалось в 1,4 раза, что свидетельствовало о её активации ($p < 0,05$). Аналогичные изменения регистрировались и по данным тромбоэластометрии. Так, показатель, характеризующий процент наступившего лизиса сгустка, к моменту окончания записи графика в группе опытных животных увеличивался на 55% ($p < 0,05$), что также свидетельствовало об активации фибринолитической системы.

В качестве примера представлены тромбоэластограммы, полученные у животных из контрольной (рис. 4.7) и опытной (рис. 4.8) групп.

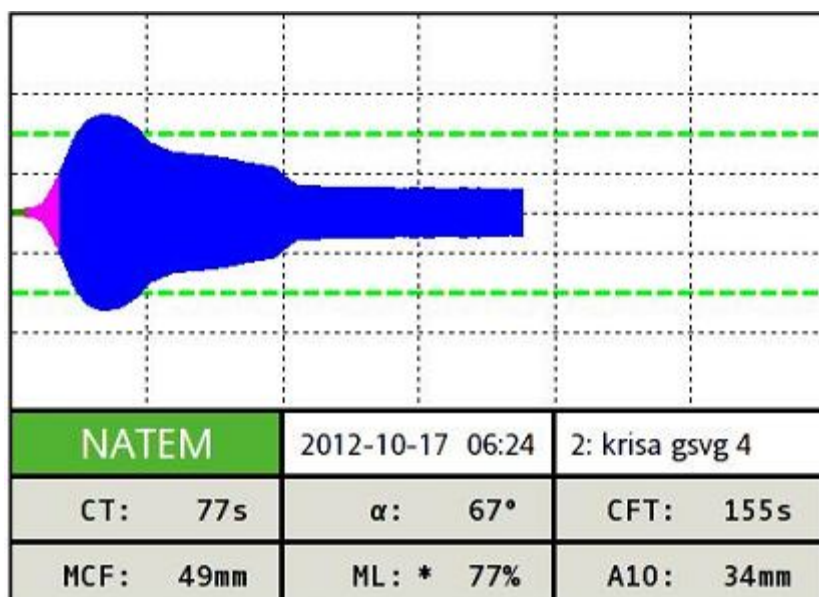


Рисунок 4.7 Тромбоэластограмма (контрольная группа, животное №4), зарегистрированная сразу по завершении 30-дневной 3-часовой экспозиции при температуре +22 °С

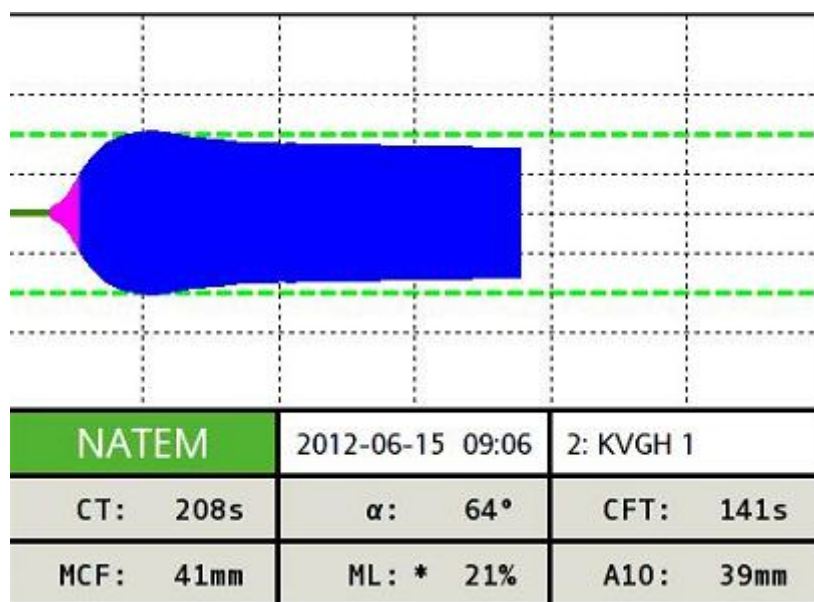


Рисунок 4.8 Тромбоэластограмма (опытное группа, животное №1), зарегистрированная сразу по завершении 30-дневной 3-часовой экспозиции при температуре -25 °С

Таким образом, многократное действие гипотермии оказывало влияние на все компоненты гемостаза. Так, сосудисто-тромбоцитарный компонент гемостаза реагировал снижением количества тромбоцитов и выраженным угнетением

агрегационной способности кровяных пластинок. Совокупность показателей, зарегистрированных при оценке коагуляционного гемостаза, также демонстрировала развитие гипокоагуляционного сдвига в плазме крови опытных животных на всех путях свертывания. В результате 30-дневных 3-х часовых холодových воздействий концентрация антитромбина III снижалась. Со стороны фибринолитической системы регистрировалось существенное повышение ее активности.

4.2.2. Влияние многократной воздушной гипотермии на систему гемостаза у крыс через сутки после окончания ежедневного охлаждения на протяжении 30 дней

В экспериментах направленных на оценку отставленного влияния многократной гипотермии на систему гемостаза в качестве показателя, характеризующего процесс развития долговременной адаптации, также производилось измерение массы тела экспериментальных животных на протяжении месяца тренировок (рис. 4.9). Достоверное снижение массы тела выявлялось на первой неделе экспериментального воздействия (максимально выраженное на 7-й день), что подтверждает литературные данные о развитии периода «незавершенной долговременной адаптации», приходящегося на 3–9 дни стрессорного воздействия [4].

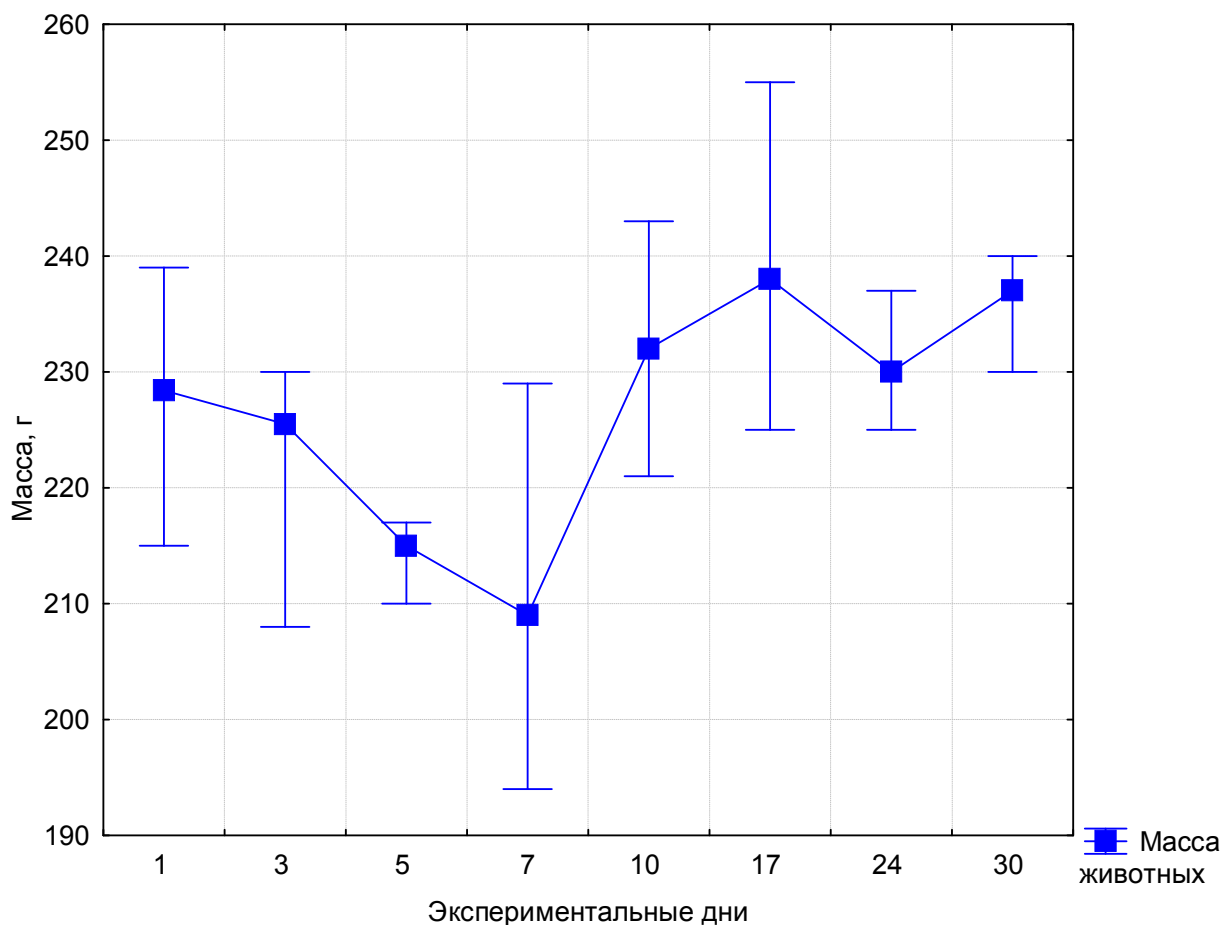


Рисунок 4.9 Динамика массы тела крыс в ходе 30-дневного цикла ежедневных охлаждений в воздушной среде

Примечание: * - достоверность отличий между исходной массой тела крыс и зарегистрированной в процессе 30-дневного иммерсионного гипотермического воздействия

Кроме того, в ходе всего экспериментального воздействия нами регистрировалась ректальная температура до и после завершения охлаждения (рис. 4.10). Так, из рисунка видно, что охлаждение в первый экспериментальный день сопровождалось снижением ректальной температуры на $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ до $31,2\pm 1,2\text{ }^{\circ}\text{C}$. С 3-го по 10-й экспериментальный день наблюдалось последовательное уменьшение выраженности снижения ректальной температуры у животных. Это приводило к тому, что к окончанию очередного эксперимента на 10-й день ректальная температура после охлаждения достоверно (на $6\text{ }^{\circ}\text{C}$) превышала таковую в 1-й экспериментальный день. Последующие воздействия (в интервале с 10-го по 30-й день) сопровождалось дальнейшим уменьшением выраженности

падения ректальной температуры. На 17-й день ректальная температура после охлаждения снижалась лишь на 2 °С, а с 24-го дня отличия в исходном и конечном значениях ректальной температуры перестали быть достоверными, стабилизировавшись на величине $38,6 \pm 0,4$ °С.

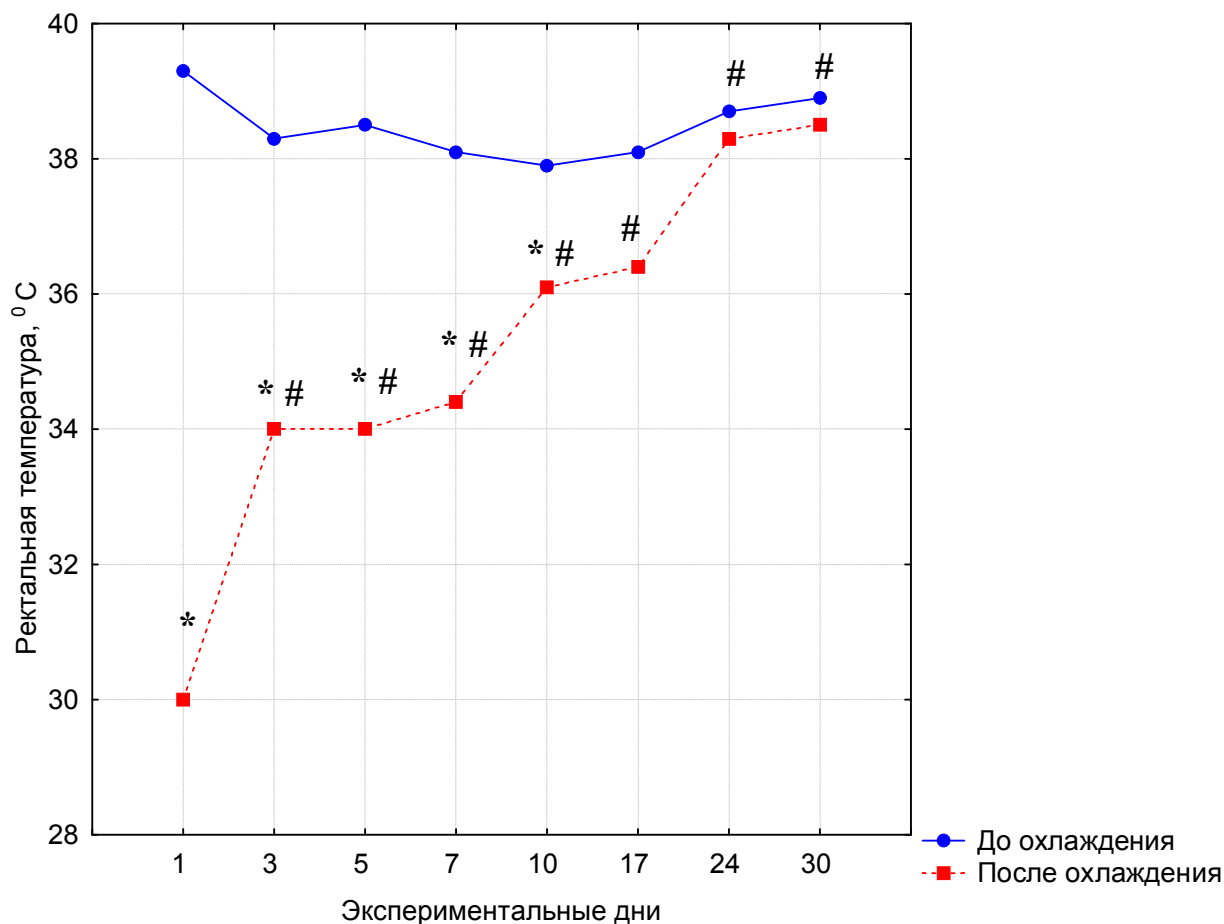


Рисунок 4.10 Динамика ректальной температуры до и после охлаждения при ежедневном 30-дневном воздушном холодом воздействии у крыс

Примечание: * - достоверность отличий до и после охлаждения; # - достоверность отличий между ректальной температурой, достигнутой в 1-й и последующие дни эксперимента.

Таким образом, ежедневные 30-дневные охлаждения приводят к развитию адаптивных изменений в реакции на холод, что проявляется в отсутствии падения ректальной температуры в ответ на охлаждение начиная с 24-го дня воздействия.

Обнаруженные изменения являются подтверждением развития у крыс долговременной адаптации на холодное воздействие.

Результаты исследования показателей системы гемостаза у крыс по истечении 24 часов после окончания 30–дневной воздушной гипотермии представлены в таблице 5.

Таблица 4.5

Показатели системы гемостаза у крыс через сутки после окончания ежедневного охлаждения на протяжении 30 дней в воздушной среде

Параметр	Контроль (n=10)	Опыт (n=10)	p
Количество тромбоцитов, 10 ⁹ /л	471,5 [429,2÷498,7]	492,5 [416,5÷504,2]	> 0,05
Агрегация, отн.ед	17,2 [9,8÷23,7]	25,0 [12,3÷31,6]	> 0,05
Силиконовое время, с	192,5 [162,5÷218]	282,5 [245,7÷297,5]	< 0,01
АПТВ, с	16,6 [15,9÷18,6]	15,6 [15,0÷16,6]	> 0,05
Протромбиновое время, с	23,3 [20,5÷23,6]	23,7 [22,8÷24,4]	> 0,05
РФМК, мг/ 100 мл	3,0 [3,0÷3,0]	3,0 [3,0÷3,0]	> 0,05
Фибриноген, г/л	1,6 [1,4÷1,8]	1,9 [1,6÷2,2]	> 0,05
ВПФМ, г	2,4 [1,7÷2,5]	1,7 [1,3÷1,8]	> 0,05
АТ III, %	92,9 [81,4÷100]	89,7 [84,7÷98,9]	> 0,05
Эуглобулиновый фибринолиз, мин	320,0 [190,0÷392,5]	290,0 [290,0÷440,0]	> 0,05
СТ, с	184,0 [149,0÷217,2]	189,5 [182,5÷207,7]	> 0,05
СФТ, с	55,0 [42,0÷99,0]	73,5 [63,5÷95,5]	> 0,05
ML, %	36,0 [1,0÷73,0]	28,0 [14,0÷33,7]	> 0,05

Примечание: данные представлены в виде Me – медиана выборки; [25÷75] – процентилю выборки; n – число наблюдений; p – уровень статистической значимости различий сравниваемых показателей. АПТВ- активированное парциальное тромбопластиновое время; РФМК- растворимые фибринономерные комплексы; ВПФМ, г- время полимеризации растворимых фибринономерных комплексов; АТ III- антитромбин III; СТ – время коагуляции; СФТ – время образования сгустка; ML – максимальный лизис.

Как видно из таблицы, по окончании суток после завершения цикла ежедневных охлаждений на протяжении 30 дней в воздушной среде, в системе гемостаза были зафиксированы лишь единичные сдвиги.

Развитие гипокоагуляционного сдвига было зарегистрировано лишь со стороны плазменного гемостаза. Так, силиконовое время, характеризующее контактную фазу свертывания, удлинялось на 60% ($p < 0,01$). Показатели конечного этапа свертывания через сутки после окончания экспериментального воздействия не изменились.

В качестве примера представлены тромбоэластограммы, полученные у животных из контрольной (рис. 4.11) и опытной (рис. 4.12) групп.

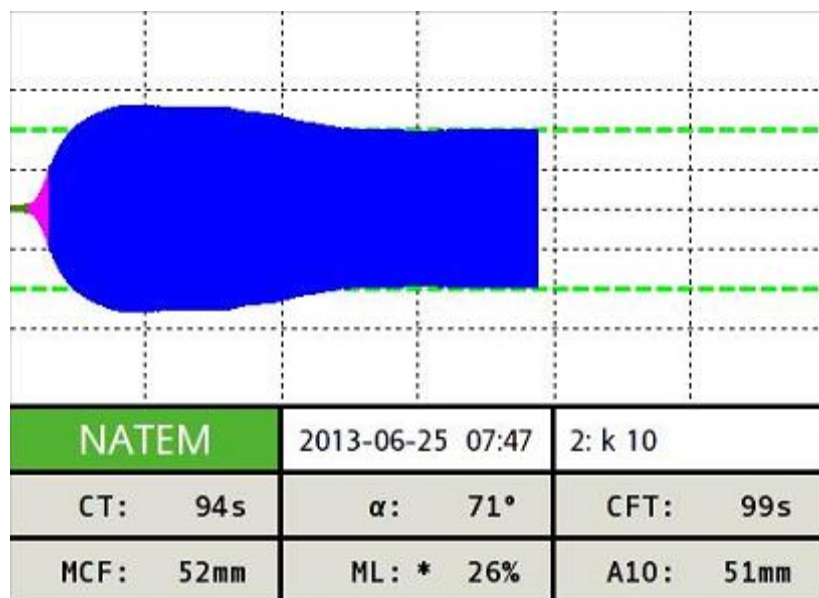


Рисунок 4.11 Тромбоэластограмма (контрольная группа, животное № 10), зарегистрированная через сутки после ежедневной 30-дневной 3-часовой экспозиции при температуре +22 °С

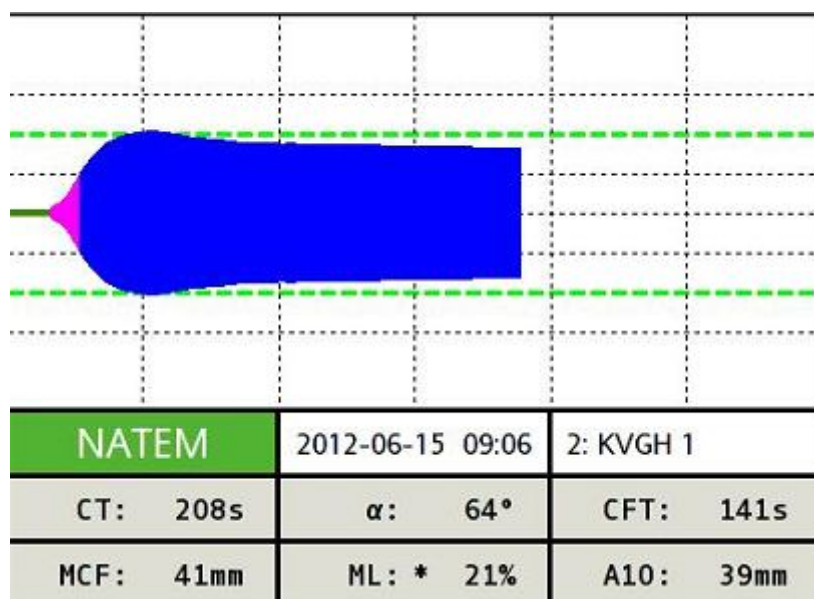


Рисунок 4.12 Тромбоэластограмма (опытное группа, животное № 1), зарегистрированная через сутки по завершении 30-дневной 3-часовой экспозиции при температуре $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$

Таким образом, отставленный эффект многократной гипотермии не сопровождался развитием ответной реакции со стороны сосудисто-тромбоцитарного гемостаза. Нечувствительными к действию холода также оказались внутренний, внешний и конечный пути активации гемокоагуляции, антикоагулянтное звено и фибринолитическая система плазмы крови.

Наиболее чувствительными компонентами, при рассмотрении отставленного действия многократной гипотермии, оказались контактная фаза и конечный этап свертывания плазмы крови.

Отсутствие значимых гемостатических сдвигов в кровотоке животных подтверждалось данными тромбоэластограммы, по результатам которой, не было зафиксировано статистически значимых различий между группами.

ГЛАВА 5. ОЦЕНКА ТРЕНИРУЮЩИХ ЭФФЕКТОВ РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ ГИПОТЕРМИИ

Для подтверждения выводов, сделанных в 3 и 4 главе относительно развития процессов долговременной адаптации у животных, подвергавшихся многократному холодовому воздействию водной и воздушной среды, нами были проведены эксперименты, направленные на выявление адаптационных резервов, сформировавшихся в ходе 30-дневного гипотермического воздействия.

Оценка наличия адаптационных резервов, сформировавшихся в ходе воздействия воздушной гипотермии, осуществлялась по нижеописанной схеме. В качестве предшествующих нагрузок использовалась многократная воздушная гипотермия, моделируемая путем ежедневного помещения животных на 3 часа в индивидуальных клетках в охлаждающую камеру при температуре воздуха $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$, в течение 30 дней. На 31-й день животные при той же температуре находились в камере на протяжении 6 часов. Данное время воздействия превосходило тренировочный режим вдвое.

В качестве группы сравнения нами была выбрана группа экспериментальных животных, подвергавшаяся однократному гипотермическому воздействию, на протяжении того же времени (6 часов).

Для оценки адаптационных резервов, сформировавшихся в ходе воздействия иммерсионной гипотермии, нами была выполнена следующая серия экспериментов. В качестве предшествующих нагрузок использовалась иммерсионная гипотермия, моделируемая путем ежедневного помещения животных на 40 минут в индивидуальных клетках в воду при температуре воды $+5\text{ }^{\circ}\text{C}$, воздуха $+7\text{ }^{\circ}\text{C}$, в течение 30 дней. На 31-й день животные помещались в индивидуальных клетках в воду при той же температуре находились в камере на протяжении 55 минут. Данное время воздействия

было выбрано в связи с тем, что при однократном воздействии за это время животными достигалась критическая ректальная температура $+10... +16$ °С.

В качестве группы сравнения нами была выбрана группа экспериментальных животных, подвергавшаяся однократному гипотермическому воздействию, на протяжении того же времени (55 минут).

Изменения в системе гемостаза оценивали по состоянию тромбоцитарного и коагуляционного гемостаза, а также состоянию антикоагулянтной и фибринолитической систем по описанным во 2 главе методикам.

Для оценки формирования устойчивости организма к действию стрессора на протяжении всего месяца в ходе эксперимента нами регистрировалась масса и ректальная температура, достигнутая животными за этот временной промежуток.

5.1. Влияние 3-х и 6-ти часового холодого воздействия после предшествующих 3-х часовых гипотермических нагрузок в течение 30 дней на систему гемостаза в воздушной среде

На всем протяжении предварительной 30-дневной подготовки животных к проведению тестовой 6-часовой холодной нагрузки измерялась масса тела и ректальная температура до и после 3-х часового охлаждения. Эти же параметры измерялись и на 31-й экспериментальный день до и после 6-часового холодого воздействия (рис. 5.1 и 5.2). Достоверное снижение массы тела выявлялось на первой неделе экспериментального воздействия (максимально выраженное на 5-й день), что подтверждает литературные данные о развитии периода «незавершенной долговременной адаптации», приходящегося на 3–9 дни стрессорного воздействия []. Дальнейшие измерения массы тела демонстрировали увеличение данного показателя с 24-го дня. Это приводило к тому, что на 30-й день регистрировалось достоверное увеличение массы тела по сравнению с исходным весом

животных. Выявленная нами динамика совпадает с описанной ранее динамикой массы тела (см. Глава 4 п. 4.2.1).

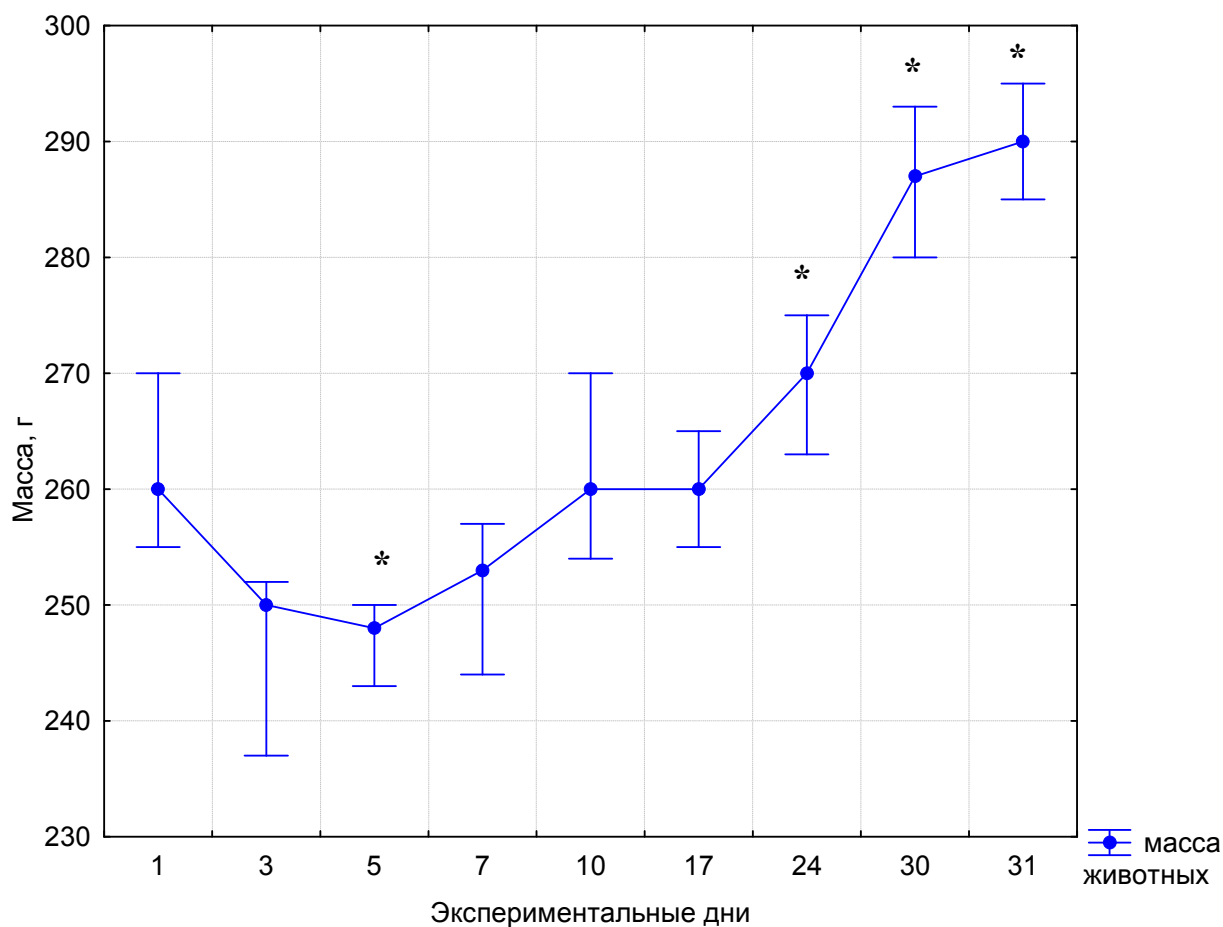


Рисунок 5.1 Динамика массы тела крыс в ходе 31-дневного цикла ежедневных охлаждений в воздушной среде.

Примечание: * - достоверность отличий между исходной массой тела крыс и зарегистрированной в процессе 31-дневного воздушного гипотермического воздействия

Кроме того, для выявления тренирующего влияния гипотермии на организм в ходе всего эксперимента нами регистрировалась ректальная температура животных как до, так и после охлаждения.

На рисунке 5.2 представлена динамика ректальной температуры экспериментальных животных. Так, из рисунка видно, что в 1-й день температура ядра снижалась на 6,8 °С и достигала $32,0 \pm 0,3$ °С. В последующие дни (с 3-го по 10-й день) наблюдалось менее выраженное

снижение температуры ядра. Это приводило к тому, что к окончанию очередного эксперимента на 10-й день ректальная температура после охлаждения достоверно (на $4,7\text{ }^{\circ}\text{C}$) превышала таковую в 1-й экспериментальный день. Последующие воздействия приводили к всё менее выраженному падению температуры ядра тела в результате общего переохлаждения. Так, начиная с 17-го дня достоверных отличий в величине ректальной температуры до и после охлаждения установлено не было. В результате на 30-й день температура за 3 часа охлаждения снижалась лишь на $1,0\text{ }^{\circ}\text{C}$ и достигала $38,0 \pm 0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$. На 31-й экспериментальный день животные подвергались общему переохлаждению в течение 6 часов. В результате этого воздействия температура ядра снижалась лишь на $2\text{ }^{\circ}\text{C}$ достигая $37,5 \pm 0,2\text{ }^{\circ}\text{C}$, что достоверно также не отличалось от значения ректальной температуры до начала охлаждения.

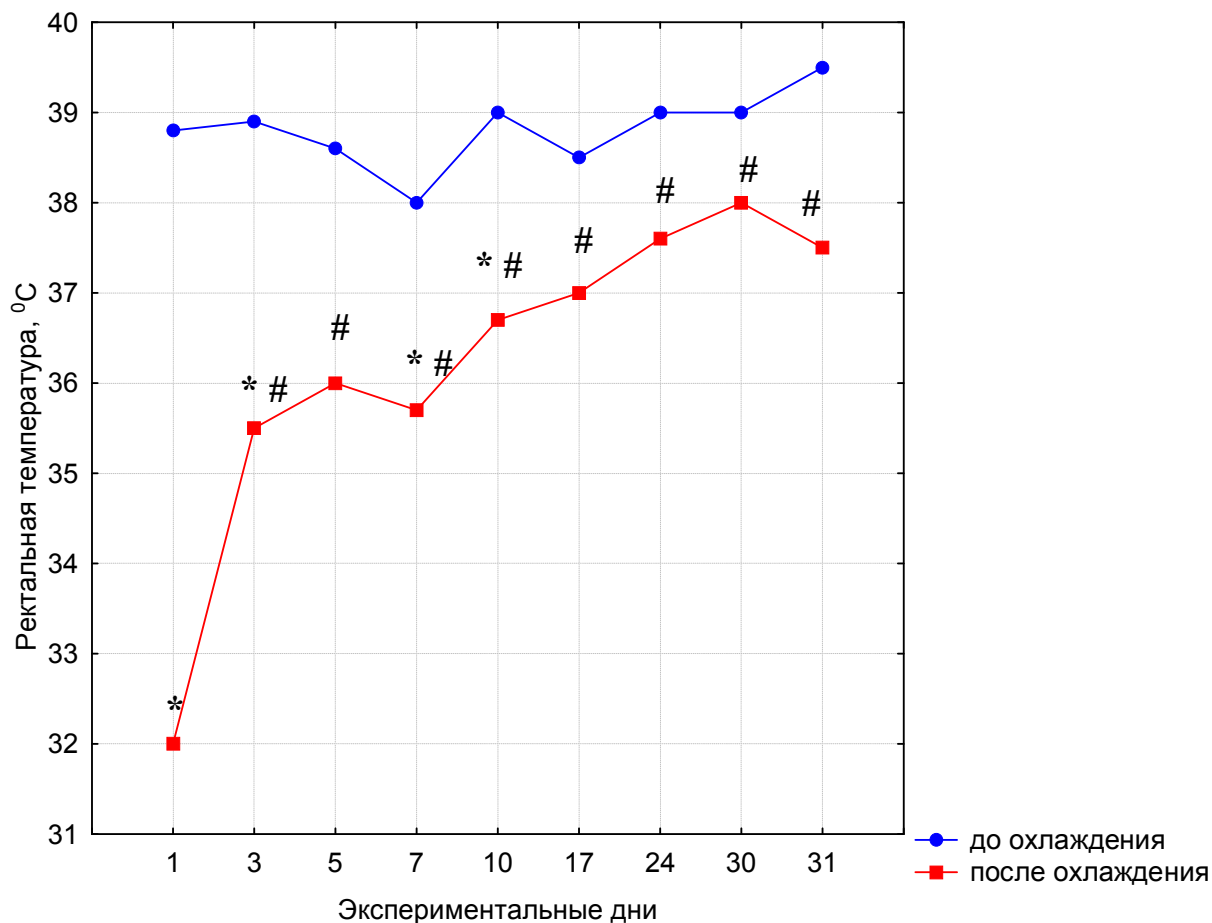


Рисунок 5.2 Динамика ректальной температуры до и после охлаждения при ежедневном 31-дневном воздушном холодом воздействии у крыс.

Примечание: * - достоверность отличий до и после охлаждения; # - достоверность отличий между ректальной температурой, достигнутой в 1-й и последующие дни эксперимента.

Представленные данные демонстрируют сохранение физиологически допустимой температуры ядра по окончании охлаждения, в 2 раза превышающего однократную величину, на фоне предварительного 30-дневного 3-часового охлаждения в воздушной среде.

В то же время, однократное воздействие у нетренированных животных в течение 6 часов приводило к снижению температуры ядра до +30 °C (см. Глава 4, Раздел 4.1.1). Таким образом, предварительное 30-дневное 3-часовое охлаждение в воздушной среде способствовало, по данным массы тела и ректальной температуры, формированию стойких адаптивных изменений,

обеспечивающих удержание показателей на приемлемом физиологическом уровне.

Результаты исследования показателей системы гемостаза у крыс сразу по завершении 6-часового охлаждения при предварительном 30-дневном охлаждении в течение 3 часов воздушной гипотермией представлены в таблице 5.1.

Таблица 5.1

Сравнение показателей системы гемостаза при 3-х и 6-ти часовом холодном воздействии после предшествующих 3-х часовых гипотермических нагрузок в течение 30 дней

Параметр	Контроль 1* (n= 10)	Опыт 1* (n= 10)	Контроль 2* (n= 10)	Опыт 2* (n= 10)	p
Количество тромбоцитов, 10 ⁹ / л	552,5 [538,7÷575,2]	558,0 [460,5÷565,5] (Δ-10%)	540,5 [530,2±555,3]	478,0 [460,2÷497,5] (Δ-15%)	p ₁₋₂ <0,05 p ₃₋₄ <0,05
Агрегация, отн.ед	20,2 [16,1÷27,9]	4,4 [2,6÷7,0] (Δ-80%)	20,5 [17,5±26,4]	25,0 [20,0,÷42,9]	p ₁₋₂ <0,01 p ₃₋₄ <0,01
Силиконовое время, с	103,0 [72,7÷131,5]	272,0 [239,5÷296,5] (Δ+164%)	150,3 [125,2±158,2]	375,0 [270,÷411,0] (Δ+200%)	p ₁₋₂ >0,05 p ₃₋₄ <0,001
АПТВ, с	16,4 [15,3÷16,9]	15,5 [14,8÷15,7]	16,4 [15,4±17,0]	15,6 [14,6÷15,6]	p ₁₋₂ >0,05 p ₃₋₄ >0,05
Протромбиновое время, с	16,6 [15,9÷18,9]	24,1 [22,4÷24,7] (Δ+45%)	17,0 [16,2±19,4]	23,8 [22,9÷24,3] (Δ+40%)	p ₁₋₂ >0,05 p ₃₋₄ <0,05
РФМК, мг/ 100 мл	3,0 [3,0 ÷ 3,0]	3,0 [3,0÷3,7]	3,0 [3,0±3,0]	3,0 [3,0÷3,0]	p ₁₋₂ >0,05 p ₃₋₄ >0,05
Фибриноген, г/л	1,4 [1,3÷1,5]	1,3 [1,2÷1,6]	1,7 [1,5±1,8]	1,5 [1,3÷1,8]	p ₁₋₂ <0,05 p ₃₋₄ >0,05
ВПФМ, г	2,4 [2,2÷2,9]	2,9 [2,6÷3,1] (Δ+20%)	2,3 [2,1±2,4]	1,9 [1,8÷2,3] (Δ-18%)	p ₁₋₂ <0,05 p ₃₋₄ <0,05
АТ III, %	102,8 [93,1÷113,0]	78,2 [77,3÷78,9] (Δ-25%)	100,7 [95,4±116,2]	80,0 [72,6÷81,4]	p ₁₋₂ >0,05 p ₃₋₄ <0,05

Продолжение таблицы 5.1

Эуглобулиновый фибринолиз, мин	350,0 [290,0÷392,5]	245,5 [200,9÷300,2] (Δ-30%)	315,4 [290,4±340,6]	250,2 [234,7÷287,5] (Δ-21%)	p ₁₋₂ <0,001 p ₃₋₄ <0,05
СТ, с	180,5 [147,5 ÷ 190,7]	250,0 [226,0 ÷ 270,0] (Δ+38%)	190,3 [148,4±210,1]	258,0 [203,0÷282,0] (Δ+35%)	p ₁₋₂ <0,05 p ₃₋₄ <0,05
CFT, с	80,0 [66,5 ÷ 104,2]	105,0 [97,0 ÷ 124,0] (Δ+31%)	77,5 [65,5±88,6]	74,0 [63,0÷82,0]	p ₁₋₂ <0,05 p ₃₋₄ <0,05
ML, %	37,0 [29,0 ÷ 46,0]	57,5 [42,7 ÷ 61,7] (Δ+55%)	40,0 [34,2±50,2]	60,0 [56,0÷72,0] (Δ+50%)	p ₁₋₂ <0,05 p ₃₋₄ <0,05

Примечание: данные представлены в виде Me – медиана выборки; [25÷75] – процентиля выборки; Δ - прирост показателя, %; *n* – число наблюдений; *p* – уровень статистической значимости различий сравниваемых показателей. 1* - кровь животных сразу после извлечения из камеры по завершении 30-дневных воздействий, 2* - кровь животных сразу после извлечения из камеры на 31-й день при предшествующих 30-дневных воздействиях; АПТВ - активированное парциальное тромбопластиновое время; РФМК - растворимые фибрин-мономерные комплексы; ВПФМ, г - время полимеризации растворимых фибрин-мономерных комплексов; АТ III - антитромбин III; СТ – время коагуляции; CFT – время образования сгустка; ML – максимальный лизис.

Из данных, приведенных в таблице, следует, что по окончании последнего 3-х часового холодого воздействия 30-дневного цикла (группа опыт₁) в кровотоке наблюдалось незначительное снижение количества тромбоцитов. По окончании 6-часового воздействия (группа опыт₂), после предшествовавших ежедневных 30-дневных охлаждений, количество тромбоцитов также оставалось ниже уровня, зафиксированного в контрольной группе. Агрегационная активность тромбоцитов при оценке данных режимов гипотермического воздействия претерпевала существенные изменения. Так, сразу по окончании 3-х часового воздействия (группа опыт₁) агрегационная активность тромбоцитов существенно снижалась, в то время как, по истечении 6-ти часов (группа опыт₂) показатель агрегации возвращался к уровню контрольных значений.

Со стороны плазменного гемостаза в обоих случаях регистрировались гипокоагуляционные сдвиги. Так, увеличивались показатели силиконового времени свертывания, характеризующего контактную фазу гемокоагуляции, и протромбинового времени, характеризующего внешний путь активации гемостаза. Общая направленность гемостатических процессов подтверждалась и данными тромбоэластографии. Совокупность показателей тромбоэластографии, таких как СТ (время коагуляции) и CFT (время формирования сгустка), зарегистрированных сразу по окончании 3-часового воздействия (группа опыт₁), свидетельствовала о развитии гипокоагуляционных сдвигов.

Изменения на конечном этапе при сравнении действия 3-х и 6-часовой гипотермии носят разнонаправленный характер. Так, сразу по окончании 3-х часового гипотермического воздействия (группа опыт₁) нами регистрировалось увеличение времени самосборки фибрин-мономерных комплексов, что свидетельствовало о развитии гипокоагуляционных сдвигов на конечном этапе. При оценке 6-часового воздействия гипотермии (группа опыт₂), напротив, регистрировалось уменьшение времени полимеризации фибрин-мономерных комплексов, что свидетельствовало о смещении гемостатического потенциала в сторону гиперкоагуляции. Данные тромбоэластографии подтверждают выявленные изменения. По истечении 6-часового воздействия помимо развития

умеренной гипокоагуляции, по данным тромбозластограммы уменьшается время образования сгустка, что подтверждается тестом по определению времени полимеризации фибрин-мономерных комплексов.

Концентрация АТ III как по истечении 3-х часов (группа опыт₁), так и сразу после окончания 6-часового воздействия была снижена (группа опыт₂).

Активность фибринолитической системы, как после окончания 3-х, так и 6-часового воздействия была выше уровня контроля, что также подтверждалось данными тромбозластографии.

Таким образом, гемостазиологическая картина, зарегистрированная по истечении 6-ти часов, существенным образом не отличалась от совокупности показателей, зарегистрированных при 3-х часовом воздействии. Отсутствие выраженных гемостазиологических сдвигов при двукратном увеличении силы стрессирующего фактора свидетельствует о достаточном резерве адаптационных возможностей системы, сформированном в ходе предшествующих холодовых нагрузок, для поддержания нормального функционирования организма в целом.

5.2. Влияние 40- и 55-минутного холодового воздействия после предшествующих 40-минутных гипотермических нагрузок в течение 30 дней на систему гемостаза в водной среде

На всем протяжении предварительной 30-дневной подготовки животных к проведению тестовой 55-минутной холодовой нагрузки измерялась масса тела и ректальная температура до и после 40-минутного охлаждения. Эти же параметры измерялись и на 31-й экспериментальный день до и после 55-минутного холодового воздействия (рис. 5.3 и 5.4).

Достоверное снижение массы тела выявлялось на первой неделе экспериментального воздействия (максимально выраженное на 5-й день), что подтверждает литературные данные о развитии периода «незавершенной долговременной адаптации», приходящегося на 3–9 дни стрессорного воздействия [4]. Дальнейшие измерения массы тела демонстрировали возвращение

исследуемого показателя к исходным значениям на 10-й день. Однако, начиная с 17-го дня, нами вновь регистрировалось последовательное снижение массы экспериментальных животных. Так, на 24-й день, масса животных снижалась на 12% от исходной величины. К окончанию эксперимента (на 30-й день) регистрировалось еще более выраженное снижение массы тела относительно исходной величины данного показателя. Вторичное снижение массы тела, зафиксированное после 10-го дня эксперимента, свидетельствует о срыве начавшихся процессов адаптации, зафиксированных в первую декаду ежедневных гипотермических нагрузок в результате истощения функциональных резервов организма под действием непрекращающегося выраженного холодового воздействия.

Кроме того, для выявления адаптационного влияния гипотермии на организм в ходе всего эксперимента нами регистрировалась ректальная температура животных, до и после охлаждения.

На рисунке 5.4 представлена динамика ректальной температуры экспериментальных животных. Так, из рисунка видно, что в 1-й день температура ядра снижалась на $12,1^{\circ}\text{C}$ и достигала $24,0 \pm 0,3^{\circ}\text{C}$. В последующие дни (с 3-го по 10-й день) наблюдалось менее выраженное снижение температуры ядра. Это приводило к тому, что, уже начиная с 7-го дня ректальная температура, достигнутая после охлаждения достоверно, превышала величину, зафиксированную в первый экспериментальный день. К окончанию очередного эксперимента на 10-й день ректальная температура после охлаждения достоверно (на $10,3^{\circ}\text{C}$) превышала таковую в 1-й экспериментальный день, показав наивысшую абсолютную температуру тела ($34,0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$) после охлаждения. При дальнейшем продолжении эксперимента нами было зафиксировано все более выраженное падение температуры ядра. Так, на 17-й день ректальная температура после охлаждения достигала $31,2 \pm 0,3^{\circ}\text{C}$. На 24-й и 30-й экспериментальные дни величина ректальной температуры, достигнутая после охлаждения, еще более снижалась и не отличалась от показателя в 1-й экспериментальный день, составляя $28,2 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$ и $27,5 \pm 0,3^{\circ}\text{C}$ соответственно. Таким образом, описанная динамика снижения температуры в результате

многократного охлаждения организма крыс свидетельствовала о срыве адаптационных процессов, регистрируемом после 10-го дня ежедневных воздействий.

На 31-й экспериментальный день животные подвергались общему переохлаждению в течение 55 минут. В результате этого воздействия температура ядра снижалась на 22,4 °С и достигала $12,3 \pm 0,2$ °С, что существенно (в 2 раза) отличалось от значения ректальной температуры, достигнутой в результате охлаждения в первый экспериментальный день и в 2,2раз - на 30-й день. Такое резкое снижение температуры при увеличении времени воздействия на 15 минут может быть расценено, как свидетельство неспособности организма эффективно сопротивляться гипотермии на фоне выявленного выше срыва адаптационных процессов.

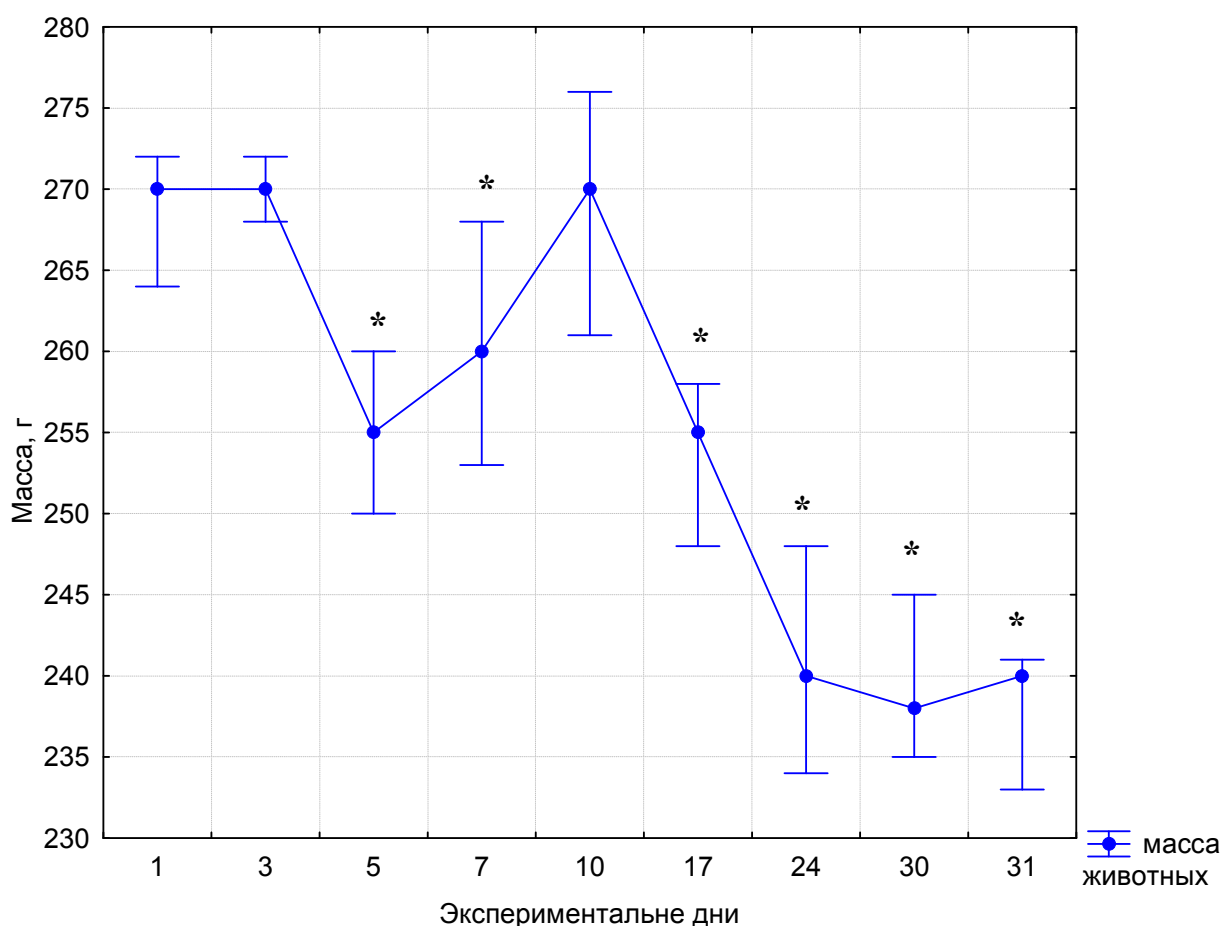


Рисунок 5.3 Динамика массы тела крыс в ходе 31-дневного цикла ежедневных охлаждений в водной среде

Примечание: * - достоверность отличий между исходной массой тела крыс и зарегистрированной в процессе 31-дневного иммерсионного гипотермического воздействия

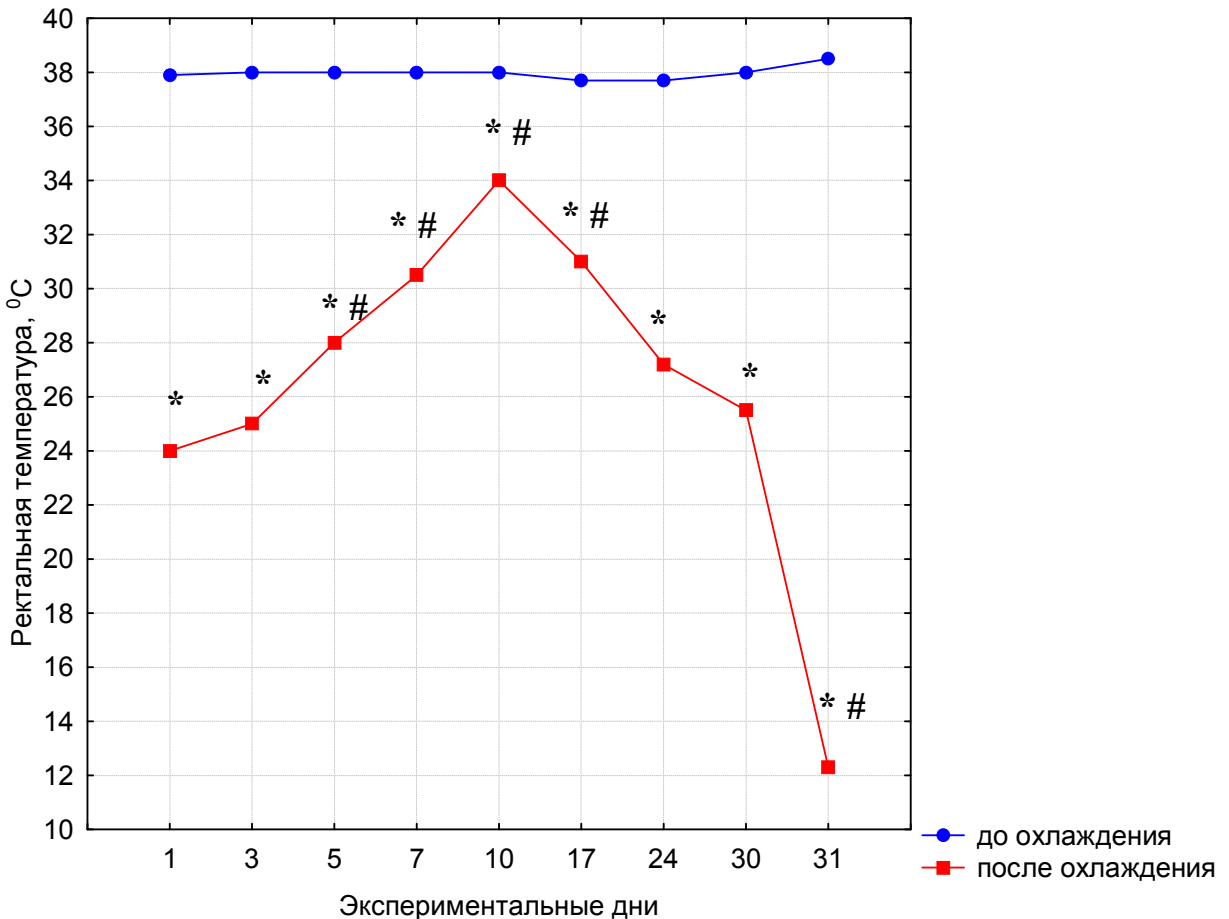


Рисунок 5.4 Динамика ректальной температуры до и после охлаждения при ежедневном 31-дневном холодом иммерсионном воздействии у крыс

Примечание: * - достоверность отличий до и после охлаждения; # - достоверность отличий между ректальной температурой, достигнутой в 1-й и последующие дни эксперимента.

Таким образом, совокупность описанных изменений, зарегистрированных при оценке массы тела и ректальной температуры экспериментальных животных свидетельствует о развитии срыве адаптационных процессов по истечении первой декады ежедневных воздействий. Выявленная неспособность организма удерживать относительное постоянство температуры тела при увеличении продолжительности температурного воздействия на 31-й день эксперимента подтверждает отсутствие адаптационных резервов.

Результаты исследования показателей системы гемостаза у крыс сразу по завершении многократного действия иммерсионной гипотермии представлены в таблице 5.2.

Таблица 5.2

Сравнение показателей системы гемостаза при 40- и 55-ти минутном холодом воздействии после предшествующих 40-минутных гипотермических нагрузок в течение 30 дней в водной среде

Параметр	Контроль 1* (n= 10)	Опыт 1* (n= 10)	Контроль 2* (n= 10)	Опыт 2* (n= 10)	p
Количество тромбоцитов, 10 ⁹ / л	515,5 [324,7÷532,7]	472,0 [431,7÷515,2]	530,2 [490,4±550,2]	542,0 [488,2÷566,0]	p ₁₋₂ <0,05 p ₃₋₄ <0,05
Агрегация, отн.ед	22,9 [21,9÷25,4]	8,3 [6,8÷10,3]	20,1 [18,5±22,3]	18,1[16,3÷35,3]	p ₁₋₂ <0,01 p ₃₋₄ <0,01
Силиконовое время, с	330,0 [259,0÷334,0]	375,0 [307,5÷397,5]	300,0 [287,2±324,0]	77,5 [59,2÷99,0]	p ₁₋₂ >0,05 p ₃₋₄ <0,001
АПТВ, с	15,0 [13,3÷15,7]	40,0 [35,4÷42,2]	15,0 [13,1±16,0]	21,5 [16,7÷23,5]	p ₁₋₂ >0,05 p ₃₋₄ >0,05
Протромбиновое время, с	27,6 [26,4÷29,4]	35,5 [24,4÷26,3]	25,0 [23,2±27,0]	19,5 [18,2÷25,8]	p ₁₋₂ >0,05 p ₃₋₄ <0,05
РФМК, мг/ 100 мл	3,0 [3,0÷3,0]	15,0 [13,0÷16,0]	3,0 [3,0±3,0]	16,2 [14,0÷19,8]	p ₁₋₂ >0,05 p ₃₋₄ >0,05
Фибриноген, г/л	2,5 [2,1÷2,7]	1,3 [1,2÷1,6]	2,6 [2,4±2,7]	1,7 [1,6÷1,7]	p ₁₋₂ <0,05 p ₃₋₄ >0,05
ВПФМ, г	1,8 [1,7÷2,0]	2,7 [2,4÷2,9]	1,7 [1,6±1,9]	1,8 [1,6÷1,9]	p ₁₋₂ <0,05 p ₃₋₄ <0,05
АТ III, %	97,1 [88,0÷115,1]	60,4 [55,1÷64,3]	100 [97,0±102,2]	75,9[74,2÷77,2]	p ₁₋₂ >0,05 p ₃₋₄ <0,05
Эуглобулиновый фибринолиз, мин	240,0 [171,2÷297,5]	657,5 [645,2÷670,2]	256 [220,0±275,3]	937,5 [868,0÷1351,5]	p ₁₋₂ <0,001 p ₃₋₄ <0,05

Продолжение таблицы 5.2

СТ, с	298,5 [278,5±323,2]	356,0 [332,0±415,0]	285,2 [270,4±295,2]	131,0 [105,0÷230,0]	$p_{1-2} < 0,05$ $p_{3-4} < 0,05$
CFT, с	88,5 [78,7±99,5]	112,5 [85,7±132,2]	80,0 [75,4±86,2]	53,5 [40,2÷70,0]	$p_{1-2} < 0,05$ $p_{3-4} < 0,05$
ML, %	93,0 [77,0±98,0]	29,0 [14,5±70,7]	87,2 [77,4±93,5]	46,0 [34,0 ÷ 63,0]	$p_{1-2} < 0,05$ $p_{3-4} < 0,05$

Примечание: данные представлены в виде Me – медиана выборки; [25÷75] – процентиля выборки; Δ - прирост показателя, %; n – число наблюдений; p – уровень статистической значимости различий сравниваемых показателей. 1^* - кровь животных сразу после извлечения из камеры по завершении 30-дневных воздействий, 2^* - кровь животных сразу после извлечения из камеры на 31-й день при предшествующих 30-дневных воздействиях; АПТВ - активированное парциальное тромбопластиновое время; РФМК - растворимые фибрин-мономерные комплексы; ВПФМ, г - время полимеризации растворимых фибрин-мономерных комплексов; АТ III - антитромбин III; СТ – время коагуляции; CFT – время образования сгустка; ML – максимальный лизис.

Как видно из данных, представленных в таблице, количество тромбоцитов не изменялось, как сразу по окончании последнего 40-минутного холодового воздействия 30-дневного цикла (группа опыт₁), так и по окончании 55 минут нахождения животных в холодной воде, после предварительного 30-дневного цикла охладений (группа опыт₂). Наряду с этим было отмечено выраженное угнетение агрегационной активности кровяных пластинок сразу по окончании 40-минутного охлаждения (группа опыт₁), тогда как по истечении 55 минут (группа опыт₂) агрегационная активность тромбоцитов возвращалась к исходному уровню и не отличалась от контрольных значений.

Со стороны плазменного гемостаза были отмечены существенные отличия, зарегистрированные между 1 и 2 опытными группами. Так, силиконовое время свертывания, характеризующее активность контактной фазы гемокоагуляции, сразу по окончании 40-минутного воздействия не отличалось от значения показателя в контрольной группе. В тоже время, сразу по окончании 55-минутного воздействия было отмечено резкое укорочение этого же показателя, что свидетельствовало о развитии гиперкоагуляции на начальном этапе свертывания. Аналогичную направленность демонстрировали и показатели, характеризующие внешний и внутренний пути активации гемостаза. Так, сразу по окончании 40-минутного воздействия АПТВ увеличивалось, а по окончании 55-минутного воздействия укорачивалось, что свидетельствовало о первоначальном гипокоагуляционном сдвиге на внутреннем пути активации с последующим переходом его в гиперкоагуляцию. Показатель протромбинового времени сразу по окончании 40-минутного воздействия увеличивался, а по окончании 55-минутного охлаждения - укорачивался, что также свидетельствовало о развившейся во втором случае гиперкоагуляции на внешнем пути активации. При оценке конечных этапов свертывания был установлен возросший уровень РФМК сразу по окончании 40-минутного воздействия. При увеличении продолжительности холодового воздействия исследуемый показатель оставался на высоком уровне. При оценке времени самосборки фибрин-мономерных комплексов сразу по окончании 40-минутного охлаждения было установлено

увеличение данного показателя, в то время как по истечении 55 минут время полимеризации возвращалось к уровню контрольных значений.

Общую направленность гемостатических процессов оценивали по данным тромбозластографии. Так, при оценке 40-минутного охлаждения (группа опыт₁) отмечалось смещение гемостатического потенциала плазмы крови в сторону гипокоагуляции, что подтверждалось увеличением времени свертывания (СТ) и времени формирования сгустка (СФТ). Напротив, при оценке 55-минутного холодого воздействия (группа опыт₂) отмечалось укорочение времени коагуляции и времени образования сгустка, что свидетельствовало о развитии гиперкоагуляционных сдвигов.

Концентрация АТ III была снижена, как при оценке влияния 40-минутного охлаждения, так и при оценке воздействия длительностью 55 минут.

Активность фибринолитической системы также была снижена как при оценке 40-минутного, так и при оценке 55-минутного охлаждения.

Таким образом, гемостатическая картина, зафиксированная сразу по окончании последнего 40-минутного холодого воздействия 30-дневного цикла (группа опыт₁), характеризовалась тромбинемией на фоне гипокоагуляционных сдвигов, снижением концентрации антикоагулянтов и торможением активности фибринолитической системы. Описанная гемостазиологическая картина подострого ДВС-синдрома свидетельствует об отсутствии адаптационных эффектов ежедневной 40-минутной иммерсионной гипотермии на гемостаз. Более того, циркуляция в кровотоке большого количества РФМК при уменьшении концентрации антикоагулянтов и выраженном угнетении активности фибринолитической системы свидетельствует о функционировании системы гемостаза на пределе своих функциональных возможностей.

У животных второй опытной группы сразу после извлечения из воды, по истечении 55 минут, сохранившийся высокий уровень РФМК усугублялся развитием гиперкоагуляционного сдвига на обоих путях активации плазменного гемостаза. Со стороны антикоагулянтов и фибринолитической системы

отмечалась та же динамика параметров, что и в первой экспериментальной группе (снижение уровня АТ III и снижение литической активности плазмы крови).

Таким образом, дальнейшее усугубление в течении картины подострого ДВС-синдрома, зарегистрированное у животных опытной группы, при дальнейшем увеличении продолжительности холодового воздействия (группа опыт₂) свидетельствует об отсутствии адапционных резервов в системе гемостаза, позволяющих противостоять увеличению параметров стрессорного воздействия. Выявленный факт подтверждает высказанное ранее предположение о срыве адапционных процессов, развивающемся в ходе многократного иммерсионного холодового воздействия.

ГЛАВА 6. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Проблемы исследования механизмов развития, оценки и прогнозирования ответной реакции организма и его резистентности к воздействию различных экстремальных факторов связаны с необходимостью решения целого ряда как теоретических, так и сугубо практических вопросов. Важнейшей задачей является выявление параметров реагирования системы на действие экстремального фактора и определение границ нормы реакции. Немаловажным является и определение силы экстремального фактора, вызывающей смещение гомеостатических механизмов и развитие эу- и дистрессорной реакции. Кроме того, немаловажным остается и выяснение адаптационных механизмов к действию экстремальных факторов. Изучение реакций отдельных систем гомеостатирования и формирования целостных представлений о реакции организма на действие раздражителя является необходимым для формирования научно обоснованных подходов к профессиональному отбору контингентов для работы в экстремальных условиях, обоснования критериев профессионального риска, нормативов работы в условиях профессиональной вредности и др. [98].

В развитие острой ответной реакции на холод включаются все органы и системы. Однако, ключевым звеном, обеспечивающим адекватное функционирование организма в условиях гипотермии является сердечно-сосудистая система [6, 7, 75]. В то же время, основным компонентом, обеспечивающим адекватность трофики тканей, является система гемостаза. Ранее показано, что выраженность ответной реакции, а также степень вовлеченности этой системы зависит от скорости отдачи тепла, физико-химических свойств среды, вызывающей переохлаждение, а также уровня ректальной температуры, достигнутой в ходе переохлаждения [43, 95, 116]. Рядом авторов показано, что гипотермия может сопровождаться гипокоагуляционными нарушениями в системе гемостаза или, напротив, выступать в роли мощного повреждающего фактора, способствующего развитию

ДВС-синдрома [15, 16, 109]. Определение критериев риска развития тромботических или гемофилических осложнений в различные периоды гипотермии и постгипотермии, их тяжесть, а также возможность формирования адаптивных изменений со стороны системы гемостаза на действие холода на организм делает данный вопрос актуальным.

Поскольку общее состояние организма, а также метаболические сдвиги определяются уровнем температуры ядра организма, следующий раздел содержит информацию о динамике параметров гемостаза в зависимости от величины ректальной температуры, достигнутой по мере усугубления действия гипотермии.

6.1. Влияние однократного охлаждения на состояние системы гемостаза крыс

Для изучения изменения основных показателей системы гемостаза и влияния на них скорости отдачи тепла, физико-химических свойств среды, вызывающей переохлаждение, использовались модели экспериментального воздействия в воздушной и водной средах. Так как фактором, определяющим течение ответной реакции организма в ответ на гипотермию, является уровень ректальной температуры, достигнутый в ходе переохлаждения, все опытные животные были поделены нами на группы в зависимости от уровня ректальной температуры, достигнутой в ходе воздействия. В качестве объекта исследования были выбраны крысы линии Wistar, как наиболее устойчивые к стрессорным повреждениям сердечно-сосудистой системы.

Динамика изменения показателей системы гемостаза у крыс по мере снижения температуры ядра в процессе однократного иммерсионного гипотермического воздействия

Использование иммерсионной модели охлаждения позволило дозировать степень гипотермии, в результате чего было сформировано 4 группы

экспериментальных животных. Из данных, приведенных в таблице 6.1, следует, что, по мере увеличения времени гипотермического воздействия и, как следствие, снижения уровня ректальной температуры, в кровотоке животных наблюдались разнонаправленные изменения со стороны системы гемостаза.

При последовательном снижении температуры ядра наблюдалось последовательное ухудшение гемостатического статуса экспериментальных животных и переход эустрессорной реакции в состояние дистресса. Так, при достижении мягкой степени гипотермии регистрировалась благоприятная для сохранения трофики тканей гемостазиологическая картина, выражавшаяся в незначительном росте количества тромбоцитов, сопровождавшемся снижением их агрегационной активности. Кроме того, регистрировались выраженные гипокоагуляционные сдвиги в контактной фазе и на внешнем пути коагуляции. Улучшению гемореологических свойств также способствовало увеличение активности фибринолитической системы. Описанная динамика гемостазиологических показателей в ответ на однократное переохлаждение и достижение мягкой степени гипотермии соответствует состоянию эустресса со стороны системы гемостаза, выявленному при действии стрессоров другой природы [111].

Дальнейшее охлаждение и достижение умеренной степени гипотермии сопровождалось резким ухудшением гемостатического статуса экспериментальных животных. На фоне сохранившегося повышенного количества тромбоцитов было зарегистрировано выраженное (в 9 раз) увеличение их агрегационной способности. Резко возросший уровень РФМК и уменьшение времени их самосборки приводили к развитию состояния тромботической готовности у экспериментальных животных. Усугубляло претромботическое состояние выраженное (в 2 раза) угнетение активности фибринолитической системы. О неадекватности силы раздражителя и переходе эустрессорной реакции в дистресс также свидетельствовало уменьшение уровня главного антикоагулянта в ответ на общее переохлаждение. Описанная картина в целом также соответствует изменениям в состоянии системы гемостаза, описанным при

однократном действии стрессоров другой природы, характеризующей развитие дистресса при превышении эустрессорных параметров раздражителя [111, 112].

При дальнейшем снижении температуры ядра и достижении глубокой степени гипотермии агрегационная активность тромбоцитов оставалась высокой. В кровотоке по-прежнему регистрировались РФМК, хотя и в более низких концентрациях. О сохранении состояния тромботической готовности свидетельствовало существенное снижение активности фибринолитической системы.

Достижение экспериментальными животными критической температуры тела при сверхглубокой степени гипотермии сопровождалось исчезновением маркеров тромбинемии. При этом опасность развития тромботического состояния сохранялась. Об этом свидетельствовало увеличение тромбогенности плазмы крови экспериментальных животных, обусловленное существенным уменьшением количества АТ III и еще более выраженным угнетением фибринолитической системы.

Таким образом, последовательное охлаждение экспериментальных животных сопровождалось переходом ответной реакции системы гемостаза из состояния эустресса в дистресс. Так, минимальное по силе экспериментальное воздействие приводило к формированию состояния эустресса у опытных животных, характеризующееся гипоагрегацией, гипокоагуляцией и активацией фибринолиза. Дальнейшее охлаждение характеризовалось развитием дистрессорной ответной реакции организма в ответ на гипотермию. «Переломной» стадией являлась умеренная степень гипотермии, поскольку она сопровождалась развитием тромбинемии и угнетением литической активности плазмы крови. Дальнейшее охлаждение не только не снижало состояние дистресса, но и в еще большей степени его усугубляло. Об этом свидетельствовало последовательное угнетение активности фибринолитической системы на фоне высокой концентрации РФМК и нарастающего количества фибриногена.

Динамика приростов показателей системы гемостаза у крыс по достижении ректальной температуры различной величины

Показатели (прирост)	Мягкая гипотермия (+32... +35 °С) (n= 10)	Умеренная гипотермия (+27... +30 °С) (n= 13)	Глубокая гипотермия (+20... +23 °С) (n= 23)	Сверхглубокая гипотермия (+10... +16 °С) (n= 13)
Количество тромбоцитов, 10 ⁹ / л	559,5 [516,5÷599,2] (Δ+5%)	588,0 [548,0÷641,0] (Δ+15%)	572,0 [552,5÷638,0]	643,0 [596,0÷691,0] (Δ+16%)
Агрегация, отн.ед	3,1 [2,6÷4,1] (Δ-46%)	56,0 [33,6÷74,1] (Δ+835%)	47,7 [31,6÷72,7] (Δ+851%)	4,5 [2,5÷7,5]
Силиконовое время, с	215,0 [210,5÷243,0] (Δ+176%)	136,0 [130÷155]	137,0 [109,0÷157,5]	150,5 [120,7÷180,7]
АПТВ, с	20,0 [19,4÷22,9]	17,4 [16,3÷26,2]	19,0 [17,3÷23,5] (Δ+72%)	20,7 [18,5÷21] (Δ+180%)
Протромбиновое время, с	32,8 [27,4÷36,6] (Δ+45%)	25,3 [23,3÷28,3]	27,1[24,7÷28] (Δ+16%)	26,8 [25,6÷29,1] (Δ+16%)
РФМК, мг/ 100 мл	3,0 [3,0÷3,0]	5,5 [4,5÷5] (Δ+80%)	4,5 [4,0÷4,6] (Δ+50%)	3,0 [3,0÷4,2]
Фибриноген, г/л	2,2 [1,7÷2,3]	2,1[1,9÷2,2]	2,4 [2,1÷2,7]	2,8 [2,4÷3,4] (Δ+30%)

Продолжение таблицы 6.1

ВПФМ, r	2,2 [2,1÷2,3]	2,0 [1,6÷2,1] (Δ-20%)	1,7 [1,5÷1,8]	2,0 [1,8÷2,7]
АТ III, %	86,0 [74,3÷92,2]	70,0 [47,3÷109,0] (Δ-30%)	90,9 [79,2÷126,3]	77,2 [72,3÷78,7] (Δ-65%)
Эуглобулиновый фибринолиз, мин	215,5 [180,0÷247,0] (Δ-38%)	1248,0 [1212÷1248] (Δ+223%)	1248,0 [560÷1286,5] (Δ+279%)	1689,0 [1689,0÷1734,0] (Δ+377%)
СТ, с	324,0 [211,0 ÷ 340,0] (Δ+25%)	224,0 [221,0 ÷ 240,0]	246,0 [213,2 ÷ 264,5] (Δ+25%)	286,0 [233,2 ÷ 343,0] (Δ+38%)
СФТ, с	97,0 [92,0 ÷ 108,0]	57,0 [42,0 ÷ 68,0] (Δ-42%)	72,0 [63,0 ÷ 117,0]	84,0 [70,0 ÷ 95,0]
ML, %	49,0 [3,0 ÷ 56,0] (Δ+326%)	5,0 [0,0 ÷ 12,5] (Δ-67%)	0,0 [0,0 ÷ 0,0] (Δ-100%)	2,0 [0,0 ÷ 4,0] (Δ-90%)

Примечание: данные представлены в виде Me – медиана выборки; [25÷75] – процентиля выборки; *n* – число наблюдений; *p* – уровень статистической значимости различий сравниваемых показателей. АПТВ - активированное парциальное тромбопластиновое время; РФМК - растворимые фибрин-мономерные комплексы; ВПФМ, r - время полимеризации растворимых фибрин-мономерных комплексов; АТ III - антитромбин III; СТ – время коагуляции; СФТ – время образования сгустка; ML – максимальный лизис.

Анализ литературных данных по данной проблеме «частично проливает свет» на полученные в ходе экспериментов результаты. Так, динамика количества тромбоцитов по мере охлаждения организма вполне может быть обусловлена первоначальным выбросом катехоламинов в кровь при ранних стадиях гипотермии [108]. Дальнейшее незначительное увеличение числа красных кровяных телец при понижении температуры может быть объяснено гемоконцентрацией, вследствие увеличения проницаемости сосудов [119, 121, 124]. Агрегационная активность тромбоцитов по мере действия гипотермии изменяется разнонаправлено. Так, при действии мягкой гипотермии наблюдалось снижение активности тромбоцитов, которая может быть обусловлена выбросом в кровотоки простациклина. Дальнейшее охлаждение организма сопровождается развитием гемолитических процессов, продукты которых являются индукторами агрегации тромбоцитов [125, 126]. Кроме того, снижение температуры приводит к развитию спазма сосудов и повреждению эндотелия, в результате чего обнажаются волокна коллагена и повышается концентрация АДФ. Оба эти продукта также являются мощными активаторами тромбоцитов.

Динамика показателей внешнего и внутреннего путей свертывания остается не ясна. По-видимому, зарегистрированные гипокоагуляционные сдвиги обусловлены повышением активности α_2 -макроглобулина, являющегося основным ингибитором сериновых протеаз [73, 183]. Наряду с этим, по данным ряда авторов (Gong P., Zhang M. Y.) отмечается развитие вазоконстрикторных реакций в мягкую степень гипотермии, что может приводить к выбросу в кровотоки простациклина, под действием увеличения сдвига потока, что также может вызывать развитие гипокоагуляции в мягкую степень гипотермии. Дальнейшее снижение активности механизмов внутреннего и внешнего путей гемокоагуляции может быть обусловлено снижением активности ферментов при более выраженном понижении температуры тела [139].

РФМК являются маркерами тромбинемии и производными фибриногена. Появление их в кровотоке - важный диагностический признак, позволяющий своевременно отреагировать на развивающиеся гемостазиологические

расстройства. Пусковым механизмом в активации процессов тромбообразования является повреждение эндотелия сосудов и попадание в кровь тканевого тромбопластина. Показано, что при достижении ректальной температуры +27...+30 °С в течение гипотермии наступает период первичных структурных изменений [64, 66], характеризующийся расстройствами регионарного кровообращения и "физиологической ампутацией" конечностей [23, 31, 43]. При отграничении кровотока в поврежденных конечностях развиваются ишемические явления, сопровождающиеся выбросом в кровь активаторов процесса свертывания. Кроме того, в этом период наблюдается развитие холодового гемолиза и выброс в кровотоки ионов Ca^{2+} [68, 96], что также способствует сдвига гемостатического баланса в сторону гиперкоагуляции. При дальнейшем охлаждении организма наступает период декомпенсации адаптивных реакций организма, характеризующийся угнетением тканевого метаболизма, приводящего к прогрессированию полиорганной недостаточности [115, 121]. Терминальная степень гипотермии совпадает с периодом необратимых изменений, характеризующимся паралитическим расширением периферических сосудов и развитием тромбозов [128, 160]. Описанные данные могут в полной мере объяснить динамику изменения уровня маркеров тромбинемии, характеризующуюся появлением в кровотоке РФМК (в умеренную степень гипотермии) и последующее снижение их уровня в результате активных процессов тромбообразования (в глубокую и сверхглубокую степени гипотермии).

Активность фибринолитической системы ярко зависела от уровня ректальной температуры экспериментальных животных. Это выразалось в значительной активации фибринолиза при начальной степени гипотермии, которая в дальнейшем последовательно снижалась по мере увеличения длительности воздействия. Активность фибринолитической системы зависит от равновесия действия активаторов и ингибиторов на молекулы плазминогена. Так, рядом авторов (ФИО) показано, что неглубокое охлаждение сопровождается снижением активности ингибиторов плазминогена [166, 183]. Дальнейшее

охлаждение сопровождается депрессией фибринолиза [191]. Это является целесообразной реакцией организма, так как более глубокие охлаждения сопровождаются развитием "физиологической ампутации" конечностей и ДВС-синдромом, в этом случае торможение фибринолитической системы позволит отграничить поврежденные участки, исключив их из кровотока и минимизировав тем самым участки некроза тканей [109, 110].

Динамика изменения показателей системы гемостаза у крыс по мере снижения температуры ядра в процессе однократного воздушного гипотермического воздействия

Из представленных выше данных следует, что критической стадией перехода эустрессорной реакции в дистрессорную является умеренная степень гипотермии. Исходя из этого, при изучении действия однократной воздушной гипотермии на гемостаз нами был выбран режим, позволяющий охлаждать животных до указанной степени гипотермии.

Эксперименты с животными показали, что однократная воздушная гипотермия до достижения экспериментальными животными ректальной температуры $+30\text{ }^{\circ}\text{C}$ (умеренная степень гипотермии) сопровождалось увеличением числа кровяных пластинок и снижением их агрегационной способности в 9 раз (Глава 4, раздел 4.1.1., таблица 4.1). Наблюдаемые изменения в системе сосудисто-тромбоцитарного гемостаза согласуются с литературными данными, в которых описывается увеличение числа кровяных пластинок как реакция на катехоламины [109, 110, 112]. Кроме того, изменения количества тромбоцитов, вероятно, связаны с изменением объема циркулирующей крови и незначительной гемоконцентрацией, что обусловлено холодной полиурией и «выключением» из кровотока периферических сосудов в виду длительного действия охлаждения на организм (в среднем 6 часов). Увеличение числа тромбоцитов представляется как целесообразная реакция организма в ответ на холодное воздействие, так как тромбоциты принимают непосредственное

участие в репаративных процессах, наблюдающихся при повреждении ткани холодом, а также улучшают миграцию лейкоцитов к очагу воспаления.

Снижение агрегационной способности тромбоцитов при общем переохлаждении организма способствует сохранению реологических свойств крови, и, по-видимому, может быть обусловлено выбросом в кровоток простаглицина [148, 153, 162]. Следующая группа авторов [50, 102, 118] указывает на снижение ферментативного и медиаторного потенциала кровяных телец, вследствие чего снижается их способность к образованию агрегатов. На ингибирующее влияние холодого воздействия на агрегационную способность тромбоцитов указывает также значимое уменьшение АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов по достижении животными $+30\text{ }^{\circ}\text{C}$ ректальной температуры [179, 195]. Данное угнетающее воздействие можно рассматривать и как негативное действие гипотермии на организм, в виду того, что снижение агрегации приводит к невозможности адгезии тромбоцитов к поврежденной поверхности сосуда.

Со стороны коагуляционного гемостаза регистрировался гипокоагуляционный сдвиг на конечном этапе свертывания, характеризовавшийся удлинением тромбинового времени. Наряду с этим, наблюдалось снижение концентрации фибриногена и удлинение времени полимеризации фибрин-мономерных комплексов. По всей видимости, снижение тромбинового времени свертывания обусловлено снижением концентрации фибриногена в крови. Уменьшение концентрации фибриногена может быть связано с активацией процессов тромбообразования и преобразованием фибриногена в растворимые фибрин-мономерные комплексы [50]. Пусковым фактором, активирующим процессы тромбообразования, является травматизация эндотелия, вызванная повреждающим действием холода на ткани [18, 135, 147, 152]. В тоже время снижение температуры ядра замедляет течение метаболических процессов и снижает активность ферментов, что приводит к увеличению времени полимеризации растворимых фибрин-мономерных комплексов и уменьшает скорость образования тромба [118, 126].

Отсутствие изменений антикоагулянтной активности плазмы крови в ходе экспериментального воздействия, по-видимому, обусловлено отставленной активацией антикоагулянтной системы в гемостазиологических процессах.

Отдельный вклад в состояние гемостазиологической картины, возникающей в результате общего переохлаждения, вносит функциональное состояние фибринолитической системы, как компонента, обеспечивающего адекватную трофику тканей. Нами показано увеличение времени спонтанного лизиса эуглобулинов при общем переохлаждении. Снижение функциональной активности фибринолитической системы является адекватной и целесообразной реакцией организма, так как позволяет отграничить участки альтерации, возникающие при холодовом повреждении ткани, что позволит минимизировать в последующем участок некроза [108, 112, 165, 173]. Однако, о целесообразности данной реакции можно говорить лишь в случае локального тромбоза, находящегося в местах нарушения целостности ткани, так как при диссеминации процесса могут наблюдаться отдаленные тромбозы.

Влияние скорости охлаждения на состояние системы гемостаза у крыс в процессе однократных гипотермических воздействий

По данным Козыревой Т.В., Ткаченко Е.Я. развитие ответных метаболических реакций в ответ на действие холода зависит от скорости отдачи тепла. В связи с этим ниже представлена сравнительная характеристика гемостазиологических сдвигов, зарегистрированных по достижении умеренной степени гипотермии в различных средах, вызывающих переохлаждение (табл. 6.2).

При сравнении групп животных, достигших в ходе воздействия ректальной температуры $+30\text{ }^{\circ}\text{C}$ в воздушной и водной средах, было исследовано влияние скорости охлаждения на развитие гемореологических сдвигов. Так, при сравнении показателей, характеризующих сосудисто-тромбоцитарный гемостаз, было установлено увеличение количества тромбоцитов в обеих группах.

В то же время, быстрое охлаждение (водно-иммерсионный способ охлаждения) сопровождалось увеличением агрегационная способность кровяных пластинок. Напротив, агрегационная активность кровяных пластинок при медленной скорости охлаждения была в 8 раз ниже уровня контрольных значений.

Рост агрегационной способности тромбоцитов при быстром охлаждении, по-видимому, обусловлен выбросом в кровь катехоламинов. Увеличение содержания адреналина в кровотоке при стрессе способствует экспрессии рецепторного комплекса гликопротеина GPIIb-IIIa на поверхности тромбоцитов, что, в свою очередь, может приводить к повышению продукции тромбоксана A_2 тромбоцитами [109, 125, 126, 139]. Это в конечном итоге и приводит к гиперагрегации кровяных пластинок. Гипоагрегация, зарегистрированная при медленном охлаждении, может быть объяснена холодовым угнетением функции тромбоцитов, и общим снижением скорости ферментативных процессов в организме.

Оценка состояния конечных этапов свертывания также показала различия в гемостазиологических сдвигах при различной скорости охлаждения. Так, в группе с высокой скоростью охлаждения в кровотоке экспериментальных животных регистрировались РФМК при укорочении времени их самосборки, что характеризует смещение гемостатического потенциала крови в сторону гиперкоагуляции. По-видимому, помещение крыс в воду характеризуется формированием универсальной стресс-реакции на действие раздражителя, характеризующейся выбросом в кровь адреналина. Развитию дистрессорной реакции, характеризующейся состоянием тромботической готовности, способствует и более выраженная интенсивность воздействия водной среды. Высокая концентрация адреналина и других стресс-гормонов, а также обширный спазм сосудов с целью уменьшения теплоотдачи приводят к активации гемокоагуляции, в конечном счете приводящей к образованию производных фибриногена и тромбообразованию. Подтверждением развития состояния

дистресса является снижение концентрации АТ III, расходуемого в процессе нейтрализации активных факторов свертывания.

В группе с медленной скоростью охлаждения, напротив, регистрировался гипокоагуляционный сдвиг, характеризующийся снижением концентрации фибриногена и увеличением времени самосборки фибрин-мономерных комплексов. При охлаждении животных холодным воздухом переохлаждение наступает значительно медленнее, что сопровождается последовательной реализацией в организме защитных реакций. Известно, что универсальной реакцией на действие стрессора со стороны системы гемостаза является гиперкоагуляция, в то время как гипокоагуляционные сдвиги всегда вторичны [146]. По-видимому, зафиксированная нами гипокоагуляция на данной степени гипотермии, является результатом снижения уровня фибриногена активно потребляемого на предшествующих этапах охлаждения.

Активность фибринолитической системы была снижена в обеих группах, причем степень снижения активности не зависела от темпа охлаждения. Очевидно, что такая реакция со стороны фибринолитической системы является неспецифической на действие стрессора и является одним из проявлений развития дистресса [112, 113]. Угнетение литической активности плазмы крови является целесообразной реакцией организма при переохлаждении и способствует отграничению поврежденных участков от системного кровотока, с целью предохранения от диссеминации процессов свертывания.

Таким образом, описанные гемостазиологические картины свидетельствуют о выраженном влиянии скорости переохлаждения на формирование ответной реакции организма при действии гипотермии. Так, достижение ректальной температуры $+30\text{ }^{\circ}\text{C}$ при быстрой скорости охлаждения сопровождается выраженной активацией процессов свертывания и регистрацией состояния тромботической готовности. При медленном переохлаждении, по достижении ректальной температуры $+30\text{ }^{\circ}\text{C}$, регистрируются уже вторичные гипокоагуляционные сдвиги.

Динамика показателей системы гемостаза, с указанием приростов, у крыс по достижении умеренной степени гипотермии различными способами охлаждения

Параметр	Контроль ₁ * (n= 10)	Опыт ₁ * (n= 13)	Контроль ₂ * (n= 10)	Опыт ₂ * (n= 10)	p
Количество тромбоцитов, 10 ⁹ / л	511,0 [502,0÷554,0]	588,0 [548,0÷641,0] (Δ+15%)	534,5 [505,2÷556]	613,5 [602,7÷ 628,2] (Δ+14%)	p ₁₋₂ <0,05 p ₃₋₄ <0,05
Агрегация, отн.ед	6,7 [3,1÷19]	56,0 [33,6÷74,1] (Δ+835%)	19,9 [18,5 ÷ 20,4]	2,6 [1,4 ÷ 3,4] (Δ-130%)	p ₁₋₂ <0,01 p ₃₋₄ >0,05
Силиконовое время, с	122,0 [82,0÷148,0]	136,0 [130÷155]	225 [204,7 ÷238,7]	206,5 [200 ÷ 225]	p ₁₋₂ >0,05 p ₃₋₄ <0,01
АПТВ, с	15,4 [11÷16]	17,4 [16,3÷26,2]	16,3 [15,4 ÷ 17,3]	14,8 [14,3 ÷ 16,2]	p ₁₋₂ >0,05 p ₃₋₄ <0,01
Протромбиновое время, с	22,2 [21,8÷23,1]	25,3[23,3÷28,3]	21,9 [20,1 ÷ 22,7]	23,2 [21,8 ÷ 24,6]	p ₁₋₂ >0,05 p ₃₋₄ >0,05
РФМК, мг/ 100 мл	3,0 [3,0÷3,0]	5,5 [4,5÷5] (Δ+80%)	3,0 [3,0 ÷ 3,0]	3,0 [3,0 ÷ 3,0]	p ₁₋₂ >0,05 p ₃₋₄ <0,001
Фибриноген, г/л	2,1 [2,1÷2,2]	2,1[1,9÷2,2]	2 [1,7 ÷ 2,5]	1,5 [1,4 ÷ 1,6] (Δ-25%)	p ₁₋₂ <0,05 p ₃₋₄ <0,001
ВПФМ, г	1,8 [1,6÷2,1]	2,0 [1,6÷2,1] (Δ-20%)	2,1 [2,1 ÷ 2,4]	2,5 [2,1 ÷ 2,6] (Δ+19%)	p ₁₋₂ <0,05 p ₃₋₄ <0,01

Продолжение таблицы 6.2

АТ III, %	116,5 [114,2 ÷ 117,0]	70,0 [47,3 ÷ 109,0] (Δ-30%)	93,2 [86,4 ÷ 96,4]	94,8 [94 ÷ 97,3]	p ₁₋₂ > 0,05 p ₃₋₄ < 0,01
Эуглобулиновый фибринолиз, мин	558,0 [360,0 ÷ 558,0]	1248,0 [1212 ÷ 1248] (Δ+223%)	205,0 [205,0 ÷ 205,0]	529,0 [313,0 ÷ 529,0] (Δ+258%)	p ₁₋₂ < 0,001 p ₃₋₄ < 0,001
СТ, с	259,0 [227,5 ÷ 279,5]	224,0 [221,0 ÷ 240,0]	230,5 [214,2 ÷ 253,7]	289,0 [251,0 ÷ 300] (Δ+25%)	p ₁₋₂ < 0,05 p ₃₋₄ < 0,05
CFT, с	98,0 [82,0 ÷ 118,5]	57,0 [42,0 ÷ 68,0] (Δ-42%)	94,0 [86,5 ÷ 154,7]	113,0 [73,2 ÷ 150,5] (Δ+20%)	p ₁₋₂ < 0,05 p ₃₋₄ < 0,05
ML, %	15,0 [0,0 ÷ 20,5]	5,0 [0,0 ÷ 12,5] (Δ-67%)	88,0 [61,7 ÷ 90,0]	28,5 [14,7 ÷ 50,7] (Δ-70%)	p ₁₋₂ < 0,05 p ₃₋₄ < 0,01

Примечание: данные представлены в виде Me – медиана выборки; [25÷75] – процентиля выборки; Δ - прирост показателя, %; *n* – число наблюдений; *p* – уровень статистической значимости различий сравниваемых показателей. 1* - кровь животных сразу по достижении умеренной степени гипотермии при иммерсионном охлаждении, 2* - кровь животных сразу по достижении умеренной степени гипотермии при воздушном охлаждении; АПТВ - активированное парциальное тромбопластиновое время; РФМК - растворимые фибрин-мономерные комплексы; ВПФМ, г - время полимеризации растворимых фибрин-мономерных комплексов; АТ III - антитромбин III; СТ – время коагуляции; CFT – время образования сгустка; ML – максимальный лизис.

6.2. Состояние системы гемостаза крыс в постгипотермическом периоде

По данным литературы основные гемостазиологические нарушения, вызванные общим переохлаждением, проявляются не сразу по окончании гипотермического воздействия, а манифестируют в постгипотермическом периоде [156, 173, 180]. Для выявления отставленного влияния гипотермии на систему гемостаза исследовался гемостазиологический статус через сутки после окончания гипотермического воздействия при умеренной (охлаждение воздухом), глубокой и сверхглубокой степенях (охлаждение водой) гипотермии.

Подробно представленные в разделах 6.2.1, 6.2.2 и 6.2.3. данные, наглядно демонстрируют наличие существенных отличий в развитии ответной реакции системы гемостаза в постгипотермическом периоде в зависимости от длительности действия, скорости охлаждения и достигнутой при этом степени гипотермии.

По достижении умеренной степени гипотермии (ректальная температура $+30^{\circ}\text{C}$) при охлаждении воздухом наблюдалось угнетение агрегационной активности тромбоцитов, конечного этапа свертывания и снижение активности фибринолитической системы. В то же время, по истечении суток после прекращения однократного холодого воздействия гемостазиологический статус существенно ухудшался. Это проявлялось в развитии состояния тромботической готовности, что подтверждалось целым комплексом коагулологических и инструментальных исследований. Состояние животных усугублялось выраженным снижением литической активности плазмы крови и уменьшением концентрации АТ III.

В группе животных, достигших глубокой степени гипотермии (ректальная температура $+20... +23^{\circ}\text{C}$) сразу по ее достижении у крыс формировалась дистрессорная реакция со стороны системы гемостаза, что проявлялось в развитии состояния тромботической готовности (повышение агрегационной активности тромбоцитов, появлении в кровотоке РФМК и угнетении

фибринолитической активности плазмы крови). По истечении 24 часов после достижения глубокой степени гипотермии признаки состояния тромботической готовности уже не регистрировались. При этом небольшие гипокоагуляционные сдвиги, зафиксированные на обоих путях активации плазменного гемостаза, демонстрировали исчезновение дистрессорной реакции у экспериментальных животных по истечении суток после прекращения действия гипотермии.

В третьей группе животных, достигших более низких значений ректальной температуры (+10... +16 °С), сразу по ее достижении наблюдалось развитие гипокоагуляционных сдвигов, снижение концентрации АТ III на фоне повышения концентрации фибриногена и угнетения активности фибринолитической системы. Описанный гемостазиологический статус также в основном укладывается в картину формирования дистрессорной реакции в ответ на однократное действие раздражителя. Однако при этом отсутствуют маркеры тромбинемии. Появление маркеров внутрисосудистого свертывания было зарегистрировано лишь по истечении 24 часов на фоне еще более возросшей концентрации фибриногена. Появление в кровотоке РФМК демонстрирует не только усугубление дистресса, но и формирование состояния тромботической готовности.

Таким образом, при охлаждении воздухом (умеренная степень гипотермии, ректальная температура +30 °С) максимально выраженные неблагоприятные сдвиги в системе гемостаза, характеризующиеся ростом тромбогенности плазмы и угнетением фибринолитической активности, регистрируются у животных лишь через сутки после завершения воздействия. В то же время, у животных, подвергавшихся иммерсионной гипотермии, аналогичная картина по истечении суток регистрировалась только при достижении сверхглубокой степени гипотермии (ректальная температура +10... +16 °С). Менее выраженная степень гипотермии (ректальная температура +20... +23 °С), приводившая сразу по завершении охлаждения к развитию состояния тромботической готовности, через сутки после окончания экспериментального воздействия сопровождалась нормализацией большинства показателей, характерных для тромбинемии.

Охлаждение воздухом характеризуется большей длительностью воздействия и «выборочным» контактом незащищенных (оголенных) участков тела с охлаждающим агентом. Это сопровождается последовательным уменьшением объема микроциркуляторного русла, за счет последовательного отключения его сосудов от общего кровотока, что, с одной стороны, уменьшает теплоотдачу и способствует сохранению тепла в организме, а с другой стороны способствует развитию ишемических явлений и морфологической травме тканей. Триггерным механизмом в активации процессов свертывания и развитии состояния тромботической готовности в постгипотермическом периоде является холодовая травма (отморожения), характеризующаяся морфологической деструкцией ткани в виду повреждающего действия холода. При восстановлении температуры происходит расширение сосудов и попадание в кровоток большого количества десквамированных эндотелиальных клеток из ишемизированных тканей, обладающих мощным активирующим потенциалом [149, 158, 162, 175]. Кроме того, в результате длительного действия общего переохлаждения активируется иммунная система, что сопровождается появлением в кровотоке провоспалительных цитокинов, обладающих выраженной прокоагулянтной активностью [57, 58].

Охлаждение водой характеризуется контактом всей поверхности тела животного с охлаждающей средой, что сопровождается одномоментным спазмом периферических сосудов и равномерным снижением кровотока в поверхностных тканях [111, 128, 137, 146]. Столь мощное воздействие стрессора сопровождается выбросом в кровоток адреналина и, соответственно, активацией процессов свертывания [130, 156]. Однако, локальных травм, которым сопутствует нарушение морфологической структуры ткани, при этом не наблюдается.

Внутри группы с иммерсионной моделью охлаждения также наблюдались отличия в реакции системы гемостаза, связанные со степенью достигнутой гипотермии.

Достижение глубокой степени гипотермии сопровождалось гиперагрегацией и тромбинемией, однако через сутки наблюдалось восстановление

гемостазиологических параметров к норме. После извлечения животных из воды происходило восстановление микроциркуляции, однако, в виду отсутствия локальных повреждений активаторы свертывания распределялись равномерно по всему кровотоку, что не вызывало активации свертывания. Также, через сутки нами было показано возвращение литической активности плазмы крови к исходному уровню, что тоже отражает развитие компенсаторных изменений в системе гемостаза. Кроме того, можно предположить, что непродолжительное действие гипотермии не успевало привести к развитию функциональных изменений в работе внутренних органов (полиорганной недостаточности).

У животных, достигших сверхглубокой степени переохлаждения, в постгипотермическом периоде мы наблюдали развитие состояния тромботической готовности. Это, по-видимому, обусловлено развитием нарушений в работе внутренних органов в виду ряда причин. Снижение ректальной температуры до критических величин сопровождается развитием тотальной вазодилатации, приводящей к устремлению холодной крови к внутренним органам и, следовательно, повреждению их морфологической структуры. Вазодилатация также способствует наполнению шоковых органов кровью [87, 89, 94] и, по всей видимости, тромбированию сосудов. Вероятность развития тромбоза подтверждается снижением концентрации РФМК по мере увеличения степени гипотермии сразу после извлечения животных из воды, что может быть обусловлено их использованием для формирования тромба в микрососудах. Высказанное предположение подтверждается ростом РФМК в кровотоке через сутки.

6.3. Влияние многократного охлаждения на состояние системы гемостаза

Адаптация к холоду является интегральным процессом, в котором принимают участие в той или иной мере все органы и системы организма, однако

основные изменения направлены на сохранение и увеличение продукции тепла. Сохранению тепла в организме при адаптации к холоду способствует, прежде всего, уменьшение теплоотдачи с поверхности тела, что может достигаться различными способами [144, 150]. Кроме того, повышаются температурные пороги для возникновения дрожи и запуска ряда метаболических реакций, повышающих холодовую толерантность организма. Вопросам адаптации дыхательной, сердечно-сосудистой, эндокринной систем к действию холода посвящены многочисленные исследования [12, 30, 73, 83, 89, 96].

Немногочисленные работы, посвященные влиянию длительного воздействия холода на организм, не позволяют оценить влияние параметров гипотермического воздействия на развитие адаптационных изменений в системе гемостаза. В основном эти работы посвящены сравнительному анализу гемостатического статуса жителей коренных народов Севера и пришлых людей [3, 43, 100, 101, 102].

Все выше написанное обозначило цель нашего исследования, в ходе которого мы попытались установить влияние среды охлаждения и длительности воздействия на формирование адаптационных изменений в системе гемостаза к холоду.

В данный раздел вошло 2 блока исследований. Первый блок включает данные о системе гемостаза крыс при ежедневном 30-дневном 3-х часовом воздействии холодным воздухом. Во второй блок вошли экспериментальные группы, в которых ежедневное многократное воздействие в течение 30 дней моделировалось 40-минутным охлаждением в воде (температура воды +5 °С, воздуха +7 °С).

Сравнение результатов, отражающих состояние системы гемостаза сразу по окончании однократного охлаждения **воздухом** (раздел 4.1.1) и по истечении 30 дней ежедневных охлаждений в течение 3-х часов (раздел 4.2.1) позволил выявить адаптационный эффект гипотермического воздействия.

В разделе 4.1.1 показано, что однократная воздушная гипотермия, до достижения ректальной температуры +30 °С сопровождалась выраженной

гипоагрегацией, гипокоагуляцией на конечных этапах свертывания и значимым угнетением фибринолитической активности плазмы крови. 30-дневное действие гипотермии приводило к снижению количества тромбоцитов и гипоагрегации. Оценка коагуляционного гемостаза демонстрировала развитие гипокоагуляции в плазме крови опытных животных на всех путях свертывания. Кроме того, у этой же группы животных концентрация антитромбина III снижалась при существенном повышении активности фибринолитической системы. Таким образом, 30-дневное гипотермическое воздействие изменяет гемостазиологическую картину, зарегистрированную при однократном воздействии, что проявляется в существенном росте фибринолитической активности плазмы крови, а также снижении количества тромбоцитов и уровня антитромбина III. Данные изменения могут быть расценены как проявление долговременной адаптации на холодное воздействие.

Сравнение отставленных эффектов гипотермии после однократного и многократного холодных воздействий показало развитие гипокоагуляционного сдвига при оценке отставленного эффекта многократной гипотермии. Интерес к этим данным вызван тем, что в постгипотермическом периоде однократного холодного воздействия регистрировалось состояние тромботической готовности (раздел 4.1.2), являющееся угрозой развития внутрисосудистого свертывания крови, в то время как при оценке отставленного эффекта многократной гипотермии (раздел 4.2.2) регистрировалась гипокоагуляция лишь в контактной фазе свертывания плазмы крови.

Таким образом, показано, что многократное ежедневное воздействие **холодным воздухом** в течение 30 дней приводит к формированию устойчивости организма к повреждающему действию фактора и развитию в ответ на него эустрессорной реакции. По данным ряда работ [112] адаптационные изменения в системе гемостаза не зависят от природы стрессирующего фактора и характеризуются повышением свертывающего потенциала и усилением противосвертывающей и фибринолитической активности плазмы крови. Зарегистрированные нами изменения в реакции системы гемостаза как сразу

после окончания многократного воздействия, так и при оценке отставленного эффекта 30-дневной гипотермии свидетельствуют о повышении порога чувствительности к холоду, и, следовательно, развитии адаптационных изменений в системе гемостаза. Подтверждением развития адаптационных процессов в организме животных служит и тот факт, что в ходе 30-дневного эксперимента уже с 10-го дня возрастала масса тела животных. Динамика ректальной температуры также демонстрировала снижение чувствительности животных к холоду, что проявлялось в уменьшении выраженности падения ректальной температуры начиная с 10-го дня. О повышении устойчивости к действию стрессора свидетельствует и то, что с 24-го дня отличия в исходном и конечном значениях ректальной температуры перестали быть достоверными, стабилизировавшись на величине $38,6 \pm 0,4$ °С. Очевидно, что в ходе многократной гипотермии не только формируются адаптационные изменения, но и снижается стрессогенность действующего фактора.

Переохлаждение в **водной среде** имеет ряд особенностей, обуславливающих отличия в развитии ответной реакции организма при охлаждении в разных средах. В нашей работе показано, что достижение умеренной степени гипотермии (ректальная температура $+30$ °С) в водной среде сопровождается развитием гиперкоагуляционных сдвигов, в то время как при охлаждении воздухом регистрировалась гипокоагуляция. Существенные отличия в реакции системы гемостаза на действие стрессора одной силы, но разной интенсивности позволило предположить развитие специфических адаптационных реакций при действии воды.

Сравнение результатов, отражающих состояние системы гемостаза сразу по окончании однократного охлаждения **водой** до достижения глубокой гипотермии (раздел 3.1.3) и по истечении 30 дней ежедневных охлаждений в течение 40 минут (раздел 3.2.1) позволило выявить адаптационный эффект иммерсионного гипотермического воздействия.

Однократное иммерсионное переохлаждение животных до достижения ими глубокой степени гипотермии (ректальная температура $+20... +23$ °С)

сопровождалось гиперагрегацией, гипокоагуляцией на внешнем и внутреннем путях активации гемостаза на фоне остаточных признаков тромбинемии и выраженным угнетением фибринолитической активности плазмы крови экспериментальных животных. Сразу после извлечения из воды, по окончании цикла ежедневных 30-дневных охлаждений в крови опытных животных регистрировался возросший уровень РФМК на фоне снижения концентрации фибриногена при увеличении времени их полимеризации. Также наблюдался выраженный гипокоагуляционный сдвиг на всех путях свертывания. Состояние экспериментальных животных усугублялось снижением концентрации антитромбина III и выраженным угнетением активности фибринолитической системы. Описанная гемостазиологическая картина укладывается в клиническую картину течения подострой формы ДВС-синдрома.

Зафиксированные нами тяжелые гемостатические нарушения не исчезали и через сутки после прекращения 30-дневных охлаждений. В отличие от отставленного эффекта однократной гипотермии на организм, сопровождавшегося нормализацией параметров гемостаза, при оценке отставленного влияния многократной иммерсионной гипотермии в кровотоке сохранялась гемостазиологическая картина, свидетельствующая о течении подострого ДВС-синдрома.

Таким образом, признаки дистресса, выявленные при однократном воздействии, не только сохраняются, но и усугубляются по истечении 30 дней ежедневных охлаждений в водной среде.

Подтверждают развитие дистресса измерения массы тела и динамика ректальной температуры животных. Так, выявлено вторичное снижение массы тела, начиная с 10-го дня экспериментальных воздействий, что привело к статистически значимому снижению показателя к 30-му дню эксперимента. Кроме того, в ходе всего экспериментального воздействия регистрировалось снижение ректальной температуры по завершении охлаждения (раздел 3.2.1., рисунок 3.14). Так, охлаждение в первый экспериментальный день сопровождалось снижением ректальной температуры на $16,8 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$ до

абсолютной величины $21,4 \pm 0,3^{\circ}\text{C}$. С 3-го по 10-й экспериментальный день наблюдалось уже менее выраженное снижение ректальной температуры, что можно расценить как начальные проявления адаптивных процессов организма. Однако, начиная с 10-го дня вновь регистрировалось нарастание гипотермического состояния у опытных животных, что сопровождалось более выраженным падением ректальной температуры в ходе охлаждения. Это приводило к тому, что на 30-й день после извлечения животных из воды ректальная температура достоверно не отличалась от температуры, достигнутой при однократном холодовом воздействии. Наряду с зарегистрированными гемостазиологическими параметрами утрата способности животными поддерживать температуру ядра в рамках физиологической достаточности также свидетельствует о развитии дистресса.

Таким образом, результаты исследования состояния системы гемостаза, а также массы тела и ректальной температуры животных в ходе 30-дневного эксперимента позволяют предположить наличие срыва адаптационных процессов к иммерсионному холодовому воздействию данной интенсивности. Отсутствие развития долговременной адаптации у экспериментальных животных, на наш взгляд, обусловлено превышением силы стрессирующего фактора, вызывающего поломку адаптивных процессов при длительном воздействии.

При описании параметров гемостаза, зарегистрированных по истечении 30-дневных гипотермических воздействий, было установлено, что многократная воздушная гипотермия в выбранном нами режиме способствовала формированию долговременной адаптации. В то же время многократные иммерсионные гипотермические воздействия сопровождались развитием подострой формы ДВС-синдрома, что было расценено нами как срыв адаптационных процессов. Исходя из этого, две данные модели были использованы в дальнейшем в качестве предшествующих тренировочных нагрузок для последующего субмаксимального воздействия с целью описания гемостазиологических признаков, характеризующих наличие или отсутствие адаптационных резервов.

6.4. Влияние различных видов многократного охлаждения на развитие адаптационных эффектов в системе гемостаза

Для выявления **адаптационных резервов** при использовании **воздушной гипотермии**, сопровождавшейся формированием толерантности к холодовому воздействию, нами были проведены исследования с использованием тестовой 6-часовой нагрузки в качестве субмаксимального холодового воздействия.

Ранее нами было показано, что 30-дневные 3-х часовые ежедневные охлаждения в **воздушной среде** сопровождались повышением устойчивости крыс к холоду. Это подтверждалось сохранением ректальной температуры на приемлемом физиологическом уровне по истечении 3-х часов охлаждения. Для выявления адаптационных резервов, сформированных в ходе описанных выше 30-дневных холодовых тренировок, нами была проведена серия экспериментов, в ходе которых по завершении тренировочного процесса животные подвергались тестовой холодной нагрузке, превышающей в 2 раза по длительности тренировочную. В ходе экспериментов было установлено, что гемостазиологическая картина, зарегистрированная по истечении 6-ти часов, существенным образом не отличалась от совокупности показателей, зарегистрированных при 3-х часовом воздействии. Отсутствие выраженных гемостазиологических сдвигов при двукратном увеличении продолжительности стрессирующего фактора свидетельствует о формировании стойких адаптивных изменений, обеспечивающих удержание показателей на приемлемом физиологическом уровне.

Подтверждением развития адаптационных изменений служит и тот факт, что на 31-й экспериментальный день в результате 6-часового воздействия, как и при 3-х часовом воздействии холода, температура ядра снижалась лишь на $+2\text{ }^{\circ}\text{C}$, достигая $+37,5 \pm 0,2\text{ }^{\circ}\text{C}$, что достоверно не отличалось от значения ректальной температуры до начала охлаждения. Представленные данные демонстрируют сохранение физиологически допустимой температуры ядра по окончании

охлаждения, в 2 раза превышающего однократную величину, на фоне предварительного 30-дневного 3-часового охлаждения в воздушной среде. Совокупность описанных изменений свидетельствует о достаточном резерве адаптационных возможностей системы, сформированном в ходе предшествующих холодовых нагрузок, для поддержания нормального функционирования организма в целом.

Для выявления ответной реакции системы гемостаза на субмаксимальное тестовое воздействие на фоне срыва адаптационных процессов нами была проведена серия экспериментов, в ходе которых по завершении 30-дневной 40-минутной **иммерсионной гипотермии** животные подвергались тестовой холодовой нагрузке на протяжении 55 минут, что на 15 минут превышало тренировочную (однократное воздействие такой же длительности при отсутствии предварительных тренировок сопровождалось развитием сверхглубокой степени гипотермии).

В ходе проведенных экспериментов установлено, что у животных, подвергавшихся по завершении тренировочного цикла 55-минутному охлаждению, сразу после извлечения из воды, регистрировался высокий уровень РФМК, достигающий того же уровня, что и при 40-минутном тренировочном воздействии. Об усугублении гемостазиологической картины, развившейся в ходе тестового холодового воздействия, свидетельствовало развитие гиперкоагуляционного сдвига, зафиксированного на обоих путях активации плазменного гемостаза. Кроме того, у тех же животных, по истечении 55 минут тестового воздействия, снижалась концентрация АТ III и регистрировалось дальнейшее угнетение фибринолитической активности плазмы крови. Описанная совокупность гемостазиологических параметров, зарегистрированная у животных сразу по завершении тестового воздействия, свидетельствовала о дальнейшем усугублении течения картины подострого ДВС-синдрома. Такое нарушение гемостазиологического баланса, зарегистрированное у экспериментальных животных, подвергшихся тестовой холодовой нагрузке, характеризует ответную

реакцию как дистрессорную. Таким образом, нами зарегистрировано состояние системы гомостаза при срыве адаптивных механизмов.

О развитии дистресса также свидетельствует динамика массы тела и ректальной температуры экспериментальных животных. Начиная с 17-го дня нами регистрировалось вторичное снижение массы экспериментальных животных, достигавшее к 30-му дню значений ниже исходной величины данного показателя. При оценке ректальной температуры регистрировалась подобная динамика. На 10-й день эксперимента, совпадающий с периодом незавершенной адаптации, регистрировалось наименьшее снижение температуры, достигнутой в ходе охлаждения. Однако при дальнейшем продолжении холодовых воздействий с 17-го дня эксперимента нами было зафиксировано все более нарастающее падение температуры ядра, что подтверждало срыв адаптационных процессов. На этом фоне нами было проведено тестовое холодовое воздействие, в ходе которого животные подвергались общему переохлаждению в течение 55 минут. В результате этого воздействия температура ядра снижалась до критических величин в $+12,3 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm +0,2 \text{ }^{\circ}\text{C}$ и была существенно (в 2 раза) ниже значения ректальной температуры, достигнутой в результате охлаждения в первый экспериментальный день, и в 2,2 раза ниже, чем на 30-й день. Такое резкое снижение температуры при увеличении времени воздействия может быть расценено, как свидетельство неспособности организма эффективно сопротивляться гипотермии. Описанная динамика температуры и массы тела в результате многократного иммерсионного охлаждения организма крыс свидетельствовала о срыве адаптационных процессов.

Таким образом, в ходе экспериментов установлено, что, в зависимости от формирования адаптивных процессов или их срыва в ходе адаптации, субмаксимальное воздействие тестовых нагрузок сопровождается развитием ряда гомостазиологических признаков, характеризующих наличие или отсутствие адаптационных резервов. Воздействие тестовой нагрузки на фоне наличия достаточных адаптивных резервов не сопровождается сколько-нибудь значимыми сдвигами в системе гомостаза. В то же время при наличии срыва адаптационных

механизмов тестовая нагрузка приводит к развитию гиперкоагуляционной формы подострого ДВС-синдрома.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В современном мире сформировалось достаточно полное представление о холодном воздействии на организм и его последствиях. Действие общего преднамеренного переохлаждения рассматривается в контексте практической медицины. При этом, оценка действия непреднамеренной гипотермии сводится к изучению последствий локальных холодových травм. В медицинской практике гипотермия используется для уменьшения кислородных потребностей и снижения метаболизма тканей. Применение гипотермии в условиях стационара сопровождается обязательной наркотизацией пациента, использованием систем жизнеобеспечения и применением соответствующей антикоагулянтной терапии. Гемастазиологические данные, полученные от таких пациентов, соответственно не могут отражать влияния гипотермии на состояние системы гемостаза. При оценке действия непреднамеренного охлаждения большинство работ посвящено изучению и минимизации негативных последствий локальных холодových травм. В то же время, действие холода на организм вызывает развитие классической стресс-реакции, характеризующейся активацией симпато-адреналовой системы.

В работах, посвященных изучению реакции системы гемостаза на действие стрессоров различной природы, показано, что эустрессорное воздействие характеризуется активацией контактной фазы свертывания при сочетанной активации противовесных систем. При переходе ответной эустрессорной реакции в дистресс формируются различные гемастазиологические нарушения, приводящие как к угрозе развития внутрисосудистого свертывания, так и сопровождающиеся кровоточивостью.

Исходя из вышеизложенного, был проведен цикл исследований, посвященных изучению влияния различных видов и режимов гипотермии на состояние системы гемостаза крыс. В ходе экспериментов использовалось два способа охлаждения: иммерсионная и воздушная гипотермия. Было установлено, что по мере увеличения степени однократного иммерсионного охлаждения

экспериментальных животных регистрировался переход ответной реакции системы гемостаза из эустрессорной в дистрессорную. Так, минимальное по силе экспериментальное воздействие приводило к формированию состояния эустресса у опытных животных, характеризующееся гипоагрегацией, гипокоагуляцией и активацией фибринолиза. Дальнейшее охлаждение характеризовалось развитием дистрессорной ответной реакции организма в ответ на гипотермию. «Переломной» стадией являлась умеренная степень гипотермии, характеризующаяся развитием тромбинемии и угнетением литической активности плазмы крови. Дальнейшее охлаждение в еще большей степени усугубляло состояние дистресса. Об этом свидетельствовало последовательное угнетение активности фибринолитической системы на фоне высокой концентрации РФМК и нарастающего количества фибриногена.

Охлаждение в воздушной среде имеет ряд особенностей, связанных в первую очередь, со скоростью отдачи тепла и площадью контакта тела с повреждающим агентом. В результате по достижении умеренной степени гипотермии под воздействием воздуха у животных были зарегистрированы гипокоагуляционные сдвиги на фоне угнетения фибринолитической активности.

Установлено, что достижение одинаковой степени охлаждения в различных средах, а, следовательно, и с разной скоростью, сопровождается развитием различной ответной реакции со стороны системы гемостаза. Так, при медленном охлаждении (воздушная модель) регистрируются гипокоагуляционные сдвиги. Высокая скорость охлаждения (иммерсионная модель) достижение умеренной степени гипотермии сопровождается выраженной активацией процессов свертывания и регистрацией состояния тромботической готовности.

В ходе дальнейших экспериментов установлена гемостазиологическая картина в постгипотермическом периоде (первые 26 часов после прекращения охлаждения). Данный временной промежуток был выбран в связи с тем, что именно в это время при получении локальной холодовой травмы наблюдается формирование и манифестация тромбозов [156, 173, 180]. Оценка гемостатического потенциала в постгипотермическом периоде демонстрировала

развитие состояния тромботической готовности в результате достижения умеренной гипотермии (ректальная температура $+30^{\circ}\text{C}$) - при охлаждении воздухом и сверхглубокой степени гипотермии (ректальная температура $+10\dots+16^{\circ}\text{C}$) - при охлаждении в водной среде.

Оценка возможности повышения устойчивости к холоду при многократно повторяющихся холодовых нагрузках осуществлялась в двух тренировочных режимах (воздушная и водная среды соответственно).

Показано, что в воздушной среде в ходе 30-дневных воздействий у организма повышается устойчивость к холоду. Это проявляется существенным увеличением фибринолитической активности плазмы крови на фоне нормокоагуляции при сохранении температуры ядра на прежнем уровне по завершении холодового воздействия. Такое состояние системы гемостаза и общий статус организма в ответ на длительное воздействие воздушного охлаждения позволило предположить формирование определенных адаптационных резервов.

С целью выявления наличия адаптационных резервов была проведена серия экспериментов с тестовой холодовой нагрузкой, в два раза превышающей по длительности величину предварительного тренировочного воздействия. Увеличение действия стрессора в два раза по окончании 30-дневных предшествующих сопровождалось развитием гипокоагуляции на фоне снижения концентрации АТ III и выраженной активацией фибринолиза, что не выходило за рамки эустрессорной реакции системы гемостаза. При этом, температура ядра также оставалась на физиологическом уровне. Совокупность выявленных показателей подтверждает развитие адаптационных резервов в ходе многократного действия холодного воздуха.

Использование в качестве тренирующего воздействия водной среды в ходе 30-дневных нагрузок у организма не сопровождается развитием адаптивных процессов. По окончании эксперимента в кровотоке животных регистрировался возросший уровень РФМК на фоне снижения концентрации фибриногена при увеличении времени их полимеризации. Также наблюдался выраженный

гипокоагуляционный сдвиг на всех путях свертывания. Состояние экспериментальных животных усугублялось снижением концентрации антитромбина III и выраженным угнетением активности фибринолитической системы. Описанная гемостазиологическая картина укладывается в клиническую картину течения подострой формы ДВС-синдрома. Таким образом, очевидно, что выбранный режим иммерсионных гипотермических воздействий сопровождался срывом адаптационных процессов.

Для выявления ответной реакции системы гемостаза на субмаксимальное тестовое воздействие на фоне срыва адаптационных процессов была проведена серия экспериментов, при этом установлено, что увеличение длительности воздействия сопровождалось дальнейшим усугублением гемостазиологических нарушений. Это характеризовалось развитием гиперкоагуляции на фоне сниженного количества антитромбина III и еще более снижающейся фибринолитической активности.

Таким образом, в ходе экспериментов установлено, что, в зависимости от формирования адаптивных процессов или их срыва в ходе адаптации, субмаксимальное воздействие тестовых нагрузок сопровождалось развитием ряда гемостазиологических признаков, характеризующих наличие или отсутствие адаптационных резервов. Воздействие тестовой нагрузки на фоне наличия достаточных адаптивных резервов не сопровождалось сколько-нибудь значимыми сдвигами в системе гемостаза. В то же время, при наличии срыва адаптационных механизмов, тестовая нагрузка приводила к развитию гиперкоагуляционной формы подострого ДВС-синдрома.

Таким образом, в работе показаны стадийные изменения в гемостазиологической реакции при однократном действии гипотермии и установлены гемостазиологические критерии, характеризующие ту или иную степень гипотермии. Также в работе определены степени гипотермии и способы их достижения, приводящие к формированию состояния тромботической готовности в постгипотермическом периоде. Определение критериев риска развития тромботических или гемофилических осложнений в различные периоды

гипотермии и постгипотермии, а также их тяжесть позволит использовать результаты исследования в практическом здравоохранении для предотвращения возможных негативных последствий как не преднамеренного, так и преднамеренного гипотермического воздействия на организм.

Исследование закономерностей формирования ответной гемостазиологической реакции и формирование системного ответа позволит в последующем изучить механизмы поддержания постоянства внутренней среды организма.

Также в нашей работе установлен экспериментальный режим многократной воздушной гипотермии, который может быть использован в последующем в качестве тренирующего для повышения толерантности организма к холоду. Выявленное повышение устойчивости организма к повреждающему фактору внешней среды может быть использовано в профилактической и восстановительной медицине, а также способствовать изучению физиологических механизмов адаптации человека к различным географическим, экологическим, трудовым и социальным условиям.

ВЫВОДЫ

1. Реакции системы гемостаза на однократное холодное воздействие зависят от длительности, интенсивности и скорости отдачи тепла. Последовательное увеличение длительности воздействия приводит к нарастанию гемостазиологических нарушений. Умеренная степень гипотермии (ректальная температура $+30\text{ }^{\circ}\text{C}$) является критической и сопровождается переходом ответной эустрессорной реакции со стороны системы гемостаза в дистресс, что характеризуется появлением в кровотоке маркеров тромбинемии и выраженным снижением фибринолитической активности плазмы крови.

2. Различная скорость охлаждения сопровождается развитием разнонаправленных реакций со стороны системы гемостаза. Достижение умеренной степени гипотермии при высокой скорости охлаждения активирует процессы свертывания и характеризуется развитием тромбинемии. Низкая скорость охлаждения сопровождается регистрацией гипокоагуляционных сдвигов.

3. В постгипотермическом периоде нарушение гемостазиологического баланса и развитие состояния тромботической готовности наблюдается по достижении умеренной гипотермии (ректальная температура $+30\text{ }^{\circ}\text{C}$) - при охлаждении воздухом и сверхглубокой степени гипотермии (ректальная температура $+10... +16\text{ }^{\circ}\text{C}$) - при охлаждении в водной среде.

4. Развитие долговременной адаптации и увеличение устойчивости к холоду наблюдается при многократном 30-дневном воздействии воздушной гипотермии и сопровождается существенным увеличением фибринолитической активности плазмы крови на фоне нормокоагуляции.

5. Адаптационные резервы повышаются при ежедневном действии 3-х часовой гипотермии на протяжении 30 дней в воздушной среде и характеризуются гипокоагуляцией на фоне снижения концентрации АТ III и выраженной активации фибринолиза.

6. Срыв адаптации наблюдается при ежедневном действии 40-минутной иммерсионной гипотермии на протяжении 30 дней и сопровождается развитием подострой формы ДВС-синдрома. При этом увеличение длительности воздействия сопровождается дальнейшим усугублением гемостазиологических нарушений.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- АД – артериальное давление
- АПТВ – активированное парциальное тромбопластиновое время
- АФК – активные формы кислорода
- АТ III – антитромбин III
- ВПФМ – время полимеризации фибрин-мономерных комплексов
- ОЦК – объем циркулирующей крови
- ПВ – протромбиновое время
- ПДФ – продукты деградации фибрина
- ПОЛ – перекисное окисление липидов
- РФМК – растворимые фибрин-мономерные комплексы
- ТВ - тромбиновое время
- ТЭГ - тромбозластография
- ЭКГ - электрокардиограмма
- ML - maximum lysis (максимальный лизис сгустка)
- РАI-1 - plasminogen activator inhibitor type (ингибитор активатора плазминогена)
- t-PA - tissue plasminogen activator (тканевой активатор плазминогена)
- СТ - Coagulation time (время свертывания)
- СFT - Clot formation time (время образования сгустка)
- TFPI - tissue factor pathway inhibitor (ингибитор внешнего пути свертывания)

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абдурахманов, Р.Г. Влияние гипотермии на электрическую активность мозга крыс / Р.Г. Абдурахманов // Проблемы развития АПК региона. - 2012. - Т. 9. - № 1. - С. 63-65
2. Абиев, З.А. Анализ влияния холодových воздействий на организм человека / З.А. Абиев, Н.Н. Кленин, И.Н. Маслова // Прикладные информационные аспекты медицины. - 2007. - Т. 10. - № 2. - С. 54-58.
3. Агаджанян, Н.А. Влияние вахтового и экспедиционно-вахтового методов трудовой деятельности на гемостатическую функцию организма / Н.А. Агаджанян, С.А. Георгиева, Г.П. Гладилин // Физиология человека. - 1997. - Т. 23. – № 3. - С. 103-107.
4. Агаджанян Н.А. Биоритмы и адаптация к экстремальным условиям внешней среды. Временная организация чувствительности организма к биологическим и экологически активным веществам / Н.А. Агаджанян. – Свердловск: Медицина, 1991. – 154 с.
5. Александров, Н.П. Изменения в системе красной крови человека (эритроны) при адаптации к новым условиям / Н.П. Александров // Земский врач. - 2010. - № 1. - С. 23-27.
6. Алюхин, Ю.С. Температурные и временные пределы обратимости остановки сердца млекопитающих от холода / Ю.С. Алюхин // Успехи физиологических наук. - 2008. - Т. 39. - № 4. - С. 66-82.
7. Алябьев, Ф.В. Функционально-морфологические изменения сердца при гипотермии / Ф.В. Алябьев, А.М. Парфирьева, Н.П. Чесалов // Сибирский медицинский журнал. – 2008. - № 1. – С. 68-71
8. Ананьев, В.Н. Действие нейромедиатора вегетативной системы адреналина на системное и региональное кровообращение после адаптации к холоду/ В.Н. Ананьев // Медицинские науки. - 2011. - № 2. - С. 26-28.

9. Ананьев, В.Н. Действие дозированной холодовой адаптации на адренорецепторы / В.Н. Ананьев // Медицинские науки. - 2011. - № 4. - С. 13-16.
10. Ананьев, В.Н. Реактивность системного и регионального кровообращения к ацетилхолину после 10 дней адаптации к холоду / В.Н. Ананьев, Е.В. Ипполитов // Естественные и технические науки. - 2011. - № 3. - С. 144-146.
11. Ананьев В.Н. Реактивность системного кровообращения на норадреналин и ацетилхолин после 10-ти дней адаптации к холоду / В.Н. Ананьев // Фундаментальные исследования. - 2010. - № 10. - С. 138-144.
12. Ананьев, В.Н. Действие норадреналина на системное и региональное кровообращение в различные сроки адаптации к холоду / В.Н. Ананьев, Т.В. Потапова, Г.В. Ананьев // Естественные и технические науки. - 2010. - № 4. - С. 65-68.
13. Ананьев В.Н. Холодовая адаптация и адренорецепторы / В.Н. Ананьев // Успехи современного естествознания. - 2010. - № 11. - С. 8-11.
14. Антифибринолитические препараты при кардиохирургических операциях с экстракорпоральным кровообращением / Н.Н. Самсонова, Н.В. Андреев, Л.Г. Климович, Е.Ф. Козар, К.О. Серёгин // Тромбоз, гемостаз и реология. - 2010. - № 1. - С. 60-69.
15. Афанасьева, А.И. Морфологические показатели крови как критерий оценки адаптационных способностей телят / А.И. Афанасьева, К.Н. Лотц // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. - 2009. - № 8 (58). - С. 59-62.
16. Афанасьева, Р.Ф. Холодовой стресс, критерии оценки, прогнозирование риска охлаждения человека / Р.Ф. Афанасьева, О.В. Бурмистрова // Безопасность жизнедеятельности. - 2006. - № 2. - С. 16-20.
17. Афанасьева, Р.Ф. Холод, критерии оценки и прогнозирование риска охлаждения человека / Р.Ф. Афанасьева, О.В. Бурмистрова, А.Ф. Бобров // Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра СО РАМН. - 2006. - № 3. - С. 13-18.

18. Баркаган, З.С. Диагностика и контролируемая терапия нарушений системы гемостаза / Баркаган З.С., Момот А.П. - Москва: Ньюдиамед – АО, 2008. - 292 с.
19. Божедомов, А.Ю. Маркеры повреждения эндотелия при термической травме различной степени тяжести / А.Ю. Божедомов // Фундаментальные исследования. - 2012. - № 2-1. - С. 27-30.
20. Влияние гипотермии на содержание гормонов и липопротеинов в сыворотке крови крыс / М. Мохаммед, Т. Джабер, Л.Т. Таджибова // Вестник дагестанского государственного университета. - 2012. - Т. 1. – С. 140-144.
21. Влияние умеренной гипотермии на сывороточный уровень нейронспецифических белков, кислородное обеспечение и нейрокогнитивный статус пациентов при операциях реваскуляризации миокарда / М.В. Агеева, В.Г. Постников, Л.Г. Князькова и др. // Патология кровообращения и кардиохирургия. - 2011. - № 1. - С. 35-40.
22. Влияние даларгина на свободнорадикальные процессы в крови крыс при умеренной гипотермии / Л.Т. Таждибоева, М.Д. Аставьева, Ж.Г. Исмаилова // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 2010. - Т. 150. - №9. - С. 271-274.
23. Влияние холодового стресса на интенсивность перекисного окисления липидов и антиоксидантную систему тканей экспериментальных животных / Н.С. Шаповаленко, В.А. Доровских, Н.В. Коршунова и др. // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. - 2011. - № 39. - С. 22-25.
24. Влияние инфузии несбалансированных солевых растворов на систему гемостаза и кровопотерю / И.В. Меркулов, В.А. Елыкомов, И.А. Захарченко и др. // Медицина и образование в Сибири. - 2012. - № 2. - С. 7.
25. Витер, В.И. Понятие « адаптации» при гипотермии / В.И. Витер, Ю.С. Степанян // Проблемы экспертизы в медицине. - 2007. - Т. 7. - № 1 (25). - С. 22-24.
26. Гемореологические расстройства после операций на аорте и способы их коррекции / Ю.А. Морозов, А.В. Гончарова, Ю.В. Белов и др. // Ангиология и сосудистая хирургия. - 2007. - Т. 13. - № 4. - С. 25-31.

27. Герасимова, Л.И. Усиленная холод-индуцированная вазоконстрикция (Феномен Рейно) как признак аварийного регулирования функций организма при адаптации к холоду / Л.И. Герасимова // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. - 2007. - Т. 6. - № 1. - С. 40-42.
28. Гришин, О.В. Гипометаболизм у северян в условиях действия низких температур / О.В. Гришин, Н.В. Устюжанинова // Бюллетень Сибирского отделения Российской академии медицинских наук. - 2010. - Т. 30. - № 3. - С. 12-17.
29. Голохваст, К.С. Некоторые аспекты механизма влияния низких температур на человека и животных (литературный обзор) / К.С. Голохваст, В.В. Чайка // Вестник новых медицинских технологий. - 2011. - Т. 18. - № 2. - С. 486-489.
30. Гудков, А.Б. Реакция системы внешнего дыхания на локальное охлаждение у молодых лиц трудоспособного возраста / А.Б. Гудков, О.Н. Попова, Б.А. Скрипаль // Медицина труда и промышленная экология. - 2009. - № 4. - С. 26-30.
31. Гусакова, Е.А. Стресс и протеолитические ферменты лизосом / Е.А. Гусакова, И.В. Городецкая // Вестник Витебского государственного медицинского университета. - 2012. - Т. 11. - № 4. - С. 15-25.
32. Дикий, Б.В. Перспективы использования закаливания природноклиматическими факторами в целях реабилитации соматических заболеваний / Б.В. Дикий // Физическое воспитание студентов. - 2009. - № 3. - С. 12-15.
33. Ершова, О.В. Нарушения, возникающие в репродуктивной системе самок крыс, подвергшихся эмоционально-болевному стрессу, и их коррекция с использованием метода ритмической краниocereбральной гипотермии / О.В. Ершова, Д.А. Еникеев, В.Д. Захарченко // Медицинский вестник Башкортостана. - 2007. - Т. 2. - № 2. - С. 93-95.
34. Замай, Т.Н. Формирование системного структурного следа в почках при адаптации крыс к холоду / Т.Н. Замай, О.С. Замай // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 2007. - Т. 144. - № 9. - С. 251-253.

35. Закревский, Ю. Н. Структура острых заболеваний внутренних органов и вторичных органопатологических изменений у пострадавших в морских катастрофах / Ю. Н. Закревский // Экология человека. – 2012. – № 8. – С. 59-64.
36. Иванов, К.П. Современные теоретические и практические проблемы гомойотермии и терморегуляции / К.П. Иванов // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. - 2006. - Т. 92. - № 5. - С. 578-592.
37. Иванов, К.П. Механизмы нарушения микроциркуляции в мозгу во время развития глубокой гипотермии / К.П. Иванов, Н.Н. Мельникова, Л.А. Петрова // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. - 2006. - Т. 92. - № 6. - С. 746-750.
38. Интенсивность свободнорадикальных процессов в крови крыс при гипотермии / М.Т.Д. Маяхи, Ж.Г. Исмаилова, М.Д. Астаева и др. // Вестник Дагестанского научного центра РАН. - 2012. - № 45. - С. 44-49.
39. Кардиоспецифичные биомаркеры при кардиохирургических операциях / Ю.А. Морозов, М.А. Чарная, И.И. Дементьева, В.Г. Гладышева, А.В. Гончарова // Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия. - 2011. - Т. 4. - № 5. - С. 63-66.
40. Ковалев, В.В. Взаимосвязь между восстановлением температуры тела и уровнем глюкозы в крови пациентов с острой общей холодовой травмой / В.В. Ковалев, В.А. Сизоненко // Вестник Северо-Восточного федерального университета им. М.К. Аммосова. - 2007. - Т. 4. - № 4. - С. 91-93.
41. Кондашевская, М.В. Диагностика состояния микроциркуляции методом ЛДФ Ярославский педагогический вестник / М.В. Кондашевская, О. А. Овчинникова, И. А. Тихомирова // Вестник РАМН. – 2012. – Т. 3. - № 2. – С. 98-102.
42. Кривошеков С. Г., Охотников С. В. Производственные миграции и здоровье человека на Севере. Москва: - Новосибирск, 2000. - 118 с
43. Крылов, К.М. Общее охлаждение: проблемы диагностики и оказания помощи на догоспитальном этапе / К.М. Крылов, О.В. Орлова, Т.А. Свиридова // Скорая медицинская помощь. - 2008. - Т. 9. - № 1. - С. 42-45.

44. Ломиворотов, В.Н. Искусственная гипотермия: патофизиологические аспекты перфузионного и бесперфузионного охлаждения / В.Н. Ломиворотов, А.М. Караськов // Патология кровообращения и кардиохирургия. - 1999. - № 1. - С. 46-48.
45. Луценко, М.М. Особенности липидного обмена при общем охлаждении организма / М.М. Луценко // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. - 2012. - № 44. - С. 95-100.
46. Луценко, М.М. Метаболические процессы при общем охлаждении организма / М.М. Луценко // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. - 2007. - № 24. - С. 51-54.
47. Механизмы формирования адаптационного следа при дробном стрессировании / М.А. Гишинский, С.В. Горякин, Т.В. Латышева, и др. // Бюллетень Сибирского отделения Российской академии медицинских наук. - 2004. - Т. 24. - № 2. - С. 142-147.
48. Митохондриальная лактатдегидрогеназа печени крыс при холодовой травме / А.Г. Соловьева, А.М. Размахов, А.С. Лузан и др. // Фундаментальные исследования. - 2008. - № 2. - С. 56-57.
49. Михайличенко, М.И. Лимфоцитарно-тромбоцитарные взаимодействия у больных с холодовой травмой / М.И. Михайличенко, К.Г. Шаповалов, Ю.А. Витковский // Забайкальский медицинский вестник. - 2006. - № 2. - С. 20-22.
50. Момот, А.П. Современные методы распознавания состояния тромботической готовности / А.П. Момот. – Барнаул: Издательство Алтайского Государственного Университета, 2011. – 138 с.
51. Морфофункциональные изменения трахеи крыс при холодном стрессе на фоне введения реамберина и элеутерококка / Н.С. Шаповаленко, В.А. Доровских, С.С. Целуйко и др. // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. - 2011. - № 39. - С. 34-39.
52. Морфологические критерии холодовой смерти / Е.В. Стефаненко, О.Д. Мяделец, О.А. Кухновец и др. // Вестник Витебского государственного медицинского университета. - 2008. - Т. 7. - № 2. - С. 116-126.

53. Морфологический субстрат спастических реакций при операциях аортокоронарного шунтирования в условиях искусственного кровообращения / Е.П. Иванова, Л.Б. Митрофанова, М.Л. Гордеев и др. // Вестник трансплантологии и искусственных органов. - 2007. - Т. 9. - № 1. - С. 28-37.
54. Нейропротективные свойства гипотермии / О.А. Шевелев, А.В. Бутров, Д.П. Билибин и др. // Современные проблемы науки и образования. - 2012. - № 3. - С. 70.
55. Низамутдинова Р.Р. Влияние неблагоприятных факторов окружающей среды на сурфактантную систему легких и возможности ее восстановления / Низамутдинова Р.Р. // Вестник новых медицинских технологий. - 2008. - Т. 15. - № 1. - С. 133-136.
56. Николаев, В.М. Состояние про- и антиоксидантного равновесия у больных с холодовой травмой различной степени тяжести / В.М. Николаев, С.Н. Алексеев, Р.З. Алексеев // Сибирский медицинский журнал. - 2007. - Т. 22. - № 2. - С. 28-30.
57. Николаев, В.М. Перекисное окисление липидов у больных с холодовой травмой разной степени тяжести / В.М. Николаев, С.Н. Алексеев, Р.З. Алексеев // Наука и образование. - 2006. - № 2. - С. 140-144.
58. Обоснование оптимальных режимов краниocereбральной гипотермии при проведении хирургических операций / Г.А. Бабийчук, А.В. Козлов, В.Л. Коцарь и др. // Вестник проблем биологии и медицины. - 2009. - № 4. - С. 125-129.
59. Опыт применения терапевтической гипотермии в лечении ишемического инсульта / И.Е. Каленова, И.А. Шарина, О.А. Шевелев // Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. - 2012. - № 2. - С. 41-45.
60. Особенности изменения параметров микроциркуляции при местной холодовой травме верхних конечностей / К.Г. Шаповалов, В.А. Сизоненко, Е.Н. Бурдинский и др. // Ангиология и сосудистая хирургия. - 2009. - Т. 15. - № 1. - С. 29-32.
61. Особенности экспрессии тканевого фактора моноцитами периферической крови при холодовом повреждении / К.Г. Шаповалов, В.А. Иванов, М.И.

Михайличенко, и др. // Дальневосточный медицинский журнал. - 2008. - № 3. - С. 42-44.

62. Повреждение клеток эндотелия и содержание цитокинов у больных в разные периоды местной холодовой травмы / К.Г. Шаповалов, Е.А. Томина, М.И. Михайличенко и др. // Травматология и ортопедия России. - 2008. - № 1. - С. 35-37.

63. Повреждение клеток эндотелия и динамика цитокинов у больных в разные периоды местной холодовой травмы / К.Г. Шаповалов, Е.А. Томина, Ю.А. Витковский и др. // Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра СО РАМН. - 2006. - № 6. - С. 126-128.

64. Рабаданова, З.Г. Влияние ацетамида на электрическую активность мозга крыс при гипотермии / З.Г. Рабаданова, Р.Г. Абдурахманов, И.С. Мейланов // Известия высших учебных заведений. Северо-Кавказский регион. Серия: Естественные науки. - 2010. - № 5. - С. 65-69.

65. Радущкевич, В.Л. Особенности проведения реанимации у больных с непреднамеренным общим охлаждением организма / В.Л. Радущкевич, Б.И. Барташевич, Н.В. Ткаченко // Медицинский алфавит. Неотложная медицин. - 2010. № 4. - С. 20-25.

66. Ранние изменения уровня продуктов перекисного окисления липидов в крови у крыс, адаптированных и неадаптированных к холоду / О.Н. Позднякова, Л.А. Просина, Е.И. Кондратенко, О.Г. Поздняков // Вестник Астраханского государственного технического университета. - 2006. - № 3. - С. 207-213.

67. Роль терморцепции в функциональных изменениях эффекторных систем при термических воздействиях на организм / Т.В. Козырева, Е.Я. Ткаченко, Л.С. Елисеева и др. // Бюллетень Сибирского отделения Российской академии медицинских наук. - 2004. - Т. 24. - № 2. - С. 123-129.

68. Румянцев, Г.В. Влияние введения ЭДТА в кровяное русло на процесс саморазогревания крысы после глубокой гипотермии // Г.В. Румянцев, Н.К. Арокина // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. - 2008. - Т. 94. - № 12. - С. 1426-1434.

69. Румянцев, Г.В. Динамика теплового обмена у крыс при выходе из состояния искусственной глубокой гипотермии / Г.В. Румянцев // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. - 2007. - Т. 93. - № 11. - С. 1326-1331.
70. Савченко, А.П. Механизмы функционирования тромбоцитарного гемостаза / А.П. Савченко, И.Н. Медведев // Фундаментальные исследования. - 2009. - № 10. - С. 28-30.
71. Саяпина, И.Ю. Окислительный стресс в предстательной железе на этапах адаптации организма к низким температурам / И.Ю. Саяпина, С.С. Целуйко // Сибирский медицинский журнал. - 2011. - Т. 106. - № 7. - С. 31-34.
72. Северина Т.Г., Активность лизомных ферментов печени и температура тела при иммерсионной гипотермии у крыс с различной устойчивостью к холоду: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 03.03.01 / Северина Татьяна Геннадьевна. – Минск., 2012 – 17 с.
73. Системные механизмы адаптации и компенсации / С.Г. Кривошеков, В.П. Леутин, В.Э. Диверт // Бюллетень Сибирского отделения Российской академии медицинских наук. - 2004. - Т. 24. - № 2. - С. 148-153.
74. Сизоненко, В.А. Классификация и диагностика местной холодовой травмы / В.А. Сизоненко, А.В. Михайличенко, К.Г. Шаповалов // Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра СО РАМН. - 2008. - № 3. - С. 134-135.
75. Сметанина, М.Д. Показатели функционального состояния сердечно-сосудистой системы при холодовом воздействии на человека / М.Д. Сметанина, Л.Н. Шорина, Т.В. Тарасова // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. - 2010. - Т. 10. - № 1. - С. 47-49.
76. Современные возможности хирургического лечения пациентов с глубокими холодовыми поражениями (обзор литературы) / А.В. Шуткин, А.В. Коваленко, В.В. Донсков, А.А. Хасанов // Вестник Новгородского государственного университета им. Ярослава Мудрого. - 2010. - № 59. - С. 80-84.

77. Содержание цитокинов в крови больных при местной холодовой травме / К.Г. Шаповалов, Е.А. Томина, М.И. Михайличенко и др. // Медицинская иммунология. - 2008. - Т. 10. - № 1. - С. 89-92.
78. Содержание IL-18 в крови и жидкости пузырей у больных с местной холодовой травмой / К.Г. Шаповалов, В.А. Иванов, Ю.А. Витковский // Дальневосточный медицинский журнал. - 2008. - № 2. - С. 41-42.
79. Сравнительное изучение влияния дексаметазона и лекарственного сбора на уровень мочевины крови крыс при холодовой травме / А.А. Алиева, Н.А. Назаренко, Т.Л. Киселева и др. // Экология человека. - 2007. - № 5. - С. 43-46.
80. Сравнительное исследование защитного эффекта гипотермии, ишемического прекондиционирования и модифицированных кардиоплегических растворов при ишемии-реперфузии изолированного сердца крысы / С.М. Минасян, Л.Р. Бадриханова, М.М. Галагудза др. // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. - 2008. - Т. 7. - № 2. - С. 72-78.
81. Современный взгляд на патогенез хронических заболеваний вен нижних конечностей с позиции эндотелиальной дисфункции / Ю.Л. Шевченко, Ю.М. Стойко, В.Г. Гудымович и др. // Вестник Национального медико-хирургического центра им. Н.И. Пирогова. - 2011. - Т. 6. - № 1. - С. 24-27.
82. Солонин, Ю.Г. Терморегуляция и кровообращение у лиц зрелого возраста при кратковременных экстремальных температурных воздействиях / Ю.Г. Солонин, Е.А. Кацюба // Физиология человека. - 2003. - Т. 29. - № 2. - С. 67-74.
83. Соловьев, В.И. Влияние острого охлаждения на реакцию гипофизарно-тиреоидной системы у белых крыс / В.И. Соловьев, Е.Г. Ревякина // Вестник неотложной и восстановительной медицины. - 2006. - Т. 4. - № 6. - С. 693-696.
84. Спектральный анализ электроэнцефалограммы крыс при гипотермии / З.Г. Пашаева, Р.Г. Абдурахманов, М.М. Расулов и др. // Вестник Дагестанского государственного университета. - 2007. - № 4. - С. 55-57.
85. Специфические белки нервной ткани в оценке повреждения мозга при операциях на дуге аорты в условиях длительных гипотермических перфузии / Л.Г.

Князькова, Т.А. Могутнова, С.Л. Захаров и др. // Патология кровообращения и кардиохирургия. - 2008. - № 2. - С. 29-33.

86. Степень зависимости периферического кровотока от изменений микрореологических свойств крови / Н.Н. Фирсов, Н.В. Климова, Т.В. Коротаева, и др. // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. - 2010. - Т. 9. - № 4. - С. 58-62.

87. Степанян, Ю.С. Структурные основы процессов адаптации при гипотермии / Степанян Ю.С. // Проблемы экспертизы в медицине. - 2009. - Т. 9. - № 2-3 (34-35). - С. 24-25.

88. Степанян, Ю.С. Структурные изменения надпочечников при холодовой травме / Ю.С. Степанян // Проблемы экспертизы в медицине. - 2009. - Т. 9. - № 4 (36). - С. 21-23.

89. Степанян, Ю.С. Структурная реорганизация щитовидной железы при смерти от общего переохлаждения организма / Ю.С. Степанян // Проблемы экспертизы в медицине. - 2007. - Т. 7. - № 2 (26). - С. 31-33.

90. Степанян, Ю.С. К вопросу об изменении аденогипофиза при общем переохлаждении организма / Ю.С. Степанян // Проблемы экспертизы в медицине. - 2007. - Т. 7. - № 4 (28). - С. 23-25.

91. Степанян, Ю.С. Морфофункциональные эквиваленты реакции аденогипофиза на гипотермию / Ю.С. Степанян // Проблемы экспертизы в медицине. - 2006. - Т. 6. - № 1 (21). - С. 12-13.

92. Степанян, Ю.С. Морфологическая оценка гипофизарно-надпочечниковой системы при гипотермии / Ю.С. Степанян, К.А. Ворончихина // Проблемы экспертизы в медицине. - 2005. - Т. 5. - № 4 (20). - С. 14-16.

93. Стефаненко, Е.В. Морфологические критерии холодовой смерти / Е.В. Стефаненко, О.Д. Мяделец, О.А. Кухновец // Вестник Витебского государственного медицинского университета. - 2008. - Т. 7. - № 2. - С. 116-126.

94. Тимербаев, В.Х. Умеренная гипотермия в хирургии внутричерепных аневризм / В.Х. Тимербаев, П.Г. Генов, В.В. Крылов // Нейрохирургия. - 2006. - № 2. - С. 28-33.

95. Ткаченко, Е.Я. Механизмы модулирующего влияния симпатической нервной системы на терморегуляторные реакции при охлаждении у гипертензивных крыс / Е.Я. Ткаченко, Т.В. Козырева // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2010. - Т. 149. - № 1. - С. 25-29.
96. Ткаченко, Е.Я. Роль ионов кальция в формировании холодозащитных реакций при различных температурных воздействиях / Е.Я. Ткаченко, С.В. Ломакина, Т.В. Козырева // Бюллетень Сибирского отделения Российской академии медицинских наук. - 2003. - Т. 23. - № 3. - С. 121-126.
97. Терапевтическая гипотермия - метод нейропротекции при ишемическом инсульте / О.А. Шевелёв, А.В. Бутров, И.Е. Каленова и др. // Русский медицинский журнал. - 2012. - Т. 20. - № 18. - С. 893-895.
98. Ушаков, И.Б. Резистентность организма к экстремальным факторам: физиологические основы, регуляция, прогнозирование / И.Б. Ушаков, А.С. Штемберг // Успехи физиологических наук. - 2011. - Т. 42. - № 3. - С. 26-45.
99. Фатеева, Н. М. Здоровье человека на Крайнем Севере: влияние экспедиционно-вахтового труда на биоритмы гемостаза, перекисное окисление липидов, антиоксидантную систему / Н. М.Фатеева, В.В. Колпаков. – Тюмень: Издательство ОГУП «Шадринский Дом Печати», 2011. - 259 с.
100. Фатеева, Н.М. Влияние условий Тюменского Севера на биоритмы гемодинамики, гемостаза и липидный обмен здорового человека/ Н.М. Фатеева // Сб. трудов III международной конференции «Болезни цивилизации в аспекте В. И. Вернадского». М., 2005. С. 71-72.
101. Фатеева, Н. М. Характеристика показателей гемостаза и перекисного окисления липидов мембран клеток вахтовиков в условиях Крайнего Севера / Н. М. Фатеева // Сб. научн. трудов «Актуальные теоретические и практические аспекты восстановления и сохранения здоровья человека». Тюмень, 2004. С. 43-44.
102. Федоров Г.С. Механизмы угнетения физиологических функций при гипотермии и способ их стимуляции без отогревания тела / Г.С. Федоров, Н.К.

Арокина, К.П. Иванов // Российский физиологический журнал им. И.М.Сеченова. - 2006. - Т. 92. - № 11. - С. 1373-1371.

103. Функционально-морфологические изменения сердца при гипотермии / Ф.В. Алябьев, А.М. Парфирьева, Н.П. Чесалов и др. // Сибирский медицинский журнал. - 2008. - Т. 23. - № 1-1. - С. 68-70.

104. Функциональное состояние тромбоцитов при местных холодовых поражениях / К.Г. Шаповалов, М.И. Михайличенко, В.А. Сизоненко и др. // Казанский медицинский журнал. - 2008. - Т. 89. - № 5. - С. 662-665.

105. Холодовая травма: патогенез, неотложная медицинская помощь, профилактические меры / С.В. Трифонов, М.М. Авхименко, С.С. Трифонова // Медицинская помощь. - 2007. - № 1. - С. 28-32.

106. Шамарин, Ю.А. Тучные клетки и гепарин – ключевые звенья в адаптивных и патологических процессах / Ю.А. Шамарин, А.И. Осипов // Вестник РАМН. – 2010. - № 6. - С. 49–54.

107. Шапкин, Ю.Г. Раннее прогнозирование жизнеспособности тканей при глубоком отморожении / Ю.Г. Шапкин, Н.Ю. Стекольников, С.В. Капралов // Естественные и технические науки. - 2011. - № 6. - С. 213-217.

108. Шаповалов, К.Г. Параметры сосудисто-тромбоцитарного и плазменно-коагуляционного гемостаза при исходной недостаточности питания у больных с отморожениями конечностей III - IV степени / К.Г. Шаповалов, В.А. Коннов // Скорая медицинская помощь. - 2011. - Т. 12. - № 3. - С. 34-38.

109. Шаповалов, К.Г. Холодовая травма как причина стойкого изменения состояния микроциркуляторного русла / К.Г. Шаповалов, В.А. Сизоненко // Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. - 2009. - № 2. - С. 28-31.

110. Шаповалов, К.Г. Содержание ростовых факторов ангиогенеза у больных с холодовой травмой / К.Г. Шаповалов, В.А. Сизоненко, Ю.А. Витковский // Медицинская иммунология. - 2008. - Т. 10. - № 4-5. - С. 483-485.

111. Шахматов, И.И. Особенности реакции гемостаза при стрессе у лиц с разным уровнем тренированности / И.И. Шахматов, М.Н. Носова, В.М. Вдовин, Ю.А.

- Бондарчук, В.И. Киселев // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. – 2011. – Т. 97. – № 11. – С. 1254-1261.
112. 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.
113. Шевелёв, О.А. Глубокая локальная гипотермия в терапии болевых синдромов при поражениях крупных суставов / О.А. Шевелёв, В.П. Терешенков, Н.А. Ходорович // Российский журнал боли. - 2012. - № 1. - С. 68.
114. Эфферентная терапия в комплексном лечении холодовой травмы, осложненной синдромом полиорганной недостаточности / А.Ф. Потапов, Р.З. Алексеев, С.Ю. Евграфов // Якутский медицинский журнал. - 2012. - № 2. - С. 114-118.
115. Эндотелиальная секреция вазоактивных молекул при холодовой травме конечностей / К.Г. Шаповалов, В.А. Сизоненко, Е.И. Томина и др. // Травматология и ортопедия России. - 2008. - № 2. - С. 53-56.
116. Accidental hypothermia / Editorials // C.M. A. Journal. – 1970. - Vol. 103. – P. 1388 – 1389.
117. Agren, A. In vitro combinations of red blood cell, plasma and platelet components evaluated by thromboelastography / A. Agren, G. Edgren // Blood Transfus. – 2014. – Vol. 12. – P. 491-497.
118. Aggregation of blood platelets by adenosine diphosphate and its reversal / G.V.R. Born // Nature. – 1962. – Vol.194. – P. 927-929.
119. Alva, N. Oxidative stress and antioxidant activity in hypothermia and rewarming: can RONS modulate the beneficial effects of therapeutic hypothermia / N. Alva, J. Palomeque, T. Carbonell // Oxidative Medicine and Cellular Longevity. – 2013. – Vol. 13. – P. 54-64.
120. Amici, R. Cold exposure and sleep in the rat: REM sleep homeostasis and body size / R. Amici, M. Cerri, A. Ocampo-Garcés // Sleep. – 2008. - Vol. 31. - No. 5. – P. 708-715

121. Arrhythmogenesis in Severe vs. Therapeutic Hypothermia / J. S. Piktel, D. Jeyaraj, T. H. Said et al. // *Circ. Arrhythm. Electrophysiol.* - 2011. - Vol. 4(1). - P. 79–86.
122. Back from the dead: extracorporeal rewarming of severe accidental hypothermia victims in accident and emergency / A. J. Ireland, V. L. Pathi, R. Crawford, I. W. Colquhoun // *Accid. Emerg. Med.* - 1997. - Vol. 14. - P. 255-257
123. Bao, L. Fundamental research progress of mild hypothermia in cerebral protection / L. Bao, F. Xu // *SpringerPlus.* – 2013. – Vol. 2(306). – P. 2-8.
124. Blackmore D.K. Euthanasia: not always eu // *Australian Veterinary Journal.* – 1999. – Vol. 70, № 11. – P. 409–413.
125. Bouchama, A. Pathogenetic mechanisms of heatstroke and novel therapies / A. Bouchama // *Critical Care.* - 2012. - 16(Suppl 2). – P. 17-20.
126. Caballo, C. Impact of experimental haemodilution on platelet function, thrombin generation and clot firmness: effects of different coagulation factor concentrates / C. Caballo, G. Escolar, M. Diaz-Ricart // *Blood Transfus.* – 2013. – Vol. 11. –P. 391-400.
127. Clinical features of accidental hypothermia, with some observations on thyroid function / T. Cobur, B. Cvift, A. Pagington // *British Medical Journal Journal.* – 1964. – Vol. 16. – P. 194-200.
128. Clinical hypothermia temperatures increase complement activation and cell destruction via the classical pathway / T. A. Shah, C. T. Mauriello, P. S. Hair et al. // *Journal of Translational Medicine.* – 2014. – Vol. 12. – P. 181-187.
129. Council Directive of 24 November 1986 on the Approximation of Laws, Regulations of the Member States Regarding the Protection of Animals Used for Experimental and Other Purposes Directive (86/609/EEC) // *Official Journal of the European Communities L 262.* – C. 1 – 29.
130. Cooke, R. The role of the myosin ATP-ase activity in adaptive thermogenesis by skeletal muscle / R. Cooke // *Biophys. Rev.* – 2011. – Vol. 3. – P. 33–45.
131. Corry, J.J. Use of hypothermia in the intensive care unit / J.J. Corry, W. J. Crit. // *Care Med.* – 2012. – Vol. 1(4). – P. 106-122.

132. Dietrich W. D. Protection in animal models of brain and spinal cord injury with mild to moderate hypothermia / W. D. Dietrich, C. M. Atkins, H. M. Bramlett // *Journal Of Neurotrauma*. - 2009. - Vol. 26. - P. 301–312.
133. Docherty, J.R. The role of monoamines in the changes in body temperature induced by 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA, ecstasy) and its derivative / J.R. Docherty, A.R. Green // *British Journal of Pharmacology*. – 2010. – Vol. 160. – P. 1029–1044 .
134. Di´az, M. Thermoregulation: physiological and clinical considerations during sedation and general anesthesia / M. Di´az, D. E. Becker // *American Dental Society of Anesthesiology*. – 2010. – Vol. 57. – P. 25-33.
135. Effects of cold exposure on behavioral and electrophysiological parameters related with hippocampal function in rats / H. Elmarzouki1, Y. Aboussaleh, S. Bitiktas et al. // *Original research article*. - 2014. - Vol. 8. – P. 24-29.
136. Effects of cold air on cardiovascular disease risk factors in rat / B. Luo, S. Zhang , S. Ma et al. // *Int. J. Environ. Res. Public Health*. - 2012. № 9. - P. 2312-2325.
137. Effect of mild hypothermia on the coagulation-fibrinolysis system and physiological anticoagulants after cardiopulmonary resuscitation in a porcine model / P. Gong, M.Y. Zhang, H. Zhao et al. // *Int. J. Clin. Exp. Med*. – 2013. – Vol. 8. – P. 16-21.
138. Effect of temperature on thromboelastography (TEG) and implications for clinical use in neonates undergoing therapeutic hypothermia / K. R. Forman, E. Wong, M. Gallagher et al. // *Pediatr. Res*. – 2014. – Vol. 75(5). P. 663–669.
139. Englum, B. R. Degree of hypothermia in aortic arch surgery – optimal temperature for cerebral and spinal protection: deep hypothermia remains the gold standard in the absence of randomized data / B. R. Englum, N. D. Andersen // *Annals of cardiothoracic surgery*. - 2013. – Vol. 2. – No. 2. – P. 184-190.
140. *European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes*. Strasburg: Council of Europe, 1986. – 51 p.
141. Exton-smith, A. N. Accidental hypothermia / A. N. Exton-smith // *British Medical Journal*. – 1973. – Vol. 4. – P. 727-729

142. Facts and fiction: The impact of hypothermia on molecular mechanisms following major challenge / M. Frink, S. Floh'e, M. van Griensven et al. // *Int. J. Clin. Exp. Med.* - 2012. - Vol. 5. - P. 120 - 133.
143. Fatal hypothermia: an analysis from a sub-arctic region / H. Brandstrom, A. Eriksson, G. Giesbrecht et al. // *Critical Care.* - 2012. Vol. 1(9). P. 325-328.
144. Fatty acid binding protein 4 and 5 play a crucial role in thermogenesis under the conditions of fasting and cold stress / A. A. Syamsunarno, T. Iso, A. Yamaguchi et al. // *Environmental Health Perspectives.* – 2014. –Vol. 9. – P. 43- 48.|
145. Fisher, B. Rewarming following hypothermia of two to twelve hours. Some metabolic effects / B. Fisher, E. J. Fedor, S. H. Lee // *Annals of Surgery.* – 1958. – Vol. 148 (1). – P. 32-43.
146. Foulis, A.K. Morphological study of the relation between accidental hypothermia and acute pancreatitis / A. K. Foulis // *I. Clin. Paithol.* - 1982. - Vol. 35. P. 1244-1248.
147. Heart rate and arterial pressure changes during whole-body deep hypothermia (Clinical Study) / G. Cavallaro, L. Filippi, G. Raffaelli et al. // *ISRN Pediatrics.* - 2013. - Vol. 13, Article ID 140213. P. 6-10.
148. Horvath, Steven M. Hypothermia in the aged / S. M. Horvath, R. D. Rochelle // *Environmental Health Perspectives.* – 1977. -Vol. 20. - P. 127-130.
149. Intermittent cold exposure enhances fat accumulation in mice / H. Yoo, L. Qia, C. Bosco et al. // *Original research article.* – 2014. –Vol. 9. –P. sue 5 | e96432
150. Impaired control of body cooling during heterothermia represents the major energetic constraint in an aging non-human primate exposed to cold / J. Terrien, A. Zahariev, S. Blancet al. // *Critical Care.* – 2009. – Vol. 4. – P. 75-87
151. Jiang, S. Potential role of therapeutic hypothermia in the salvage of traumatic hemorrhagic shock / S. Jiang, Y. Zhao, X. Zhao // *Critical Care.* – 2013. – Vol. 17. – P. 318-322
152. Kane, K. A. The effect of the aminosteroid on hypothermia induced ventricular fibrillation in the cat / K. A. Kane, F. M. Mcdonald, J.R. Parratt // *Br. J. Pharmac.* – 1979. – Vol. 66. – P. 609-618.

153. Karnatovskaia, L. V. Therapeutic hypothermia for neuroprotection: history, mechanisms, risks, and clinical applications / L. V. Karnatovskaia, K. E. Wartenberg // *The Neurohospitalist*. - 2014. – Vol. 4(3). – P. 153-163.
154. Kheirbek, T. Resuscitation and emergency medicine hypothermia in bleeding trauma: a friend or a foe? / T. Kheirbek, A. R. Kochanek, H. B. Alam // *Scandinavian Journal of Trauma, Resuscitation and Emergency*. – 2009. – Vol. 17. – P. 65-71.
155. Kiyatkin, E. A. Brain temperature homeostasis: physiological fluctuations and pathological shifts / E. A. Kiyatkin // *Front Biosci. Behavioral Neuroscience*. – 2014. – Vol. 15. - P. 73–92.
156. Ledingham, I. Mc. A. Treatment of accidental hypothermia: a prospective clinical study / I. Mc. A. Ledingham, J.G. Mone // *British Medical Journal*. – 1980. – Vol. 4. – P. 1102-1106.
157. Liu, S. Strategies for therapeutic hypometabothermia / S. Liu, J.F. Chen // *J. Exp. Stroke Transl. Med*. – 2012. – Vol. 5(1). – P. 31–42.
158. Management of bleeding and coagulopathy following major trauma: an updated European guideline / D. R. Spahn, B. Bouillon, V. Cerny et al. // *Critical Care*. – 2013. – Vol. 17. – P. 76-82.
159. Management of profound accidental hypothermia with cardiorespiratory arrest / U. Althaus, P. Aeberhard, P. Schupbach et al. // *Accidental Hypothermia*. - 1981. - Vol. 195 (4). P. 492-495.
160. Mild hypothermia alone or in combination with anesthetic post-conditioning reduces expression of inflammatory cytokines in the cerebral cortex of pigs after cardiopulmonary resuscitation / P. Meybohm, M. Gruenewald, K. D. Zacharowski et al // *Critical Care*. – 2010. – Vol. 14. – P. 21-32
161. Moderate and deep hypothermia produces hyporesponsiveness to phenylephrine in isolated rat aorta / J. W. Cho, C. H. Lee, J. S. Jang et al. // *Korean J. Thorac. Cardiovasc. Surg*. - 2013. - Vol. 46. - P. 402-412
162. Moderate hypothermia induces marked increase in levels and nuclear accumulation of SUMO2/3-conjugated proteins in neurons / L. Wang, Q. Ma, W. Yang et al. // *J. Neurochem*. – 2012. – Vol. 123(3). – P. 349–359.

163. Moderate hypothermia prevents cardiac arrest-mediated suppression of drug metabolism and induction of interleukin-6 in rats / M. A. Tortorici, D. Pharm, Y. Mu et al. // *Crit. Care Med.* - 2009. - Vol. 37(1). - P. 263–269.
164. Morley, D. Rewarming for accidental hypothermia in an urban medical center using extracorporeal membrane oxygenation / D. Morley, K. Yamane // *Am. J. Case Rep.* – 2013. – Vol. 14. – P. 6-9.
165. Phillipson, E. A. Accidental exposure to freezing: clinical and laboratory observations during convalescence from near-fatal hypothermia / E. A. Phillipson, F. A. Herbert // *Canad. Med. Ass. J.* – 1967. - Vol. 97. – P. 23-25
166. Platelet aggregation and clot formation in comatose survivors of cardiac arrest treated with induced hypothermia and dual platelet inhibition with aspirin and ticagrelor; a prospective observational study / T. Kander, J. Dankiewicz, H. Friberg et al. // *Critical Care.* - 2014. - Vol. 18(495). - P. 1-9.
167. Polderman, K. H. Hypothermia and coagulation / K. H. Polderman // *Critical Care.* – 2012. – Vol. 16(Suppl 2):A20
168. Post-hypothermic cardiac left ventricular systolic dysfunction after rewarming in an intact pig model / O. M. Filseth, H. Hiviol, B. Jobs et al. // *Critical Care.* – 2010. – Vol. 14. – P. 211- 221
169. Poucke, V. Hypothermia: effects on platelet function and hemostasis / V. Poucke // *Thrombosis Journal.* – 2014. – Vol. 12. – P. 31-37.
170. Rankin, A. C. Cardiac arrhythmias during rewarming of patients with accidental hypothermia / A. C. Rankin, A.P. Rae // *British Medical Journal.* – 1984. – Vol. 289. – P. 874-880.
171. Recognition and Treatment of immersion Hypothermia / Editorials // *Proc. roy. Soc. Med.* – 1973. – Vol. 66. – P. 1058-1061
172. Resuscitation from cardiopulmonary arrest during accidental hypothermia due to exhaustion and exposure / G. Bristow, R. Smith, J. Lee // *CMA Journal.* – 1977. - Vol. 117. – P. 247-250.

173. Rewarming of healthy volunteers after induced mild hypothermia: a healthy volunteer study / A.B. Williams, A. Salmon, P. Graham et al. // *Emerg. Med. J.* – 2005. – Vol. 22. – P. 182–184.
174. Ribren, A. Elective cardiac arrest under moderate hypothermia / A. Ribren, H. Shtumacker // *Annals of Surgery.* – 1958. – Vol. 3. – P. 21-31.
175. Sabharwal, R. Effect of hypotermia on baroreflex control of heart rate and renal sympathetic nerve activity in anaesthetized rats / R. Sabharwal, J.H. Coote // *J. Physiol.* – 2004. – Vol. 557. – No 1. – P. 247-259 .
176. Sato, S. A comparative study of the effects of carbon dioxide and perfusion rewarming on limited circulatory occlusion during surface hypothermia, under halothane and ether anesthesia / S. Sato, V. Vanini // *Annals of Surgery.* – 2010. - Vol. 180. - No. 2. – P. 192-198.
177. Scaravilli, V. Rewarming: facts and myths from the systemic perspective / V. Scaravilli, D. Bonacina, G. Citerio // *Critical Care.* - 2012. – Vol. 16(Suppl 2). – P. 25-31.
178. Selective antegrade cerebral perfusion reduces brain injury following deep hypothermic circulatory arrest in the piglets' model by decreasing the levels of protein SUMO2/3-ylation / B. Li, Y. Zhu, A. Liu et al. // *Int. J. Clin. Exp. Med.* - 2014. - Vol. 7(11). - P. 4562-4571.
179. Seventy-two hours of mild hypothermia after cardiac arrest is associated with a lowered inflammatory response during rewarming in a prospective observational study / L.A. Bisschops, J. G.van der Hoeven, T. E. Mollnes et al. // *Critical Care.* - 2014. 1-8
180. So, H.Y. Therapeutic hypothermia / Hing-Yu So // *Korean J. Anesthesiol.* – 2010. – Vol. 59(5). – P. 299-304.
181. Stress-induced susceptibility to sudden cardiac death in mice with altered serotonin homeostasis // L. Carnevali, F. Mastorci, E. Audero, G. et al. // *Biopolymers and cell.* – 2012. – Vol. 7. – P. 41-44.
182. Systemic hypothermia increases PAI-1 expression and accelerates microvascular thrombus formation in endotoxemic mice / N. Lindenblatt, M. Menger, E. Klar et al. // *Critical Care.* - 2014. - Vol. 10 (5). - P. 1-9.

183. Temperature affects thrombolytic efficacy using rt-PA and eptifibatide, an in vitro study / J. M. Meunier, W.-T. W. Chang, B. Bluett et al. // *Therapeutic Hypothermia And Temperature Management*. – 2012. – Vol. 2(3). – P. 168-175
184. Therapeutic distant organ effects of regional hypothermia during mesenteric ischemiareperfusion injury / R. J. Santora, M. L. Lie, D. N. Grigoryev et al. // *J. Vasc. Surg.* - 2010. - Vol. 52(4). - P. 1003–1014.
185. Thermoregulatory correlates of nausea in rats and musk shrews / S. Ngampramuan, M. Cerri, F. D. Vecchio et al. // *Oncotarget*. – 2014. - Vol. 5. - No. 6. – P. 1565-1576
186. Thomas, M. Hypothermia after Acute Ischemic Stroke / M. Thomas , P. Lyden // *Journal Of Neurotrauma*. - 2009. - Vol. 26. - P. 387–391.
187. Tang, X. N. Hypothermia as a cytoprotective strategy in ischemic tissue injury / X. N. Tang, M. A. Yenar // *Ageing Res Rev*. - 2010. - Vol. 9(1). P. 61- 67.
188. Thompson, H. J. Hypothermia and rapid rewarming is associated with worse outcome following traumatic brain injury / H. J. Thompson, C. J. Kirkness, P. H. Mitchell // *J. Trauma Nurs*. – 2010. – Vol. 17(4). – P. 173–177.
189. Time Course of Physiological and Psychological Responses in Humans during a 20-Day Severe-Cold–Acclimation Programme / M. Brazaitis, N. Eimantas, L. Daniuseviciute et al. // *Critical Care*. – 2014. – Vol. 9. – P. 1-12
190. Tykhomyrov, A.A. Iinteraction of actin with plasminogen/plasmin system: mechanisms and physiological role / A.A. Tykhomyrov // *Biopolymers and cell*. - 2012. - T. 28. - № 6. - C. 413-423.
191. Van der Pal, J. Hypothermia in cardiogenic shock / J. van der Pals // *Critical Care*. – 2012. – Vol. 16(Suppl 2). – P. 21-28
192. Wang, D. Effects of hypothermia combined with neural stem cell transplantation on recovery of neurological function in rats with spinal cord injury / D. Wang, J. Zhang // *Molecular Medicine Reports*. - 2015. - Vol. 11. - P. 1759-1767.
193. White, K. D. Hypothermia in multiple sclerosis / K. D. White, D. J. Scoones, P. K. Newman // *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*. – 1996. – Vol. 61. – P. 369-375.

194. Wong, K. C. Physiology and pharmacology of hypothermia / K. C. Wong // The western journal of medicine. – 1983. – Vol. 138 (2). – P. 227-230.
195. Zanelli, S. Physiologic and pharmacologic considerations for hypothermia therapy in neonates / S. Zanelli, M. Buck, K. Fairchild // J. Perinatol. – 2011. – Vol. 31(6). – P. 377–386.
196. Zingg, W. The Management of Accidental Hypothermia / W. Zingg // Canad. Med. Ass. J. – 1967. – vol. 96. – P. 214-218.
197. Zhao, H. Limited therapeutic time windows of mild-to-moderate hypothermia in a focal ischemia model in rat / H. Zhao, G. Steinberg // Stroke Research and Treatment. – 2013. – Vol. 11. – P. 34 – 41.