

УДК 577.1.045:616-005.3-001.18]-092.9

DOI 10.20538/1682-0363-2017-1-50-58

Для цитирования: Лычева Н.А., Шахматов И.И., Киселев В.И. Влияние среды охлаждения на состояние системы гемостаза у крыс. *Бюллетень сибирской медицины*. 2017; 16 (1): 50–58

Влияние среды охлаждения на состояние системы гемостаза у крыс

Лычева Н.А., Шахматов И.И., Киселев В.И.

Алтайский государственный медицинский университет (АГМУ)

Россия, 656038, Алтайский край, г. Барнаул, пр. Ленина, 40

НИИ физиологии и фундаментальной медицины (ФФМ) Сибирского отделения (СО) Российской академии наук (РАН)

Россия, 630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 4

РЕЗЮМЕ

Целью исследования явилось изучение влияния воздушной и водно-иммерсионной сред охлаждения на состояние системы гемостаза в дореактивный период холодовой травмы.

Материал и методы. Исследования выполнены на 43 лабораторных крысах линии Wistar. Однократная воздушная гипотермия моделировалась путем помещения животных, находящихся в индивидуальных клетках, в охлаждающую камеру при температуре воздуха -25°C . Животные находились в камере до достижения ректальной температуры 30°C , что соответствовало умеренной степени гипотермии у крыс. Водно-иммерсионная гипотермия моделировалась путем помещения животных в индивидуальных клетках в воду температурой 5°C и воздуха 7°C . Критерием прекращения воздействия служило достижение экспериментальными животными ректальной температуры $27-30^{\circ}\text{C}$, что также соответствовало умеренной степени гипотермии. Оценивалось состояние сосудисто-тромбоцитарного и плазменного гемостаза, а также физиологическое состояние антикоагулянтной и фибринолитической систем. Исследования выполнены с использованием рутинных методик и интегрального метода – тромбоэластографии.

Результаты. Установлено, что в ходе водно-иммерсионного охлаждения у экспериментальных животных развивается тромбоцитоз и активация 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 то же время на конечном этапе свертывания регистрировалась выраженная тромбинемия, что подтверждалось значительным увеличением концентрации растворимых фибрин-мономерных комплексов и уменьшением времени их самосборки. Кроме того, наблюдалось угнетение фибринолитической активности плазмы на фоне снижения концентрации антитромбина III. При этом однократная воздушная гипотермия, сопровождавшаяся достижением ректальной температуры 30°C , также 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. Таким образом, описанные гемостазиологические картины свидетельствуют о выраженном влиянии среды, вызывающей переохлаждение, на формирование ответной реакции организма при действии гипотермии. Так, достижение ректальной температуры 30°C при иммерсионной гипотермии сопровождается выраженной активацией процессов свертывания и регистрацией состояния тромбоцитарной готовности. При переохлаждении воздухом по достижении ректальной температуры 30°C регистрируются уже вторичные гипокоагуляционные сдвиги.

Ключевые слова: гипотермия, система гемостаза, крысы.

✉ Лычева Наталья Александровна, e-mail: Natalia.lycheva@yandex.ru.

ВВЕДЕНИЕ

Гипотермия – состояние организма, при котором температура тела падает ниже, чем требуется для поддержания нормального обмена веществ и функционирования. По условиям ее развития гипотермия может быть преднамеренной и непреднамеренной. Также переохлаждение может быть местным (локальным) и общим. Общее непреднамеренное переохлаждение характеризуется развитием холодовой травмы у пострадавшего. Декомпенсаторные изменения, наблюдающиеся в организме, происходят стадийно. В ходе охлаждения выделяют мягкую (ректальная температура 32–35 °С), умеренную (ректальная температура 27–30 °С), глубокую (ректальная температура 20–23 °С) и сверхглубокую (ректальная температура < 20 °С) степени гипотермии.

Показано, что выраженность ответной реакции со стороны системы гемостаза зависит от скорости отдачи тепла, физико-химических свойств среды, вызывающей переохлаждение, а также от уровня температуры тела, достигнутого в ходе гипотермии [1–5]. Так, охлаждение на воздухе характеризуется контактом ограниченных участков поверхности тела с охлаждающей средой, что приводит к более длительному периоду снижения температуры ядра и формированию локальных поврежденных участков. В то же время при охлаждении в водной среде наблюдается полный контакт тела с охлаждающей поверхностью, сопровождающийся более интенсивным воздействием повреждающего фактора на организм, что приводит к более интенсивной теплоотдаче, в результате которой период охлаждения занимает минимальное количество времени. В течение холодовой травмы, полученной в результате действия гипотермии, также наблюдается периодичность, выделенная на основе последовательного развития клинических проявлений. При этом различают: дореактивный, ранний реактивный, поздний реактивный периоды, период отдаленных последствий и восстановительный период. Дореактивный период характеризуется отсутствием видимых клинических проявлений [2, 6–9].

Причиной развития сосудистых осложнений в ранний реактивный и последующие периоды термической травмы является нарушение микроциркуляции, в обеспечении которой ключевую роль играет система гемостаза [10]. В связи с этим установление коагулологической картины в дореактивный период при различных способах охлаждения является целесообразным, так как поможет выявить начальные изменения в состоянии системы

гемостаза. А также в случае необходимости своевременно предпринять профилактические меры, способствующие снижению риска сосудистых катастроф, а также позволит установить специфику гемостазиологических нарушений, возникающих под действием различных охлаждающих сред.

Целью представленной работы явилось изучение влияния воздушной и водно-иммерсионной сред охлаждения на состояние системы гемостаза в дореактивный период холодовой травмы.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследования выполнены на 43 лабораторных крысах линии Wistar. Однократная 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, что соответствовало умеренной степени гипотермии у крыс. Время экспозиции было индивидуальным и в среднем составляло (6 ± 3) ч. Контролем служила кровь 10 животных, полученная после того, как животные в индивидуальных клетках помещались в камеру при температуре 22 °С. Время экспозиции соответствовало времени охлаждения опытной группы. Водно-иммерсионная гипотермия моделировалась путем помещения животных в индивидуальные клетки в воду температурой 5 °С и воздуха 7 °С. Критерием прекращения воздействия служило достижение экспериментальными животными ректальной температуры 27–30 °С, что также соответствовало умеренной степени гипотермии. Время экспозиции было индивидуальным и составило (15 ± 3) мин. Контролем служила кровь 10 животных, полученная после того, как они в индивидуальных клетках помещались в воду температурой 30 °С и воздуха 22–25 °С. Время экспозиции соответствовало времени охлаждения животных опытной группы.

У всех животных исследовались показатели тромбоцитарного и коагуляционного гемостаза, а также антикоагулянтная и фибринолитическая активность плазмы крови с помощью наборов фирмы «Технология-Стандарт» (Россия). Индуцированную агрегацию тромбоцитов проводили по G.V.R. Vorn (1962) на агрегометре «Биола» (Россия), в качестве индуктора использовался раствор аденозиндифосфата (АДФ) концентрацией 10 мкг/мл. Тромбоэластометрия выполнялась на приборе Rotem с использованием дипломат-систем, реагентов и контрольных материалов, предлагаемых производителем оборудования (Pentapharm GmbH, Германия). Для проведения

теста был использован Natem, реагент, в состав которого входит хлорид кальция. Кровь для исследования в объеме 5 мл получали путем забора из печеночного синуса в полистироловый шприц, содержащий 0,11 М (3,8%) раствора цитрата натрия (соотношение крови и цитрата 9 : 1).

До проведения эксперимента на протяжении недельной адаптации к условиям вивария все крысы находились в стандартных условиях содержания согласно требованиям GLP. Использование крыс в экспериментах осуществляли в соответствии с Европейской конвенцией по охране позвоночных животных, используемых в эксперименте и Директивами – 86/609/ЕЕС [11]. Обезболивание и умерщвление животных проводилось в

соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных».

Полученные данные представлены в виде медианы (Me) и процентилей [25; 75]. Статистический анализ выполнен с использованием непараметрического критерия Манна – Уитни и пакета прикладных статистических программ Statistica 6.0 (StatSoft, США) на персональном компьютере. Критический уровень значимости p при проверке статистических гипотез в данном исследовании принимали равным 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Данные, полученные в результате двух серий экспериментов, представлены в таблице.

Т а б л и ц а

Динамика показателей системы гемостаза у крыс по достижении умеренной степени гипотермии различными способами охлаждения, Me ; [25; 75]

Параметр	Иммерсионное охлаждение		Воздушное охлаждение		p
	Контроль ¹ * ($n = 10$)	Опыт ² * ($n = 13$)	Контроль ³ * ($n = 10$)	Опыт ⁴ * ($n = 10$)	
Количество тромбоцитов, $10^9/л$	511,0 [502,0; 554,0]	588,0 [548,0; 641,0] ($\Delta +15$)	534,5 [505,2; 556]	613,5 [602,7; 628,2] ($\Delta +14$)	$p_{1-2} < 0,05$ $p_{3-4} < 0,05$
Агрегация, отн. ед	6,7 [3,1; 19]	56,0 [33,6; 74,1] ($\Delta +835$)	19,9 [18,5; 20,4]	2,6 [1,4; 3,4] ($\Delta -130$)	$p_{1-2} < 0,01$ $p_{3-4} < 0,05$
Силиконовое время, с	122,0 [82,0; 148,0]	136,0 [130,0; 155,0]	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]	$p_{1-2} > 0,05$ $p_{3-4} > 0,05$
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] ($\Delta -25$)	$p_{1-2} > 0,05$ $p_{3-4} < 0,05$
РФМК, мг/ 100 мл	3,0 [3,0; 3,0]	5,5 [4,5; 5,0] ($\Delta +80$)	3,0 [3,0; 3,0]	3,0 [3,0; 3,0]	$p_{1-2} > 0,05$ $p_{3-4} > 0,05$
ВПФМ, г	1,8 [1,6; 2,1]	2,0 [1,6; 2,1] ($\Delta -20$)	2,1 [2,1; 2,4]	2,5 [2,1; 2,6] ($\Delta +19$)	$p_{1-2} < 0,05$ $p_{3-4} < 0,01$
АТ III, %	116,5 [114,2; 117,0]	70,0 [47,3; 109,0] ($\Delta -30$)	93,2 [86,4; 96,4]	94,8 [94,0; 97,3]	$p_{1-2} < 0,05$ $p_{3-4} > 0,05$
Эуглобулиновый фибринолиз, мин	558,0 [360,0; 558,0]	1248,0 [1212; 1248] ($\Delta +223$)	205,0 [205,0; 205,0]	529,0 [313,0; 529,0] ($\Delta +258$)	$p_{1-2} < 0,001$ $p_{3-4} < 0,001$
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] ($\Delta +25$)	$p_{1-2} > 0,05$ $p_{3-4} < 0,05$
CFT, с	98,0 [82,0; 118,5]	57,0 [42,0; 68,0] ($\Delta -42$)	94,0 [86,5; 154,7]	113,0 [73,2; 150,5] ($\Delta +20$)	$p_{1-2} < 0,05$ $p_{3-4} < 0,05$
ML, %	15,0 [0,0; 20,5]	5,0 [0,0; 12,5] ($\Delta -67$)	88,0 [61,7; 90,0]	28,5 [14,7; 50,7] ($\Delta -70$)	$p_{1-2} < 0,05$ $p_{3-4} < 0,01$

Примечание. Δ – достоверное отклонение показателя относительно контроля, %; [25; 75] – процентили выборки; n – число наблюдений; АПТВ – активированное парциальное тромбластиновое время; ВПФМ, г – время полимеризации растворимых фибрин-мономерных комплексов.

При оценке состояния системы гемостаза у животных, подвергавшихся водно-иммерсионному охлаждению, установлено 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 уменьшении времени их самосборки на 20% ($p < 0,05$). Данные гемостатические сдвиги нашли отражение и в показателях тромбоэластографии. Так, время образования сгустка в крови экспе-

риментальных животных уменьшалось на 42% ($p < 0,05$). Уровень антитромбина (АТ) 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 три раза ($p < 0,05$). В качестве примера представлены тромбоэластограммы, полученные у животных из контрольной (рис. 1) и опытной (рис. 2) групп.

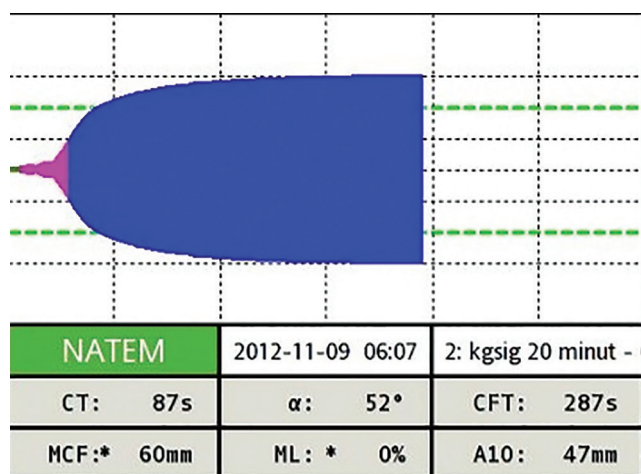


Рис. 1. Тромбоэластограмма (контрольная группа, животное № 6), зарегистрированная сразу после завершения однократной экспозиции при температуре 30 °С в течение 30 мин

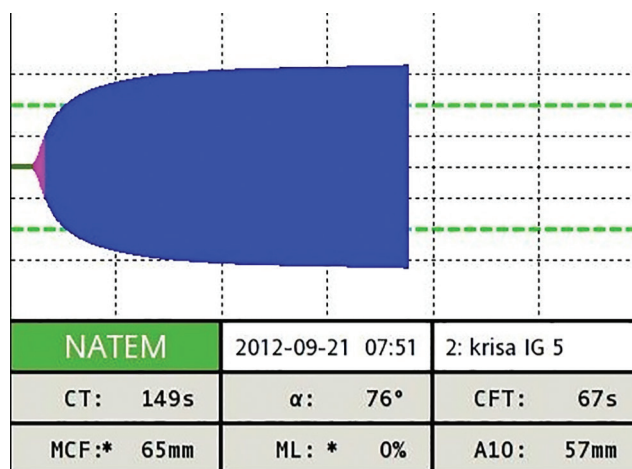


Рис. 2. Тромбоэластограмма (контрольная группа, животное № 5), зарегистрированная сразу после достижения ректальной температуры 27–30 °С под действием однократной иммерсионной гипотермии

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 то же время на конечном этапе свертывания регистрировалась выраженная тромбинемия, что подтверждалось значительным увеличением концентрации растворимых фибрин-мономерных комплексов (РФМК) и уменьшением времени их самосборки. Кроме того, наблюдалось угнетение фибринолитической активности плазмы на фоне снижения концентрации АТ III.

Достижение экспериментальными животными ректальной температуры 30 °С в воздушной среде сопровождалось увеличением числа кровяных пластинок на 14% ($p < 0,05$) и снижением их агрегационной способности в девять раз ($p < 0,001$). Со стороны коагуляционного гемостаза реги-

стрировался гипокоагуляционный сдвиг по результатам 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 (CFT) на 20% ($p < 0,05$). Антикоагулянтная активность плазмы крови в ходе экспериментального воздействия не изменялась. Время спонтанного лизиса эуглобулинов увеличивалось в два раза ($p < 0,001$), что демонстрировало выраженное угнетение фибринолитической системы и подтверждалось данными тромбоэластографии. Так, показатель, характеризующий степень лизиса сгустка (ML), уменьшался в три раза ($p < 0,01$). В качестве примера представлены тромбоэластограммы, полученные у животных из контрольной (рис. 3) и опытной (рис. 4) групп.

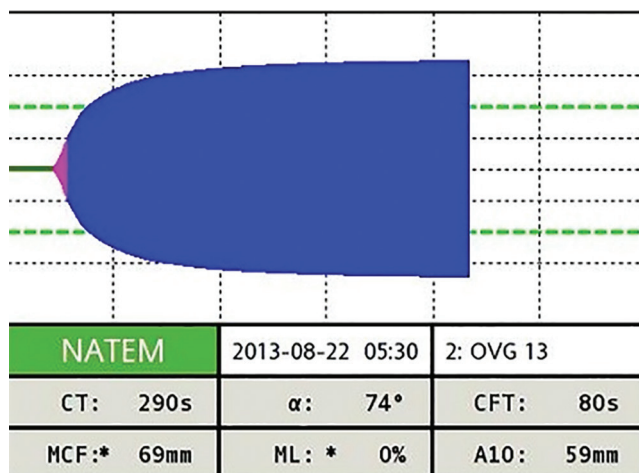


Рис. 4. Тромбоэластограмма (контрольная группа, животное № 13), зарегистрированная сразу после достижения ректальной температуры 30 °С под действием однократной воздушной гипотермии

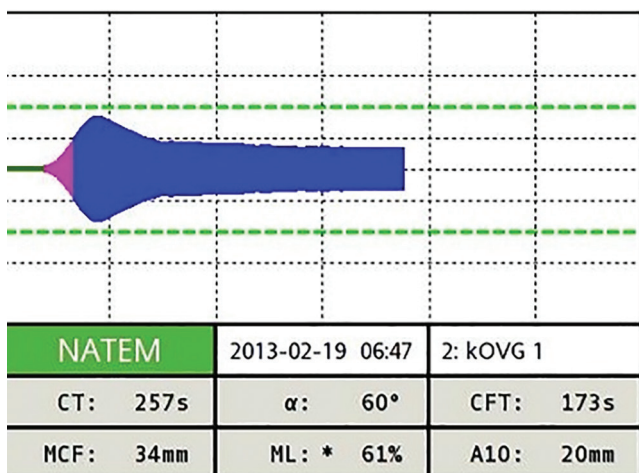


Рис. 3. Тромбоэластограмма (контрольная группа, животное № 1), зарегистрированная сразу после завершения однократной экспозиции при температуре 22 °С

Таким образом, однократная воздушная гипотермия, сопровождавшаяся достижением ректальной температуры 30 °С, вызвала 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.

ОБСУЖДЕНИЕ

По данным Т.В. Козыревой, Е.Я. Ткаченко (2003, 2010) развитие метаболических реакций в ответ на действие холода зависит от скорости

отдачи тепла, которая в естественных условиях определяется средой, вызывающей переохлаждение. В связи с этим представлена сравнительная характеристика гемостазиологических сдвигов, зарегистрированных после достижения умеренной степени гипотермии в различных средах, вызывающих переохлаждение (см. таблицу).

При сравнении групп животных, достигших в ходе воздействия ректальной температуры 30 °С в воздушной и водной средах, исследовано влияние среды, вызывающей охлаждение, на развитие гемореологических сдвигов. Так, при сравнении показателей, характеризующих сосудисто-тромбоцитарный гемостаз, установлено увеличение количества тромбоцитов в обеих группах.

В то же время при иммерсионном способе охлаждения (высокая скорость охлаждения) регистрировалось увеличение агрегационной способности кровяных пластинок. Напротив, агрегационная активность кровяных пластинок при охлаждении на воздухе (медленная скорость охлаждения) была в восемь раз ниже уровня контрольных значений. Рост агрегационной способности тромбоцитов при иммерсионном 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 A2 тромбоцитами [8, 12, 13]. Это в конечном итоге и способствует гиперагрегации кровяных пластинок. Гипоагрегация, зарегистрированная при воздушном охлаждении, может быть объяснена холодным угнетением функции тромбоцитов и общим снижением скорости ферментативных процессов в организме.

Оценка состояния конечных этапов свертывания также показала различия в гемостазиологических сдвигах при охлаждении в различных средах. Так, в группе с иммерсионным охлаждением в кровотоке экспериментальных животных регистрировались РФМК при уменьшении времени их самосборки, что характеризует смещение гемостатического потенциала крови в сторону гиперкоагуляции. По-видимому, помещение крыс в воду отмечается формированием универсальной стресс-реакции на действие раздражителя, сопровождающейся 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 способствующей формированию производных фибриногена и тромбообразованию. Подтверждением развития состояния дистресса является снижение концентрации АТ III, расходуемого в процессе нейтрализации активных факторов свертывания.

В группе с воздушным способом 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 [14, 15]. По-видимому, зафиксированная 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 среды, вызывающей переохлаждение. Очевидно, что такая реакция со стороны фибринолитической системы является неспецифической на действие стрессора и выступает одним из проявлений развития дистресса [13, 15, 16]. 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.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, описанные гемостазиологические картины свидетельствуют о выраженном влиянии среды, вызывающей переохлаждение, на формирование ответной реакции организма при действии гипотермии. Так, достижение ректальной температуры 30 °С при иммерсионной гипотермии сопровождается выраженной активацией процессов свертывания и регистрацией состояния тромбоцитической готовности. При переохлаждении воздухом по достижении ректальной температуры 30 °С регистрируются уже вторичные гипокоагуляционные сдвиги.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

ИСТОЧНИК ФИНИНСИРОВАНИЯ

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 16-34-60054/15 мол_а_дк.

СООТВЕТСТВИЕ ПРИНЦИПАМ ЭТИКИ

Протокол исследования соответствовал этическим принципам и нормам проведения биомедицинских исследований с участием животных, одобрен этическим комитетом ФГБОУ «Алтайский государственный медицинский университет» МЗ РФ (№ 15 от 23.12.2010 г.).

ЛИТЕРАТУРА

1. Алюхин Ю.С. Температурные и временные пределы обратимости остановки сердца млекопитающих от холода // *Успехи физиологических наук*. 2008; 39 (4): 66–82.
2. Голохваст К.С., Чайка В.В. Некоторые аспекты механизма влияния низких температур на человека и животных (литературный обзор) // *Вестник новых медицинских технологий*. 2011; 18 (2): 486–489.
3. Степанян Ю.С. К вопросу об изменении аденогипофиза при общем переохлаждении организма // *Проблемы экспертизы в медицине*. 2007; 7 (4): 23–25.
4. Степанян Ю.С. Структурные основы процессов адаптации при гипотермии // *Проблемы экспертизы в медицине*. 2009; 9 (2–3): 24–25.
5. Ткаченко Е.Я., Ломакина С.В., Козырева Т.В. Роль ионов кальция в формировании холодозащитных реакций при различных температурных воздействиях // *Бюллетень СО РАМН*. 2003; 23 (3): 121–126.
6. Румянцев Г.В. Динамика теплового обмена у крыс при выходе из состояния искусственной глубокой гипотермии // *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 2007; 93 (11): 132–1331.
7. Шевелёв О.А., Терешенков В.П., Ходорович Н.А. Глубокая локальная гипотермия в терапии болевых синдромов при поражениях крупных суставов // *Российский журнал боли*. 2012; (1): 68.
8. Bouchama A. Pathogenetic mechanisms of heatstroke and novel therapies. Crit Care [Internet]. Springer Nature; 2012;16 (Suppl2): A7. DOI: 10.1186/cc11265
9. Foulis A.K. Morphological study of the relation between accidental hypothermia and acute pancreatitis // *Journal of Clinical Pathology* [Internet]. BMJ; 1982 Nov 1;35 (11): 1244–1248. DOI: 10.1136/jcp.35.11.1244
10. Шаповалов К.Г., Сизоненко В.А. Холодовая травма как причина стойкого изменения состояния микроциркуляторного русла // *Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова*. 2009; (2): 28–31.

11. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes. Strasburg: Council of Europe, 1986: 51.
12. Ананьев В.Н., Ипполитов Е.В. Реактивность системного и регионального кровообращения к ацетилхолину после 10 дней адаптации к холоду // *Естественные и технические науки*. 2011; (3): 144–146.
13. Keenan JE, Wang H, Gulack BC, Ganapathi AM, Andersen ND, Englum BR, et al. Does moderate hypothermia really carry less bleeding risk than deep hypothermia for circulatory arrest? A propensity-matched comparison in hemiarth replacement // *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery* [Internet]. Elsevier BV; 2016 Aug; DOI: 10.1016/j.jtcvs.2016.08.014
14. Шахматов И.И., Носова М.Н., Вдовин В.М., Бондарчук Ю.А., Киселев В.И. Особенности реакции гемостаза при стрессе у лиц с разным уровнем тренированности // *Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова*. 2011; 97 (11): 1254–1261.
15. Cookson P., Lawrie A., Green L., Dent E., Proffitt S., Bashir S. et al. Thrombin generation and coagulation factor content of thawed plasma and platelet concentrates // *Vox Sanguinis* [Internet]. Wiley-Blackwell; 2014 Dec 3;108 (2):160–168. DOI: 10.1111/vox.12206
16. Ткаченко Е.Я., Козырева Т.В. Механизмы модулирующего влияния симпатической нервной системы на терморегуляторные реакции при охлаждении у гипертонических крыс // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2010; 149 (1): 25–29.

Поступила в редакцию 10.11.2016
Утверждена к печати 19.12.2016

Лычева Наталья Александровна, канд. биол. наук, доцент кафедры нормальной физиологии, АГМУ, г. Барнаул; мл. научный сотрудник, НИИ ФФМ СО РАН, г. Новосибирск.

Шахматов Игорь Ильич, д-р мед. наук, доцент, зав. кафедрой нормальной физиологии, АГМУ, г. Барнаул; ст. научный сотрудник, НИИ ФФМ СО РАН, г. Новосибирск.

Киселев Валерий Иванович, д-р мед. наук, профессор, член-корр. РАН, профессор кафедры нормальной физиологии, АГМУ, г. Барнаул; начальник лаборатории физиологии патологии гемостаза и гемодинамики, НИИ ФФМ СО РАН, г. Новосибирск.

(✉) Лычева Наталья Александровна, e-mail: Natalia.lycheva@yandex.ru

УДК 577.1.045:616-005.3-001.18]-092.9

DOI 10.20538/1682-0363-2017-1-50–58

For citation: Lycheva N.A., Shakhmatov I.I., Kiselev V.I. Influence of cooling medium on rat hemostatic system. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2017; 16 (1): 50–58

Influence of cooling medium on rat hemostatic system

Lycheva N.A., Shakhmatov I.I., Kiselev V.I.

Altay State Medical University
40, Lenina Str., Barnaul, 656038, Russian Federation

Scientific Research Institute of Physiology and Basic Medicine
4, Timakov Str., Novosibirsk, 630117, Russian Federation

ABSTRACT

The purpose of the article is to study the effect of air and water-immersion cooling media on the hemostatic system in the pre-active period of cold trauma.

Material and methods. The study was performed on 43 laboratory Wistar rats. Single air hypothermia was modeled by placing animals in individual cells into a cooling chamber at a temperature -25°C . The animals were in the chamber until the rectal temperature reached 30°C , which corresponded to a moderate degree of hypothermia in rats. Water immersion hypothermia was modeled by placing animals in individual cells into water with a temperature 5°C and air 7°C . The criterion for cessation of exposure was a rectal temperature of $27-30^{\circ}\text{C}$, which also corresponded to a moderate degree of hypothermia. We assessed the state of vascular-platelet and plasma hemostasis, as well as the physiological state of anticoagulant and fibrinolytic systems. The

study was performed by using routine techniques and an integral method - thromboelastography.

Results. It was established that during water immersion cooling, experimental animals developed thrombocytosis and activated their aggregation function. Laboratory indicators characterizing the initial stages of plasma hemostasis, and external and internal ways of activation did not change at this intensity of hypothermic exposure. At the same time, at the final stage of coagulation, pronounced thrombinemia was recorded, which was confirmed by a significant increase in the concentration of soluble fibrin-monomer complexes and a decrease in the time of their self-assembly. In addition, inhibition of fibrinolytic activity of plasma associated with a decrease in the concentration of antithrombin III was observed. In this case, single air hypothermia, accompanied by the rise in a rectal temperature up to 30 ° C, also caused significant changes in the hemostatic system. Vascular-platelet hemostasis responded to a significant decrease in aggregation activity of platelets. In plasma hemostasis, the final stage of coagulation was involved the most, which was manifested in hypocoagulant shifts. Along with this, pronounced inhibition of fibrinolytic activity of blood plasma was recorded. Thus, the described hemostasiological pictures indicate a pronounced influence of the environment causing supercooling on the response of an organism with hypothermia. In case of immersion hypothermia an increase in a rectal temperature up to 30 °C is accompanied by a pronounced activation of the coagulation processes and the thrombotic state of readiness. When supercooling with air after reaching a rectal temperature of 30 ° C, secondary hypocoagulation shifts are recorded.

Key words: hypothermia, hemostasis system, rats.

REFERENCES

1. Alyukhin Yu.S. Temperaturnye i vremennye predely obratimosti ostanovki serdtsa mlekopitayushchikh ot kholoda [Temperature and time limit of reversibility stop mammals from the cold heart] // *Uspekhi fiziologicheskikh nauk – Advances of Physiological Sciences*. 2008; 39 (4): 66–82 (in Russian).
2. Golokhvast K.S., Chayka V.V. Nekotorye aspekty mekhanizma vliyaniya nizkikh temperatur na cheloveka i zhivotnykh (literaturnyy obzor) [Some aspects of the mechanism of the effect of low temperatures on human and animal (literature review)] // *Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy – Bulletin of new medical technologies*. 2011; 18 (2): 486–489 (in Russian).
3. Stepanyan Yu.S. K voprosu ob izmenenii adenogipofiza pri obshchem pereokhlazhdenii organizma [On the question of changing the anterior pituitary under the general supercooling organism] // *Problemy ekspertizy v meditsine – Problems of expertise in medicine*. 2007; 7(4): 23–25 (in Russian).
4. Stepanyan Yu.S. Strukturnye osnovy protsessov adaptatsii pri gipotermii [Structural basis of adaptation processes in hypothermia] // *Problemy ekspertizy v meditsine – Problems of expertise in medicine*. 2009; 9 (2-3): 24–25 (in Russian).
5. Tkachenko E.Ya., Lomakina S.V., Kozyreva T.V. Rol' ionov kal'tsiya v formirovaniy kholodozashchitnykh reaktsiy pri razlichnykh temperaturnykh vozdeystviyakh [The role of calcium ions in the formation of Cold-reactions at different temperature influences] // *Byulleten' SO RAMN – Bulletin SD RAMS*. 2003; 23 (3): 121–126 (in Russian).
6. Rumyantsev G.V. Dinamika teplovogo obmena u krysa pri vykhode iz sostoyaniya iskusstvennoy glubokoy gipotermii [Dynamics of heat exchange in rats at the outlet of the artificial state of deep hypothermia] // *Rossiyskiy fiziologicheskiy zhurnal im. I.M. Sechenova – Russian Journal of Physiology them. Sechenov*. 2007; 93 (11): 1326–1331 (in Russian).
7. Shevelev O.A., Tereshenkov V.P., Khodorovich N.A. Glubokaya lokal'naya gipotermiya v terapii bolevykh sindromov pri porazheniyakh krupnykh sustavov [Deep local hypothermia in the treatment of pain syndromes in patients with lesions of large joints] // *Rossiyskiy zhurnal boli – Russian Journal of Pain*. 2012; (1): 68 (in Russian).
8. Bouchama A. Pathogenetic mechanisms of heatstroke and novel therapies // *Crit Care* [Internet]. Springer Nature; 2012;16 (Suppl2):A7. DOI: 10.1186/cc11265
9. Foulis A.K. Morphological study of the relation between accidental hypothermia and acute pancreatitis // *Journal of Clinical Pathology* [Internet]. BMJ; 1982 Nov 1;35 (11):1244–1248. DOI: 10.1136/jcp.35.11.1244
10. Shapovalov K.G., Sizonenko V.A. Kholodovaya travma kak prichina stoykogo izmeneniya sostoyaniya mikrotsirkulyatornogo rusla [Cold injury as the cause of a persistent state changes microvasculature] // *Khirurgiya. Zhurnal im. N.I. Pirogova – Surgery. Journal of them. N.I. Pirogov*. 2009; (2): 28-31 (in Russian).
11. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes. Strasburg: Council of Europe, 1986: 51.
12. Anan'ev V.N., Ippolitov E.V. Reaktivnost' sistemnogo i regional'nogo krovoobrashcheniya k atsetilkholinu posle 10 dney adaptatsii k kholodu [The reactivity of the system and the regional blood flow to acetylcholine after 10 days of adaptation to cold] // *Estestvennye i tekhnicheskije nauki – Natural and Technical Sciences*. 2011; (3): 144–146 (in Russian).

13. Keenan J.E., Wang H., Gulack B.C., Ganapathi A.M., Andersen N.D., Englum B.R. et al. Does moderate hypothermia really carry less bleeding risk than deep hypothermia for circulatory arrest? A propensity-matched comparison in hemiarth replacement // *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery* [Internet]. Elsevier BV; 2016 Aug; DOI: 10.1016/j.jtcvs.2016.08.014
14. Shakhmatov I.I., Nosova M.N., Vdovin V.M., Bondarchuk Yu.A., Kiselev V.I. Osobennosti reaktsii gemostaza pri stresse u lits s raznym urovnem trenirovannosti [Features reaction hemostasis during stress in patients with different levels of fitness] // *Ros. fiziol. zhurn. im. I.M. Sechenova – Russian Journal of Physiology them. Sechenov*. 2011; 97 (11): 1254–1261 (in Russian).
15. Cookson P., Lawrie A., Green L., Dent E., Proffitt S., Bashir S. et al. Thrombin generation and coagulation factor content of thawed plasma and platelet concentrates // *Vox Sanguinis* [Internet]. Wiley-Blackwell; 2014 Dec 3;108 (2):160–168. DOI: 10.1111/vox.12206
16. Tkachenko E.Ya., Kozyreva T.V. Mekhanizmy moduliruyushchego vliyaniya simpaticheskoy nervnoy sistemy na termoregulyatornye reaktsii pri okhlazhdenii u gipertenzivnykh kryss [The mechanisms of modulating influence of the sympathetic nervous system on thermoregulatory responses during cooling in hypertensive rats] // *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny – Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2010; 149 (1): 25–29 (in Russian).

Received November 10.2016

Accepted December 19.2016

Lycheva Natal'ya A., PhD, Associate Professor, Department of Normal Physiology, Altai State Medical University, Barnaul, Russian Federation; Junior Researcher, Scientific Research Institute of Physiology and Basic Medicine, Novosibirsk, Russian Federation.

Shakhmatov Igor' I., DM, Associate Professor, Head of the Department of Normal Physiology, Altai State Medical University, Barnaul, Russian Federation; Researcher, Scientific Research Institute of Physiology and Basic Medicine, Novosibirsk, Russian Federation.

Kiselev Valeriy I., DM, Professor, Corresponding Member of RAS, Department of Normal Physiology, Altai State Medical University, Barnaul, Russian Federation; Head of Department of Physiology and Pathology of Hemostasis and Hemodynamic Laboratory, Scientific Research Institute of Physiology and Basic Medicine, Novosibirsk, Russian Federation.

(✉) **Lycheva Natal'ya A.**, e-mail: Natalia.lycheva@yandex.ru