

На правах рукописи

Николаев Владимир Юрьевич

**СОСТОЯНИЕ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА
ПРИ ОБЩЕМ ПЕРЕГРЕВАНИИ У КРЫС**

03.03.01 – физиология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Томск – 2016

Работа выполнена в государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Алтайский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Барнаул).

Научный руководитель:

Заслуженный работник высшей школы РФ,
доктор медицинских наук, доцент

Шахматов Игорь Ильич

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, профессор,
Заслуженный деятель науки РФ,
профессор кафедры нормальной физиологии
ГБОУ ВПО «Читинская государственная
медицинская академия» Министерства
здравоохранения Российской Федерации

Кузник Борис Ильич

доктор медицинских наук, профессор,
руководитель лаборатории
клеточно-молекулярной
физиологии и патологии ФГБНУ
«НИИ медицинских проблем Севера»

Савченко Андрей Анатольевич

Ведущая организация:

ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Новосибирск).

Защита состоится «__» _____ 2016 г. в ___ часов на заседании диссертационного совета Д 208.096.01 при государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 634050, г. Томск, Московский тракт, 2.

С диссертацией можно ознакомиться в научно-медицинской библиотеке ГБОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава РФ и на сайте www.ssmu.ru

Автореферат разослан «__» _____ 2016 г.

Ученый секретарь

Петрова Ирина Викторовна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Гипертермия – это состояние, вызванное искусственным согреванием всего тела или его части до уровня, превышающего рубеж 37°C, т.е. границы обычного теплового режима [Сумин С.А., 2000; Киншт Д.Н., Киншт Н.В., 2006]. С действием общего перегревания организм чаще всего сталкивается при изменении климатогеографических условий или находясь в специфических условиях труда [Султанов Ф.Ф., 1978; 1992; Ефремов А.В., Зайцев С.А., 2009; Библик Е.Ю., Алиева А.А., 2011; Смирнов С.Н., Мочалова И.С., 2013]. Смещение теплового режима в сторону повышения общей температуры тела влечет за собой изменения в функционировании всех систем организма [Сувернев А.В., Ефремов А.В., 2009]. В то же время существует медицинский вариант гипертермии – «управляемая гипертермия», в ходе которой допускается повышение температуры тела сверх 41 °С [Сувернев А.В., 2004, 2009; Киншт Д.Н., Киншт Н.В., 2006; Ефремов А.В., Овсянко Е.В., 2012; Верещагин И.П., Верещагин Е.И., 2013; Bert H., Wust P., 2002; Riadh W.Y., Bansal R., 2007; Qin S., 2015; Gao W., 2016]. Состояние организма при общем перегревании тела представляет собой один из вариантов стресса, так как гипертермия – явление, в отличие от лихорадочных состояний, пассивное, развивающееся на фоне максимального напряжения физиологических механизмов теплоотдачи [Воложин А.И., Порядина Г.В., 2006; Giuliano J.S., Lahni P. M., 2011; Broessner G., Fischer M., 2012; Bettaieb A., Wrzal P.K., 2013].

В зависимости от уровня ректальной температуры выделяют 5 стадий общего перегревания: стадия «безразличия» – при повышении ректальной температуры в среднем на 2,7 °С; на 5 °С – стадия «двигательного возбуждения»; при возрастании температуры на 5,8 °С – «период дыхательного истощения», «общего коматозного состояния» или «начальная стадия теплового удара» [Волков В.Е., 1982; Козлов Н.Б., 1990]. В стадию «разгара теплового удара» ректальная температура повышается в среднем на 6,4 °С [Тен В., 1969; Боженкова М.В., 2008], а при повышении ректальной температуры на 6,7 °С наступает «терминальная стадия теплового удара» [Боженкова М.В., 2008].

В развитии осложнений со стороны системной гемодинамики при экстремальных стрессорных воздействиях значительную роль играют нарушения в системе гемостаза [Балуда В.П., Баркаган З.С., Гольдберг Е.Д., 1980; Зубаиров Д.М., 2000; Кузник Б.И., 2010; Шахматов И.И., 2011; Кузник Б.И., Стуров В.Г., Максимова О.Г., 2012; von Kanel R. et al., 2009]. Установлено, что при увеличении температуры тела и крови скорость фермент-обусловленных реакций в каскаде системы гемостаза возрастает, что выражается в развитии феномена гиперкоагуляции. Степень выраженности температурно-обусловленного гиперкоагуляционного сдвига в системе гемостаза с последующим развитием коагулопатии потребления факторов свертывания может увеличить риск вероятности развития ДВС-синдрома [Верещагин И.П., Верещагин Е.И., 2013]. Важное значение имеет изучение

гемостазиологического профиля в постгипертермическом периоде. Известно, что большинство из пострадавших от общего перегревания погибают через несколько часов после прекращения действия чрезмерного тепла, когда температура тела приближается к нормальному диапазону [Волков В.Е., 1982; Xiaoming H., 2011].

Сообщается о повышении устойчивости организма к внешней высокой температуре с помощью предварительной тренировки в условиях тепловых камер [Козлов Н.Б., 1989]. В связи с этим определение оптимального тренировочного температурного режима для создания адаптационных резервов, повышающих толерантность к гипертермии, также является одной из актуальных задач.

Степень разработанности темы исследования

Изучению действия общего перегревания на организм человека посвящены исследования А.В. Сувернева, И.П. Верещагина, Д.Н. Киншта [Киншт Д.Н., Киншт Н.В., 2006; Сувернев А.В., 2004, 2009; Верещагин И.П., Верещагин Е.И., 2013]. В работах содержатся данные о функционировании сердечно-сосудистой, нервной, эндокринной систем при общей управляемой гипертермии у наркотизированных пациентов в условиях специальных стационаров. Исследование влияния различных режимов общего перегревания на систему гемостаза человека осуществлялось в цикле работ З.И. Даниловой [Данилова З.И., 1990]. Однако полученные данные имеют ограниченную ценность в виду того, что исследования проводились в условиях *in vitro*.

Действие общего перегревания на различные системы организма экспериментальных животных представлены в работах Ф.Ф. Султанова, А.В. Ефремова, И.В. Симаковой [Султанов Ф.Ф., 1978, 1992; Симакова И.В., 2005; Ефремов А.В., 2007, 2012], в них показаны гемодинамические нарушения на различных гипертермических уровнях. Исследование отдельных звеньев системы гемостаза у экспериментальных животных при различной степени общего перегревания также представлено в ряде работ [Бышевский А.Ш., 1990; Козлов Н.Б., 1989, 1990; Bert H., 2002]. При этом в перечисленных научных трудах отсутствует комплексная оценка состояния системы гемостаза.

Таким образом, в доступной литературе отсутствуют сообщения о характере изменений сосудисто-тромбоцитарного звена гемостаза, коагуляционной и фибринолитической активности крови при последовательном нарастании гипертермической нагрузки. Требуется дальнейшего уточнения изменения гемостазиологического статуса в постгипертермическом периоде. Недостаточно изучена возможность адаптации системы гемостаза к тепловому фактору. Совокупность выше обозначенных проблем представляет не только теоретический, но и практический интерес.

Цель исследования

Оценить влияние общего перегревания в воздушной среде на систему гемостаза крыс при однократном и многократном гипертермическом воздействии.

Задачи исследования

1. Оценить состояние системы гемостаза крыс при возрастании ректальной температуры от 39,5 °С до 43,6 °С после общего однократного перегревания в воздушной среде.
2. Исследовать влияние гипертермического воздействия на систему гемостаза в постгипертермическом периоде у крыс после достижения стадий «двигательного возбуждения» и «разгара теплового удара».
3. Оценить состояние системы гемостаза крыс после многократного общего перегревания в воздушной среде при температуре 45 °С.
4. Выявить признаки долговременной адаптации со стороны системы гемостаза крыс к многократному общему перегреванию.

Научная новизна. Впервые установлено, что по мере нарастания гипертермической нагрузки при однократном общем перегревании крыс наблюдаются фазные изменения в системе гемостаза. Показано, что повышение ректальной температуры до 41,7°С (стадия «двигательного возбуждения»), оказывает активирующее влияние на сосудисто-тромбоцитарное и коагуляционное звенья системы гемостаза на фоне угнетения физиологических антикоагулянтов и фибринолиза, характеризующих состояние тромботической готовности. При дальнейшем перегревании организма (с 42,5 °С до 43,6 °С) ответ системы гемостаза на температурное воздействие меняется на гипокоагуляционный, что проявляется в последовательном угнетении сосудисто-тромбоцитарного и всех этапов каскада коагуляционного гемостаза, а также снижении активности физиологических антикоагулянтов и фибринолиза.

Получены новые данные о том, что в раннем постгипертермическом периоде, регистрируемом после достижения ректальной температуры 41,7 °С, состояние тромботической готовности у животных сохраняется на протяжении первых 5 часов, а при перегревании до 43,2 °С – впервые регистрируется по истечении 5 часов после прекращения гипертермического воздействия, исчезая к окончанию первых суток.

Установлено, что 30-дневное общее перегревание в воздушной среде при температуре 45 °С повышает адаптационные резервы организма, оптимизируя ответную реакцию системы гемостаза на гипертермию, что проявляется в сочетанной активации конечного этапа свертывания крови и фибринолиза.

Теоретическая значимость работы

Описан гемостазиологический статус, характерный для каждой стадии общего перегревания при однократном гипертермическом воздействии. Показано, что при однократном общем перегревании регистрируются фазные изменения гемостазиологического профиля лабораторных животных по мере увеличения ректальной температуры от 39,5 °С до 43,6 °С: от гиперкоагуляции, приводящей к состоянию тромботической готовности на ранних стадиях гипертермии, до выраженной гипокоагуляции на фоне угнетения фибринолитической активности на конечных этапах общего перегревания.

Выявлено, что в постгипертермическом периоде длительность состояния тромбоцитарной готовности возрастает по мере увеличения степени предшествующего перегрева.

Установлены факты, подтверждающие формирование долговременной адаптации под воздействием многократного общего перегрева как со стороны всего организма, так и системы гемостаза, в частности. Показано, что 30-дневное общее перегревание в воздушной среде при температуре 45 °С, по сравнению с однократным гипертермическим воздействием, приводит к исчезновению большинства признаков состояния тромбоцитарной готовности. При этом гемостазиологический профиль характеризуется сочетанной активацией конечного этапа свертывания крови и фибринолиза.

Результаты исследования позволяют расширить существующие представления о влиянии общего перегрева на систему гемостаза с позиций развития адаптационного синдрома.

Практическая значимость работы. Полученные данные могут быть использованы при разработке способов повышения тепловой устойчивости организма человека и предупреждения развития отрицательных последствий общего перегрева при различных видах трудовой деятельности, сопровождающихся внешним гипертермическим воздействием. Экспериментальные данные могут являться теоретической базой для обоснования использования антикоагулянтов и дезагрегантов при развитии теплового удара вследствие неизбежной гипертермии, что позволит снизить риск развития гемостазиологических осложнений и может быть использовано в качестве метода как профилактического, так и терапевтического воздействия.

Сведения о формировании долговременной адаптации со стороны системы гемостаза в ответ на многократное воздействие, показанные в работе, позволят выработать новые методические подходы в подготовке к неизбежной гипертермической нагрузке.

Результаты диссертационного исследования используются в учебном процессе на кафедре нормальной физиологии и кафедре патофизиологии, клинической патофизиологии с курсом ФПК и ППС ГБОУ ВПО АГМУ Минздрава России.

Методология и методы исследования. Согласно поставленным задачам были выбраны современные скрининговые и интегральные лабораторные методы оценки системы гемостаза, которые выполнялись на базе научно-исследовательской лаборатории гемостаза кафедры нормальной физиологии ГБОУ ВПО АГМУ Минздрава России.

В крови определяли показатели, характеризующие:

- сосудисто-тромбоцитарное звено гемостаза (количество тромбоцитов и их агрегационная активность);
- коагуляционное звено гемостаза (АПТВ, ПВ, ТВ, ВПФМ, концентрация фибриногена, РФМК, активность АТ III, время спонтанного эуглобулинового лизиса).

Кроме того, в работе использовался интегральный метод оценки гемостаза – тромбоэластография (СТ, α° , CFT, MCF, ML).

Все полученные результаты подвергались статистической обработке.

Положения, выносимые на защиту

1. В зависимости от достигнутой температуры ядра при однократном общем перегревании крыс в воздушной среде выявляются фазные изменения в системе гемостаза. На начальных этапах гипертермии регистрируется состояние тромботической готовности, характеризующееся гиперкоагуляционными сдвигами в сосудисто-тромбоцитарном и коагуляционном звеньях гемостаза, а также снижением активности физиологических антикоагулянтов и фибринолиза. При дальнейшем перегревании состояние системы гемостаза характеризуется гипокоагуляцией на фоне фазных изменений фибринолитической активности.

2. На ранних этапах постгипертермического периода при ректальной температуре в интервале 41,7-43,2 °С формируется состояние тромботической готовности, проявляющееся в активации сосудисто-тромбоцитарного и коагуляционного звеньев гемостаза, угнетении физиологических антикоагулянтов и фибринолиза.

3. Ежедневные гипертермические нагрузки в течение месяца приводят к формированию долговременной адаптации со стороны системы гемостаза к высокой температуре, основным критерием которой является исчезновение признаков состояния тромботической готовности, регистрируемых по окончании однократного общего перегревания такой же продолжительности.

Степень достоверности и апробации результатов. Материалы исследования были доложены и обсуждены на заседаниях кафедры нормальной физиологии Алтайского государственного медицинского университета (2013-2015 гг.); на XXII съезде физиологического общества имени И.П. Павлова (г. Волгоград, 16-20.09.2013 г.); на международной научно-практической конференции «Нейрогуморальные механизмы регуляции висцеральных функций в норме и патологии», посвященной памяти профессора Е.Ф. Ларина (г. Томск, 19-20 ноября 2013 г.); на V Международном молодёжном медицинском конгрессе «Санкт-Петербургские научные чтения – 2013» (г. Санкт-Петербург, 04-06 декабря 2013 г.); на XX Всероссийской конференции молодых учёных с международным участием «Актуальные проблемы патофизиологии – 2014» (г. Санкт-Петербург, 10 апреля 2014 г.); на IV Съезде физиологов СНГ (г. Сочи, 8-12 октября 2014 г.), на V Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых «Сибирские медико-биологические чтения» (Барнаул, 15 мая 2015 г.), на XVII городской научно-практической конференции молодых ученых «Молодежь – Барнаулу» (г. Барнаул, 16-21 ноября 2015 г.).

Внедрение результатов исследования. Результаты диссертационного исследования используются в учебном процессе в рамках изучения нормальной физиологии

(разделы «Терморегуляция и обмен веществ», «Гемостаз») и патологической физиологии (раздел «Ответ острой фазы. Лихорадка») на базе кафедр нормальной и патологической физиологии, клинической патофизиологии с курсом ФПК и ППС ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 16 научных работ, в том числе 5 статей – в рецензируемых журналах из перечня научных изданий, рекомендованных ВАК при Минобрнауки Российской Федерации для опубликования основных научных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук.

Объем и структура диссертации. Диссертационная работа изложена на 193 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, 3 глав собственных исследований, обсуждения результатов, заключения, выводов, списка использованной литературы. Диссертация иллюстрирована 20 таблицами, 72 рисунками. Библиографический указатель всего включает 201 источник, из них – 124 отечественных и 77 иностранных источников.

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.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В качестве объекта исследования использовали 475 белых половозрелых крыс-самцов линии Wistar как наиболее устойчивых к стрессорным повреждениям сердечно-сосудистой системы [Судаков К.В., 1990]. Масса тела животных контрольных и опытных групп в разных сериях экспериментов статистически не отличалась и составляла $228,2 \pm 21,2$ г и $236,1 \pm 20,5$ г соответственно ($p > 0,05$).

Содержание животных отвечало международным рекомендациям проведения медико-биологических исследований с использованием животных по правилам GPL. Использование крыс в экспериментах осуществляли в соответствии с Европейской конвенцией по охране позвоночных животных, используемых в эксперименте (1986). Материалом для исследования являлась как цельная кровь, так и плазма крови, богатая и бедная тромбоцитами. На протяжении всего периода эксперимента производилось взвешивание животных, а также осуществлялось измерение ректальной температуры. Разрешение на проведение исследования получено в локальном этическом комитете (№ 13 от 28.11.2012 г.).

Общая гипертермия у лабораторных животных моделировалась с помощью воздушного термостата при температуре 45 °С. Здоровые крысы помещались в тепловую камеру на определенное время, в зависимости от достижения различных стадий общей гипертермии (таблица 1). Градация стадий эксперимента, определяющих момент прекращения гипертер-

мического воздействия, проводилась на основании литературных данных [Боженкова М.В., 2008], подтвержденных результатами собственных исследований.

Для изучения основных показателей системы гемостаза при однократном общем перегревании в воздушной среде было сформировано по 5 опытных и контрольных групп животных, по 17 особей в каждой группе. Контрольную группу животных содержали в аналогичных условиях при комнатной температуре воздуха (от 22 до 24 °С). Кровь забиралась у крыс сразу после прекращения опытного воздействия.

Для моделирования однократного воздействия гипертермии, отсроченного во времени, были определены две стадии: стадия «двигательного возбуждения» и стадия «разгара теплового удара». Выбор этих режимов был обусловлен тем, что данные стадии характеризовались наиболее выраженными разнонаправленными изменениями в состоянии системы гемостаза, зафиксированными сразу по окончании однократного общего гипертермического воздействия. Экспериментальные животные помещались в тепловую камеру при температуре 45 °С на определенное время, в зависимости от конкретной стадии гипертермии, моделируемой в ходе эксперимента. Затем крысы перемещались в клетки на 5, 12, 24, 48 часов при комнатной температуре (от 22 до 24 °С), после чего у них брали кровь для исследования. Проведено 16 серий опытов, в каждую контрольную группу входило по 10, а в опытную - по 15 особей.

Многokратное воздействие гипертермии оценивалось на протяжении 30 дней, в ходе которых животные подвергались гипертермии в течение 19 минут. Контролем служила кровь животных, находившихся в аналогичных условиях при комнатной температуре воздуха (от 22 до 24 °С). Забор крови в опытной и контрольной группах осуществлялся на 7, 15, 30, а также 31 сутки из печеночного синуса под эфирным наркозом в объеме 5 мл. Стабилизация и получение образцов плазмы крови осуществлялись по рекомендациям А.П. Момота и З.С. Баркагана (2008).

В пробах крови и плазмы определяли следующие показатели: количество тромбоцитов ($\times 10^9/л$); АДФ – индуцированная агрегация тромбоцитов по Born A.G. (1962); силиконовое время свертывания по Beller, Graeff (1971); активированное парциальное тромбопластиновое время (АПТВ) по Caen et al. (1968); протромбиновое время свертывания по Quick (1935); фенантролиновый тест (ФТ) по Елыкомову В.А. и Момоту А.П. (1987); содержание фибриногена в плазме по Clauss (1961); уровень антитромбина III в плазме крови по Макарову В.А. и соавт. (2002); спонтанный эуглобулиновый лизис по Kowarzyk, Vuluck (1954); активационная тромбоэластография (Rotem, Германия); время полимеризации фибрин-мономерных комплексов по Момоту А.П. (2010).

Таблица 1 – Характеристика экспериментальных групп

Серия	Контрольная группа	Опытная группа		
	<i>n</i>	<i>n</i>	Время экспозиции, мин	Средняя ректальная температура после перегрева, °С
Однократное гипертермическое воздействие				
Стадия «безразличия»	15	17	11	39,5
Стадия «двигательного возбуждения»	15	17	19	41,7
Стадия «начала теплового удара»	15	17	28	42,5
Стадия «разгара теплового удара»	15	17	33	43,2
«Терминальная стадия теплового удара»	15	17	36	43,6
Отставленное влияние общего перегрева				
Стадия «двигательного возбуждения»				
Постгипертермический период - 5 ч	10	15	19	41,7
Постгипертермический период – 12 ч	10	15	19	41,7
Постгипертермический период – 24 ч	10	15	19	41,7
Постгипертермический период – 48 ч	10	15	19	41,7
Стадия «разгара теплового удара»				
Постгипертермический период – 5 ч	10	15	33	43,2
Постгипертермический период – 12 ч	10	15	33	43,2
Постгипертермический период – 24 ч	10	15	33	43,2
Постгипертермический период – 48 ч	10	15	33	43,2
Множественное гипертермическое воздействие				
Множественная гипертермия (7 дней)	10	10	19	41,7
Множественная гипертермия (15 дней)	10	10	19	41,3
Множественная гипертермия (30 дней)	10	10	19	40,7
Отставленное влияние множественного общего перегрева				
Постгипертермический период – 24 ч	10	10	19	40,7

Все коагулологические исследования были выполнены с использованием наборов реагентов для исследования системы гемостаза ООО фирмы «Технология-Стандарт», г. Барнаул.

Статистическая обработка данных проводилась на персональном компьютере с использованием статистических программ STATISTICA 6.0 (StatSoft Inc, Tulsa, Oklahoma, США), Microsoft Excel 2003. При анализе имеющихся выборок данных использовали гипотезу нормальности распределения (критерий Шапиро-Уилка). Для расчета статистической значимости различий использовался непараметрический U-критерий Манна-Уитни. Данные непараметрических совокупностей представлены в виде медианы (Me) и квартилей (25 и 75%). Для всех тестов статистически достоверными считались различия, уровень значимости которых отвечал условию $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящее время известно, что действие теплового фактора на организм вызывает развитие классической стресс-реакции, характеризующейся активацией симпатoadrenalовой системы [Чвырев В.Г., 2000]. При этом 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 гемостазиологические нарушения, приводящие как к угрозе развития внутрисосудистого свертывания, так и к гипокоагуляционным сдвигам [Балуда В.П., Баркаган З.С., Гольдберг Е.Д., 1980; Кузник Б.И., 2010, Шахматов И.И., 2010, 2011].

Исходя из вышеизложенного, был проведен цикл исследований, посвященных изучению состояния системы гемостаза на различных стадиях общего перегревания, в постгипертермическом периоде, а также при многократных гипертермических нагрузках.

Состояние системы гемостаза при однократном общем перегревании. По мере увеличения времени гипертермического воздействия и, как следствие, повышения уровня ректальной температуры в кровотоке животных наблюдались разнонаправленные изменения со стороны системы гемостаза (рисунок 1).

Гипертермическое воздействие на экспериментальных животных в течение 11 минут, приводившее к достижению температуры ядра $39,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ (рисунок 1А), сопровождалось угнетением сосудисто-тромбоцитарного звена гемостаза, активацией внутреннего звена и конечного этапа свертывания плазмы крови, повышением количества фибриногена и угнетением активности фибринолитической системы крови. При дальнейшем общем перегревании (в течение 19 минут) и достижении ректальной температуры $41,7\text{ }^{\circ}\text{C}$ (рисунок 1Б), было зарегистрировано смещение гемостазиологи-

ческого профиля крови крыс в сторону значительной гиперкоагуляции с появлением признаков развития внутрисосудистого тромбообразования, не компенсированных активацией антикоагулянтной и фибринолитической систем.

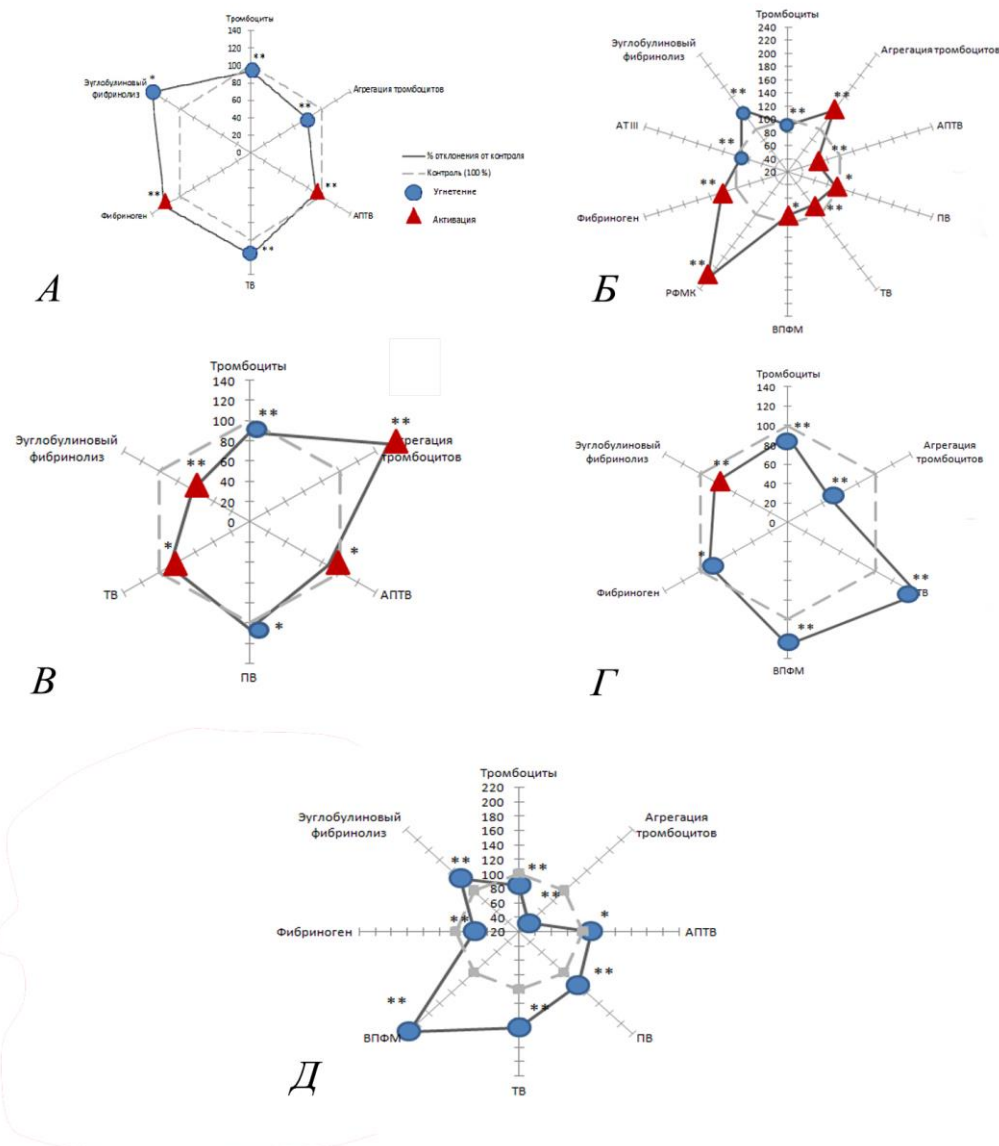


Рисунок 1. Показатели системы гемостаза крыс при однократном общем гипертермическом воздействии по достижении ректальной температуры: А – 39,5 °С (стадия «безразличия»); Б – 41,7 °С (стадия «двигательного возбуждения»); В – 42,5 °С (стадия «начала теплового удара»); Г – 43,2 °С (стадия «разгара теплового удара»); Д – 43,6 °С («терминальная стадия теплового удара»)

Примечание: Здесь и далее на рисунке представлены данные, выраженные в % относительно «контроля». «Контроль» обозначен пунктиром.

▲ – активация; ● – угнетение.

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

На формирование данного процесса указывал рост агрегационной активности тромбоцитов, гиперкоагуляция на всех этапах каскада гемостаза, увеличение уровня РФМК, а также снижение уровня антитромбина III на фоне угнетения фибринолити-

ческой активности плазмы. После 28-минутного гипертермического воздействия на экспериментальных животных при достижении ректальной температуры 42,5 °С (рисунок 1В), происходило снижение количества тромбоцитов и повышение их агрегационной функции.

В плазменном звене системы гемостаза регистрировалась гиперкоагуляция по внутреннему и гипокоагуляция по внешнему пути, сопровождавшаяся гиперкоагуляцией на конечных этапах свертывания. Кроме того, отмечалось повышение уровня антитромбина III и активация фибринолитической системы крови. По достижении экспериментальными животными уровня температуры ядра 43,2 °С (рисунок 1Г), регистрировалось угнетение сосудисто-тромбоцитарного звена гемостаза и конечного этапа свертывания плазмы крови на фоне активации фибринолитической системы. Общее перегревание экспериментальных животных в течение 36 минут, в ходе которого уровень температуры ядра достигал 43,6 °С (рисунок 1Д), сопровождалось снижением агрегационной функции тромбоцитов, выраженной гипокоагуляцией по внутреннему и внешнему путям свертывания, а также на конечном его этапе. Кроме того, вновь отмечалось угнетение фибринолитической системы крови.

Таким образом, в зависимости от длительности однократного общего перегревания в воздушной среде, необходимого для достижения той или иной температуры ядра, регистрируются фазные изменения в системе гемостаза, характеризующиеся постепенным переходом от состояния тромботической готовности на начальных стадиях перегревания к существенной гипокоагуляции в системе гемостаза на конечных этапах общей гипертермии.

Состояние системы гемостаза крыс в отставленные временные периоды по окончании однократного общего гипертермического воздействия. По данным литературы известно, что действие общего перегревания на организм не заканчивается непосредственно по завершении гипертермии, а продолжается и после, обладая собственными пост-эффектами, которые оказывают влияние на функционирование организма на протяжении продолжительного периода времени [Козлов Н.Б., 1990; Белкин А.Д., 2006]. Исходя из этого, вызывает интерес изучение состояния системы гемостаза по завершении различного по продолжительности восстановительного периода.

В результате проведенных экспериментов было установлено, что сразу по завершении однократного общего перегревания до ректальной температуры 41,7 °С со стороны системы гемостаза формировалось состояние тромботической готовности с угнетением фибринолитической системы крови. Признаки нормализации ряда показателей системы гемостаза появлялись по прошествии первых 5 часов восстановительного периода после окончания однократного общего перегревания (рисунок 2А).

На фоне сохраняющегося повышенного количества тромбоцитов и гиперкоагуляции по внутреннему и внешнему путям активации свертывания крови регистра-

лось снижение агрегационной функции тромбоцитов, а также появление разнонаправленных изменений показателей, оценивающих конечный этап свертывания, сопровождавшихся активацией фибринолитической системы крови. Данный период можно охарактеризовать как начальный этап нормализации состояния системы гемостаза по завершении воздействия на организм однократного общего перегревания до ректальной температуры 41,7 °С. Анализ результатов, характеризующих состояние системы гемостаза по прошествии 12, 24 и 48 часов (рисунок 2Б, В, Г), выявлял признаки продолжающейся стабилизации основных показателей системы гемостаза. Однако последовательное угнетение фибринолитической активности плазмы крови, регистрируемое на тех же временных промежутках, не позволяло охарактеризовать суммарное состояние системы гемостаза как полноценное восстановление её параметров к исходному уровню.

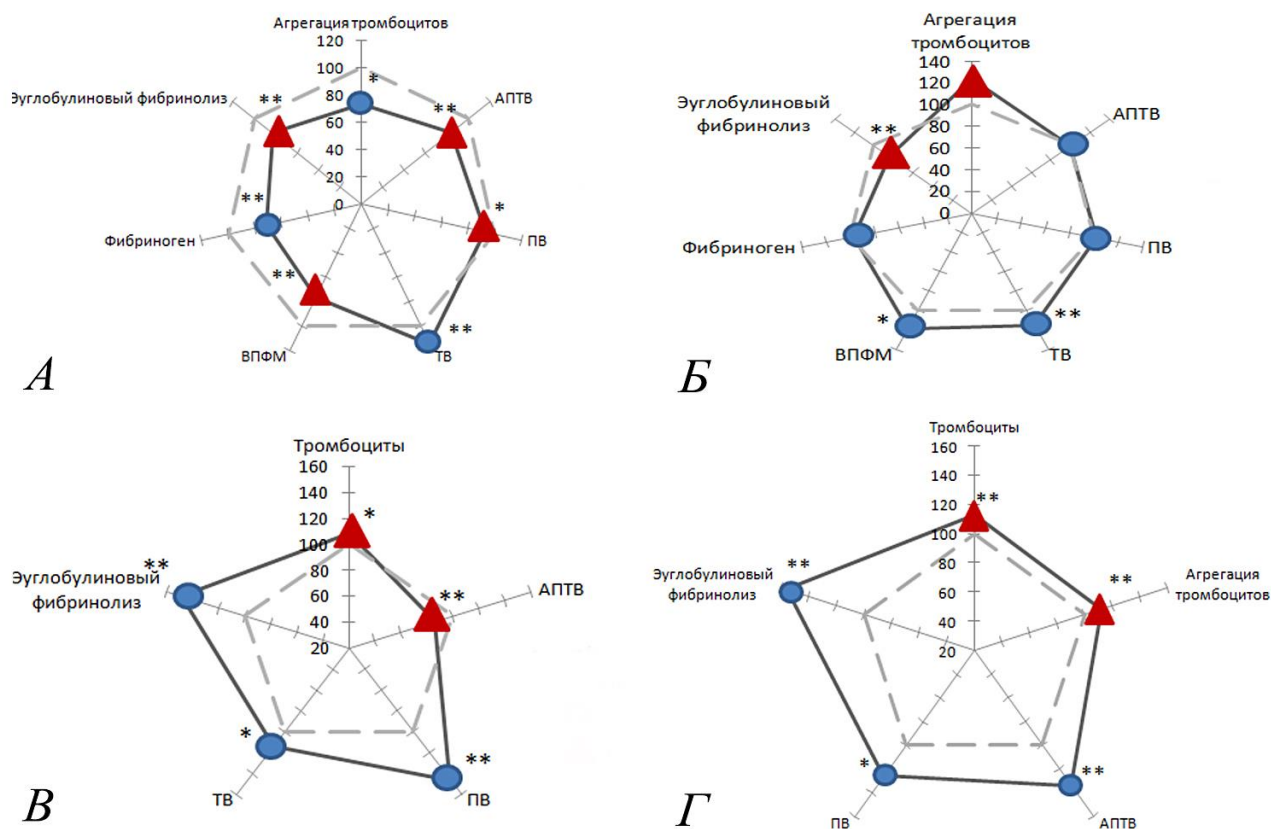


Рисунок 2. Показатели системы гемостаза крыс в постгипертермическом периоде стадии «двигательного возбуждения»: А – через 5 часов после воздействия; Б – через 12 часов после воздействия; В – через 24 часа после воздействия; Г – через 48 часов после воздействия

Предварительное общее перегревание до достижения ректальной температуры 43,2 °С характеризовалось развитием состояния тромботической готовности, которое сохранялось на протяжении первых 12-часов постгипертермического периода (рисунок 3А, Б).

В последующем (по истечении первых суток наблюдений) регистрировалась стабилизация гемостазиологической картины, выражавшаяся в снижении вероятности развития состояния тромботической готовности, описанного на более ранних этапах восстановительного периода (рисунок 3В, Г). Однако угнетение фибринолитической активности плазмы крови на фоне активации сосудисто-тромбоцитарного гемостаза и гиперкоагуляции на конечном этапе свертывания, зарегистрированные к окончанию вторых суток восстановительного периода, не позволяли охарактеризовать суммарное состояние системы гемостаза как полноценное восстановление её параметров к исходному уровню.

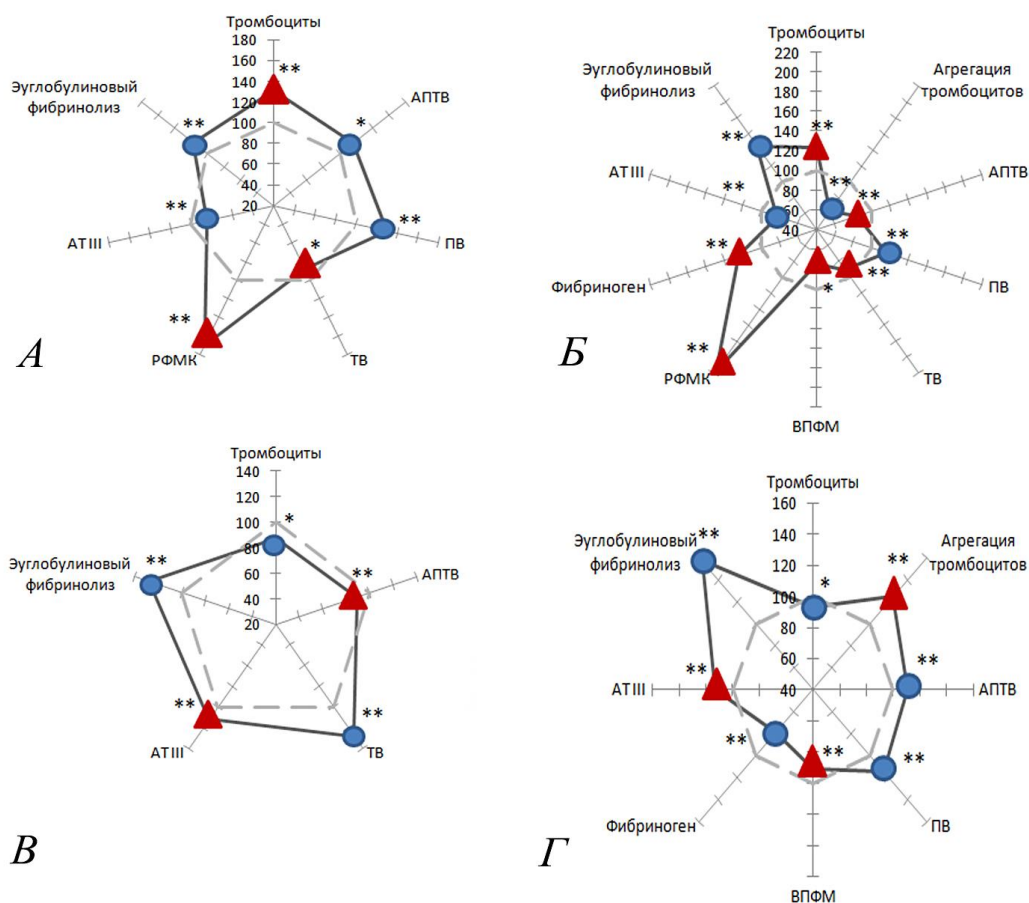


Рисунок 3. Показатели системы гемостаза крыс в постгипертермическом периоде стадии «разгара теплового удара»: А – через 5 часов после воздействия; Б – через 12 часов после воздействия; В – через 24 часа после воздействия; Г – через 48 часов после воздействия

Состояние системы гемостаза крыс при многократном ежедневном общем перегревании. В ходе оценки состояния системы гемостаза крыс при многократном общем перегревании в воздушной среде на различных этапах 30-дневного тренировочного цикла ежедневных общих перегреваний при 45 °С в течение 19 минут были

получены следующие результаты.

По завершении 7-дневных гипертермических тренировок продолжал фиксироваться повышенный уровень маркеров тромбинемии, выявленный при однократном воздействии (рисунок 4А). Так, у крыс опытной группы была зарегистрирована активация сосудисто-тромбоцитарного звена гемостаза, гиперкоагуляция по внутреннему пути активации свертывания крови, а также на конечных его этапах. Кроме того, повышался уровень РФМК и фибриногена на фоне угнетения фибринолитической активности крови.

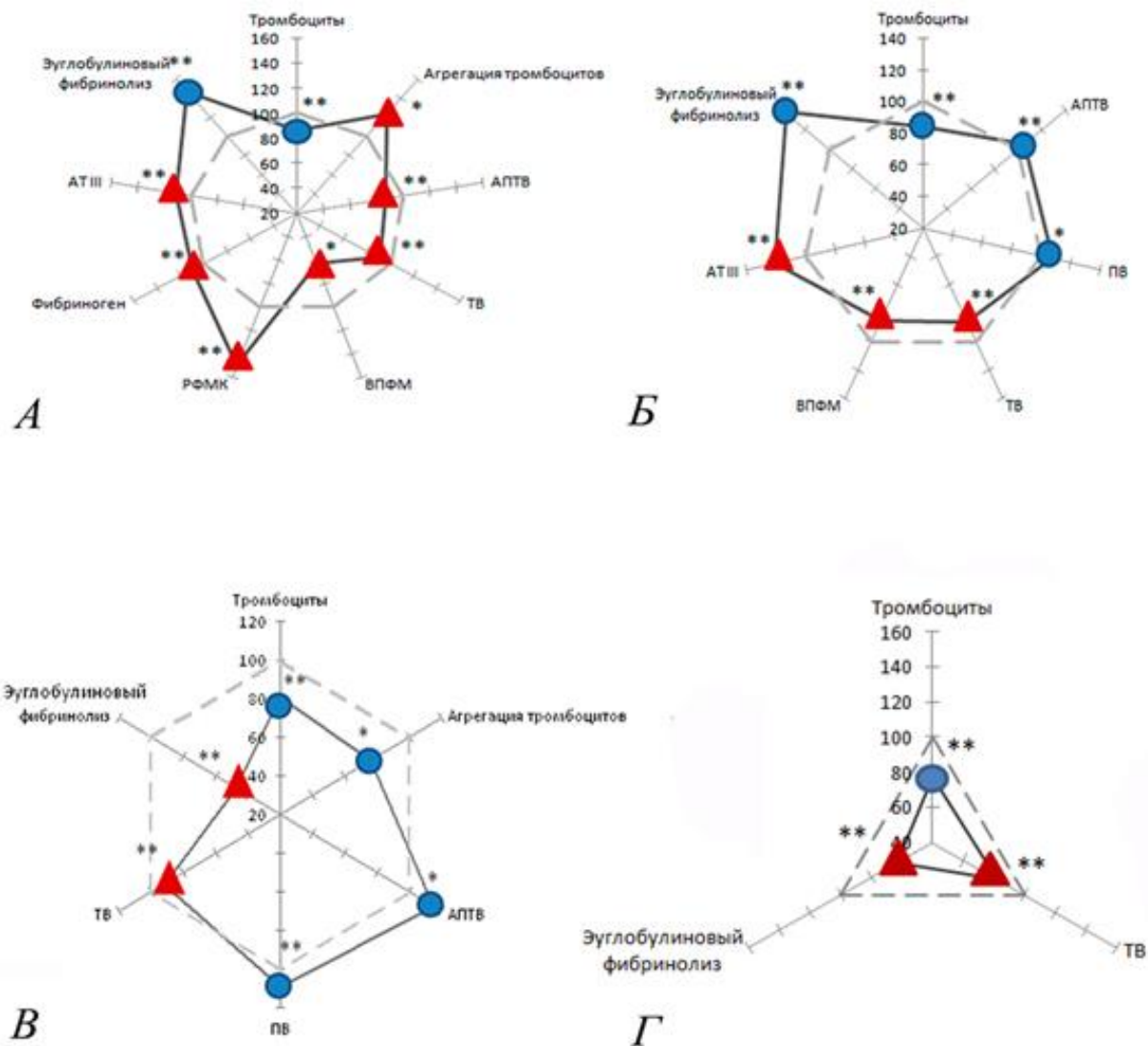


Рисунок 4. Показатели системы гемостаза крыс в ходе многократного общего перегревания в термостате при 45 °С в течение 19 минут: А – по истечении 7 дней; Б – по истечении 15 дней; В – по истечении 30 дней; Г – через сутки после завершения 30-дневной многократной общей гипертермии по сравнению с данными, полученными после однократного воздействия аналогичной интенсивности

Таким образом, на всем протяжении первой недели гипертермических тренировок

регистровалась устойчивая гиперкоагуляция. В то же время было отмечено возрастание концентрации антикоагулянтов плазмы крови, сниженной при однократном воздействии.

Анализ показателей, оценивающих состояние системы гемостаза по прошествии 15 дней многократного общего перегревания экспериментальных животных, показал, что данный вид гипертермической тренировки приводил к частичному восстановлению показателей сосудисто-тромбоцитарного звена гемостаза на фоне сохраняющейся гиперкоагуляции по внутреннему и внешнему путям активации свертывания крови (рисунок 4Б).

По сравнению с данными предыдущего тренировочного периода (7 дней) после 15 дней общего перегревания регистрировалась гипокоагуляция на конечном этапе свертывания плазмы крови. Уровни фибриногена и РФМК восстанавливались до контрольных значений. В то же время по-прежнему оставалась повышенной концентрация антикоагулянтов, а также сохранялось зарегистрированное ранее угнетение активности фибринолитической системы плазмы крови. Таким образом, можно предположить, что данный тренировочный период являлся переходным этапом в адаптационных изменениях со стороны системы гемостаза к многократным ежедневным общим гипертермическим нагрузкам.

Ежедневное 30-кратное общее гипертермическое воздействие (рисунок 4В) на экспериментальных животных приводило к угнетению сосудисто-тромбоцитарного звена гемостаза, а также гипокоагуляции как по внутреннему, так и по внешнему путям активации свертывания крови. При этом зарегистрированная гиперкоагуляция на конечном этапе свертывания плазмы крови компенсировалась выраженной активацией фибринолитической системы крови. Таким образом, к 30-му дню гипертермических воздействий практически исчезали все признаки состояния тромботической готовности, регистрируемой по окончании однократного общего перегревания. Анализ вышеизложенных данных позволяет охарактеризовать суммарное состояние системы гемостаза после месяца многократных общих перегреваний как полноценное восстановление её параметров и развитие долговременной адаптации к данному виду стрессора, а гемостазиологический ответ, регистрируемый при этом, можно охарактеризовать как эустрессорную реакцию со стороны системы гемостаза.

Известно, что ежедневные гипертермические воздействия оказывают влияние как на массу тела, так и на температуру ядра опытных крыс, которые, в свою очередь, напрямую зависят от силы возмущающего стимула и степени адаптированности животных к этому воздействию [Тен В., 1969; Козлов Н.Б., 1990]. Отсутствие снижения массы тела животных после 30-кратных ежедневных тренировок свидетельствовало в пользу того, что данный режим многократного гипертермического воздействия не выходил за рамки эустрессорного уровня и являлся тренирующим.

Установлено, что наибольшая разница температур – 5,0 °С, регистрируемая до и сразу после окончания гипертермического воздействия, была зафиксирована на 3-й день общего перегревания, а наименьшая (2,6 °С) – на 24-й и 30-й дни гипертермии. Повышение абсолютных значений ректальной температуры на 3-5-й день эксперимента относительно величины ректальной температуры, отмеченной по завершении однократного воздействия, можно расценить как проявление незавершённой адаптации, в ходе которой ещё не сформировались адаптационные резервы, позволяющие более устойчиво поддерживать температуру ядра на постоянном уровне при внешних гипертермических воздействиях.

Последующие наблюдения показали, что, начиная с 10-го и по 30-й день (вплоть до завершения эксперимента), было зафиксировано достоверное снижение прироста температуры ядра крыс в ответ на повторяющееся гипертермическое воздействие.

Таким образом, предварительное заключение о развитии у животных признаков долговременной адаптации со стороны системы гемостаза в ответ на многократные гипертермические воздействия, нашло подтверждение в ходе описанных выше наблюдений (отсутствие снижения массы тела у животных на всём протяжении эксперимента, а также последовательное снижение подъема ректальной температуры у лабораторных животных, начиная с 10-го и по 30-й экспериментальный день). Из вышеизложенного следует, что выбранная для крыс модель многократного гипертермического воздействия не превышала по своим параметрам уровень тренировочного режима.

Для оценки состояния системы гемостаза в ходе восстановительного периода после завершения 30-дневного цикла гипертермических воздействий у животных, адаптированных к длительной гипертермии, была проведена следующая группа экспериментов. Забор крови для оценки показателей системы гемостаза происходил не сразу по завершении 30-го гипертермического воздействия, а через сутки после заключительного общего перегревания.

Как следует из представленных на рисунке 4Г – результатов, у крыс опытной группы количество тромбоцитов снижалось. При этом их агрегационная активность достоверно не отличалась от группы контроля. Со стороны внутреннего и внешнего пути активации свертывания крови не было выявлено статистически значимых различий в реакциях опытной и контрольной групп. Уровень фибриногена, РФМК и активность антикоагулянтной системы крови в опытной группе также достоверно не отличались от группы контроля. В то же время стоит отметить, что через сутки после окончания цикла гипертермических воздействий сохранялась зарегистрированная сразу после окончания аналогичного цикла гиперкоагуляция на конечном этапе свертывания на фоне существенной активации фибринолитической системы.

Таким образом, гипертермия, приводящая к повышению ректальной температуры до 41,7 °С, при кратковременном воздействии обладает активирующим влиянием как на сосудисто-тромбоцитарное, так и на коагуляционное звено системы гемостаза на фоне угнетения системы физиологических антикоагулянтов и фибринолиза. При дальнейшем перегревании организма (начиная с ректальной температуры 42,5 °С) ответ системы гемостаза на температурное воздействие изменяется на гипокоагуляционный.

В раннем восстановительном периоде у всех животных (в интервале ректальных температур 41,7-43,2 °С) наблюдается состояние тромботической готовности.

Тренировочный режим (19-минутное общее перегревание в течение 30 дней в воздушной среде при температуре 45 °С) повышает адаптационные резервы организма, оптимизируя ответную реакцию системы гемостаза на гипертермию, что проявляется в сочетанной активации конечного этапа свертывания крови и фибринолиза.

Результаты проведенных исследований могут быть использованы при определении критериев риска развития тромботических или гемофилических осложнений, их тяжести на различных стадиях общего перегревания, а также для возможного предотвращения негативных последствий как непреднамеренного, так и преднамеренного гипертермического воздействия на организм.

ВЫВОДЫ

1. Однократное общее перегревание в воздушной среде сопровождается фазными изменениями со стороны системы гемостаза крыс. На стадии «безразличия» при достижении ректальной температуры 39,5 °С происходит смещение гемостатического потенциала в сторону гиперкоагуляции. При температуре ядра 41,7 °С (стадия «двигательного возбуждения») регистрируется развитие тромботической готовности. На стадии «начала теплового удара» (ректальная температура 42,5 °С) гемостазиологический профиль характеризуется как гипер-, так и гипокоагуляционными изменениями. При достижении температуры ядра 43,2 °С (стадия «разгара теплового удара») гемостатический потенциал смещается в сторону гипокоагуляции. На «терминальной стадии теплового удара» при достижении ректальной температуры 43,6 °С ответ системы гемостаза характеризуется выраженной гипокоагуляцией.

2. Постгипертермический период характеризуется состоянием тромботической готовности, продолжительность которого зависит от стадии общего перегревания. На стадии «двигательного возбуждения» при ректальной температуре 41,7 °С состояние тромботической готовности сохраняется в течение 5 часов, на стадии «разгара теплового удара» при температуре ядра 43,2 °С – в течение 12 часов постгипертермического периода.

3. Многократное общее перегревание крыс при условиях: 19 минут в течение 30 суток при температуре 45 °С – сопровождается исчезновением большинства признаков состоя-

ния тромботической готовности – повышенной концентрации РФМК, угнетения физиологических антикоагулянтов и фибринолиза, регистрируемых по окончании однократного общего перегревания в аналогичных условиях.

4. Признаками долговременной адаптации к многократному гипертермическому воздействию со стороны системы гемостаза крыс являются гиперкоагуляция на конечном этапе свертывания крови, сопровождающаяся активацией фибринолиза.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Николаев, В.Ю. Система гемостаза у крыс при различных режимах однократной гипертермической нагрузки / Шахматов И.И., Киселёв В.И., Вдовин В.М. // **Современные проблемы науки и образования**. 2014. – № 4 (54). – С. 6. URL: www.science-education.ru/118-14114.

2. Киселев, В.И. Однократное длительное действие стрессоров различной природы в развитии ДВС-синдрома у крыс / Шахматов И.И., Вдовин В.М., Лычёва Н.А., Алексеева О.В., Бондарчук Ю.А., Николаев В.Ю. // **Бюллетень сибирской медицины**. – 2014. – т. 13, № 6. – С. 131-138.

3. Николаев, В.Ю. Система гемостаза у крыс при долговременной гипертермической нагрузке / Шахматов И.И., Киселёв В.И., Москаленко С.В. // **Сибирский научный медицинский журнал**. – 2015. – т. 35, № 2. – С. 43-46.

4. Николаев, В.Ю. Состояние системы гемостаза у крыс в раннем восстановительном периоде после острого однократного общего перегревания / Шахматов И.И., Киселёв В.И., Москаленко С.В. // **Фундаментальные исследования**. – 2015. – № 1 (часть 4). – С. 805-809.

5. Москаленко, С.В. Влияние различных режимов однократной гипертермической нагрузки на гемостазиологический профиль крыс в эксперименте *in vitro* / Шахматов И.И., Киселёв В.И., Николаев В.Ю. // **Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований**. – 2015. – № 11, часть 3. – С. 362-365.

6. Николаев, В.Ю. Влияние гипертермии на состояние плазменного гемостаза у крыс // **Материалы Второй конф. молодых ученых и студентов "Экспериментальная и прикладная физиология"** (ноябрь 2011 г.). - XVII том сборника "Системная саморегуляция функций организма". – С. 213-214.

7. Киселёв, В.И. Универсальные механизмы нарастания признаков тромбинемии по мере увеличения параметров различных стрессорных воздействий / Киселёв В.И., Шахматов И.И., ...Николаев В.Ю. и др.// **Науч. труды III съезда физиологов СНГ (1-6 октября 2011 г., Ялта, Украина)**. – М.: Медицина-Здоровье, 2011. - С. 249-250.

8. Николаев, В.Ю. Состояние системы гемостаза при остром перегревании / Киселёв В.И., Шахматов И.И., Вдовин В.М., Лычева Н.А. // **Тезисы докладов XXII съезда Физиологического общества имени И. П. Павлова (16-20 сентября 2013, Волгоград,**

Россия) – Волгоград: ВолгГМУ, 2013. – С. 385.

9. Николаев, В.Ю. Состояние системы гемостаза у крыс в разные стадии перегревания / Шахматов И.И., Киселёв В.И., Вдовин В.М. // Матер. научн.-практ. конфер. с междунар. участ. «Нейрогуморальные механизмы регуляции висцеральных функций в норме и патологии, посв. памяти проф. Е.Ф. Ларина» (19-20 ноября 2013, Томск, Россия) – Томск: СибГМУ, 2013. – С. 84-87.

10. Киселёв, В.И. Увеличение длительности и интенсивности стрессорных воздействий приводит к тромбинемии / Киселёв В.И., Шахматов И.И., Вдовин В.М., Лычёва Н.А., Николаев В.Ю. и др. // XXII съезд Физиологического общества им. И.П. Павлова. Тезисы докладов. – М. – Волгоград: Изд-во ВолгГМУ, 2013. – С. 223.

11. Киселев, В.И. Роль стрессоров различной природы в развитии ДВС-синдрома / Киселев В.И., Шахматов И.И., Вдовин В.М., Лычёва Н.А., Алексеева О.В., Бондарчук Ю.А., Николаев В.Ю. // Проблемы клинической медицины. – 2014. - № 3-4 (34). – С. 34-38.

12. Николаев, В.Ю. Компоненты системы гемостаза крыс при различных режимах общего перегревания / Шахматов И. И., Киселев В. И., Вдовин В. М. // Международная конференция «Актуальные проблемы патофизиологии» (9-10 апреля 2014 г., Санкт-Петербург, Россия) – СПб.: «Арт-Экспресс», 2014. – С. 73-74.

13. Николаев, В.Ю. Адаптивные реакции системы гемостаза у крыс в остром периоде после общей однократной гипертермии / Шахматов И.И., Киселёв В.И., Вдовин В.М. // Науч. труды IV Съезда физиологов СНГ (8-12 октября 2014, Сочи – Дагомыс, Россия) – М.: Медицина-Здоровье, 2014. – С. 111.

14. Киселёв, В.И. Адаптивная реакция системы гемостаза на стресс определяется продолжительностью и интенсивностью воздействия / Киселёв В.И., Шахматов И.И., Вдовин В.М., Лычёва Н.А., Николаев В.Ю. // Научн. труды IV Съезда физиологов СНГ / под ред. А.И. Григорьева, Ю.В. Наточина, Р.И. Сепиашвили. – М.: Медицина – Здоровье, 2014. – 276 с. – С. 113.

15. Москаленко, С.В. Система гемостаза крыс при различных режимах однократной гипертермической нагрузки *in vitro* / Николаев, В.Ю. // Материалы V Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых «Сибирские медико-биологические чтения» (15 мая 2015 г., Барнаул, Россия) – Барнаул: ГБОУ ВПО АГМУ Минздрава России. – С. 41-43.

16. Москаленко, С.В. Гемостазиологический профиль у крыс при различных режимах однократной гипертермической нагрузки *in vitro* / Шахматов И.И., Киселёв В.И., Николаев В.Ю. // Материалы международной дистанционной научно-практической конференции «Инновации в медицине и фармации - 2015» (Беларусь). – 2015. – № 11, часть 3. – С. 580-584.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- АПТВ – активированное парциальное тромбопластиновое время
АТ III – антитромбин III
ВПФМ – время полимеризации фибрин-мономерных комплексов
ПВ – протромбиновое время
РФМК – растворимые фибрин-мономерные комплексы
ТВ – тромбиновое время
СТ – coagulation time (время свертывания)
 α° – угловая константа
CFT – clot formation time (время образования сгустка)
MCF – maximum clot firmness (максимальная амплитуда)
ML – maximum lysis (максимальный лизис сгустка)

Николаев Владимир Юрьевич

**СОСТОЯНИЕ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА
ПРИ ОБЩЕМ ПЕРЕГРЕВАНИИ У КРЫС**

03.03.01 – физиология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Алтайский государственный медицинский университет
г. Барнаул, пр. Ленина, 40

Подписано в печать

Формат 60x90/16. Бумага офсетная. Печать ризографическая. Заказ № 124
Объем 1,0 п.л. Гарнитура Таймс Нью Роман. Тираж 100 экз.