

ВЛИЯНИЕ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО АЦИДОЗА НА СОСТОЯНИЕ СОСУДИСТО-ТРОМБОЦИТАРНОГО ГЕМОСТАЗА, СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ И ФИБРИНОЛИЗ

Альфонсова Е.В.¹, Кузник Б.И.²

¹ФБГОУ ВПО Забайкальский государственный университет, Чита, Россия (672039, г.Чита, ул.Бабушкина, д. 129), e-mail: elena-alfonsova@yandex.ru

²БГОУ ВПО Читинская государственная медицинская академия Чита, Россия (672007, г.Чита, ул.Горького, д. 39а)

В работе представлены экспериментальные данные о влиянии молочной кислоты на показатели гемокоагуляционного гемостаза. Метаболический ацидоз вызывали в эксперименте на 42 животных (кошки) внутривенным введением 3% молочной кислоты в изотоническом растворе NaCl в бедренную вену до уровня pH 7,25-6,8 и продолжительностью до 30-180 мин. Лактат-ацидоз приводит к усилению постоянного внутрисосудистого свертывания крови. При pH 7,25 – 7,15 наблюдается гиперкоагулемия и частичное потребление фибриногена и факторов свертывания крови. Сдвиг pH до 7,07 – 6,9 сопровождается коагулопатией потребления, значительным снижением уровня фибриногена и резким увеличением РФМК, при этом удлиняются основные параметры и снижается амплитуда тромбоэластограммы. Все эти изменения свидетельствуют о формировании фибринового сгустка очень низкой эластичности

Ключевые слова: лактат-ацидоз, pH, гемостаз, тромбоэластография, электрокоагулография

EFFECT OF METABOLIC ACIDOSIS ON THE STATE OF THE VASCULAR-PLATELET HEMOSTASIS, BLOOD COAGULATION AND FIBRINOLYSIS

Alfonsova E.V.¹, Kuznik B.I.²

¹Zabaikalsky State University, Chita, Russia (672039, Chita, Babushkina 129), e-mail: elena-alfonsova@yandex.ru

²Chita medical Academy, Chita, Russia (672039, Chita, Gorky 39a)

The article is devoted to the investigation of effect of lactic acid on the performance hemocoagulation hemostasis. Metabolic acidosis, caused in the experiment on 42 animals (cats) by intravenous injection 3 % a lactate acid in up to a pH level 7,25-6,8, and duration up to 30-180 min. Lactic acidosis leads to increased permanent intravascular coagulation. At pH 7,25 - 7,15 hypercoagulation and partial consumption of fibrinogen and factors of blood coagulation are observed, which was confirmed by thromboelastography and elektrokoagulography. The pH shift up to 7,07 - 6,9 is accompanied by coagulopathy of consumption, significant decrease of a level fibrinogen and sharp increase of fibrin degradation products, thus lengthening the main parameters and reduced amplitude thromboelastogram. All these changes are indicative of the occurrence of a fibrin clot is very low elasticity

Keywords: lactat-acidosis, pH, hemostasis, thromboelastography, elektrokoagulography

Ацидотические состояния осложняют течение многих заболеваний, являясь важнейшей составляющей самых разнообразных нозологических форм патологии, включающих такие типовые патологические процессы, как воспаление, лихорадка, шок и другие. Эти расстройства, будучи не распознанными и нескорректированными, во многом определяют исход лечения основного заболевания [3, 5, 6]. Окклюзия микроциркуляторного русла в виде различных вариантов внутрисосудистого микросвертывания крови не имеет точной статистической оценки, хотя встречается при самых различных заболеваниях [1, 2, 4, 7]. Поэтому внутрисосудистое тромбообразование является одним из важнейших патологических процессов, требующий постоянного внимания со стороны исследователей и практических

врачей. Расшифровка основных механизмов формирования ДВС-синдрома, начиная с работ М. С. Мачабели [4], позволила сформулировать современную концепцию его патогенеза и патогенетической терапии, определила ошибочность ряда практиковавшихся ранее подходов к лечению этого вида патологии - трансфузий фибриногена, введений ингибиторов фибринолиза, способствующих тромбообразованию в магистральных сосудах и усугублению блокады микроциркуляции в жизненно важных органах. Вместе с тем, до сих пор патогенетические механизмы, приводящие к нарушениям в системе гемостаза при ацидозе различной глубины и продолжительности во многом остаются неизученными.

Целью исследования явилось изучение влияния сдвигов рН среды на состояние системы гемостаза

Методы и организация исследования. Работа выполнена на 42 интактных животных обоего пола (кошках). Лактат-ацидоз создавали введением 3% раствора молочной кислоты в изотоническом растворе NaCl в бедренную вену. При этом достигали необходимых значений рН (от 7,25, 7,2, 7,15, 7,1, 7,0, 6,9, 6,8), и поддерживали необходимый уровень соответственно 15-180 мин, затем забирали пробы крови для изучения показателей системы гемостаза. Показатели КОС определяли микрометодом Аструпа «Микро-Аstrup». Для определения показателей системы гемостаза пробы крови забирали до и после введения лактата из различных отделов сосудистого русла (бедренная артерия, печеночная, бедренная вена). Для оценки состояния системы гемостаза использовали тромбоэластографию, электрокоагулографию, тромбиновое время (ТВ), протромбиновое время (ПВ), содержание фибриногена, фактор XIII, РФМК [1]. На тромбоэластограмме определяли следующие показатели: R – момент от начала записи до расхождения краев ТЭГ на 1 мм; K – момент от конца времени реакции до расхождения краев ТЭГ до 10 мм – время образования сгустка крови; R+K – константа коагуляции; t – константа свертывания крови, T – константа тотального свертывания крови, представляет собой арифметическую сумму R+K+t, угол α – угловая константа, отражает динамику образования фибрина; MA – максимальная амплитуда; E – коэффициент эластичности, вычисляется по формуле: $E = (100 \cdot MA) : (100 - MA)$; J – тромбоэластический индекс, вычисляется по формуле: $J = R \text{ (мин)} \cdot K \text{ (мин)} / MA \text{ (мм)}$, в норме он колеблется от 0,88 до 1,28. В опытах *in vitro* изучали агрегацию тромбоцитов на плазме 30 здоровых добровольцев.

В работе с экспериментальными животными были соблюдены требования, изложенные в «Методических рекомендациях по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» от 1985 г. Статистическая обработка материала проводилась на ПЭВМ Pentium 5 с использованием пакета программ Microsoft Excel 2007 для операционной

системы Windows 7. Значимость различий для связанных наблюдений в группах оценивали по величине t -критерия Стьюдента.

Результаты исследования и их обсуждение. Результаты свидетельствуют о том, что сдвиг pH в кислую сторону оказывает выраженное влияние на агрегацию тромбоцитов. В опытах *in vitro* показано, что выраженные изменения агрегации наблюдались, при сдвиге pH пробы 7,28 и ниже, при это появляется спонтанная агрегация тромбоцитов, процесс агрегации становился бесконечным, дезагрегация во всех пробах отсутствует, величина агрегатов практически не изменялась. "Спонтанное" склеивание кровяных пластинок в кислой среде становится необратимым, амплитуда спонтанной агрегации со временем увеличивается (таблица 1).

Влияние АДФ на агрегацию тромбоцитов при различных сдвигах pH в опытах *in vitro*

Таблица 1

Исследуемые показатели n=20	Контроль 7,5	Величина pH				
		7,34	7,28	6,92	6,5	6,1
Угол наклона спонтанной агрегации (градусы)	0	2,5±0,4	10,0±3,4	11,3±6,4	16,0±5,3*	21,8±8,0*
Время начала агрегации (сек)	9,0±1,2	15,0±2,5*	3,0±0,5*	5,0±0,8*	0	0
Угол наклона агрегации (градусы)	65,7± 8,5	59,0 ± 9,9	42,0±9,4*	28,3±10,7*	9,3±12,6*	17,3±13,8*
Время агрегации (сек)	112,7± 3,4	369,0 ±5,9*	900 ±4,4*	Более 900*	Более 900*	Более 900*
Амплитуда агрегации	35,7± 4,6	25,6 ± 4,9	33,5 ± 5,8	19,6±5,6*	10,6±7,3*	21,5±8,4*
Величина агрегатов (мм)	1,7	2,1	2	1	1	1
Угол дезагрегации (градусы)	27,2±4,4	12,5±2,4	-	-	-	-
Время дезагрегации (сек)	450,0± 8,9	328,0± 9,9	-	-	-	-
Степень дезагрегации (мм)	19,0± 4,4	12,5± 2,9	-	-	-	-

Примечание: * - значимость различий между контролем и опытом, n – количество исследований.

Тромбоэластографические исследования были проведены при изменении pH крови животного (кошки) от 7,4 (контроль) до 7,25-6,8 в опыте. Кровь для изучения ТЭГ брали в контроле из бедренной артерии, а также из печеночной вены. При pH 7,4 показатели ТЭГ характеризовались следующими величинами: R - 216 с; к - 96 с; P+к - 312 с; МА - 34 мм; угол а - 8°; Е - 51,5; J - 1,6. Сдвиг pH до 7,2 характеризовался значительным изменением показателей ТЭГ. В бедренной артерии момент R (длительность I и II фаз процесса свертывания кро-

ви) укорачивался и составил 66 с; момент к - время образования сгустка - 48 с; константа коагуляции (R+k), зависящая от концентрации плазменных факторов (кроме VII и XIII) и уровня антикоагулянтов резко укорачивалась до 104 с в бедренной артерии и до 126 с в крови, оттекающей от печени. Максимальная амплитуда, характеризующая содержание фибриногена в крови, при рН 7,2 увеличивается до 37 - 42 мм. Однако этот факт, скорее всего, связан не с увеличением концентрации фибриногена, а с усилением его реакционной способности, проявляющейся при сдвиге рН крови в кислую сторону. Угловая константа (а), характеризующая скорость формирования фибринового сгустка при рН 7,2 возростала с 8° до 14° в бедренной артерии и до 15° в печеночной вене. Коэффициент эластичности фибринового сгустка (Е) крови бедренной артерии при рН 7,4 составляет 51,5, а при рН 7,2 в артериальной крови увеличивается до 58,7 и в воротной вене до 72,4. Тромбоэластографический индекс (J) резко уменьшается при сдвиге рН крови до 7,2, что свидетельствует о возникновении выраженной гиперкоагуляции и совпадает с изменениями гемокоагуляционных показателей. Другие показатели тромбоэластограммы изменялись незакономерно (таблица 2).

Изменение параметров тромбоэластограммы при различных сдвигах рН крови

Таблица 2

Параметры тромбоэластограммы n=20	рН 7,4 бедренная артерия	рН 7,2 бедренная артерия	рН 7,2 печеночная вена	рН 7,0 печеночная вена
момент R	216±12,1	66±4,2*	76±5,6*	48±4,0*
время образования сгустка K	96±3,4	48±2,3*	50±3,5*	60±3,8*
R +K коэффициент коагуляции	312±15,2	114±6,6*	126±8,1*	108±7,7*
максикальная амплитуда МА	34±2,1	37±2,2	42±2,4*	10±1,6*
угол а	8±1,03	14±2,0*	15±2,2*	5±0,5*
Е коэффициент эластичности	51±4,4	59±7,1	72±8,9*	5±0,6*
J тромбоэластический коэффициент	1,6±0,31	1±0,02	1±0,02	1±0,02

Примечание: * - значимость различий между опытными и контрольными данными

По данным гемокоагуляционных тестов, сдвиг рН крови до 7,0-6,9 и экспозиции ацидоза 120 минут, приводит к выраженной гипокоагуляции (таблица 3). Показатели ТЭГ, в отличие от гемокоагуляционных тестов, свидетельствовали об укорочении I и II фаз свертывания крови, появлении первых нитей фибрина. Однако, эластичность фибринового сгустка, исходя из значений максимальной амплитуды, очень незначительна, поэтому время рекальцификации плазмы при сдвиге рН до 6,8 регистрируется значительно позднее, или образование сгустка вообще не удается зафиксировать. При дальнейшем сдвиге рН и экспозиции ацидоза 180 минут по данным ТЭГ первые нити фибрина появляются на 48 с, а максимальная амплитуда около 5 мм - на 108 с. Угол а составляет 5°, коэффициент эластичности (Е) 5,3. Все эти

изменения свидетельствуют о возникновении фибринового сгустка очень низкой эластичности (рис.1).

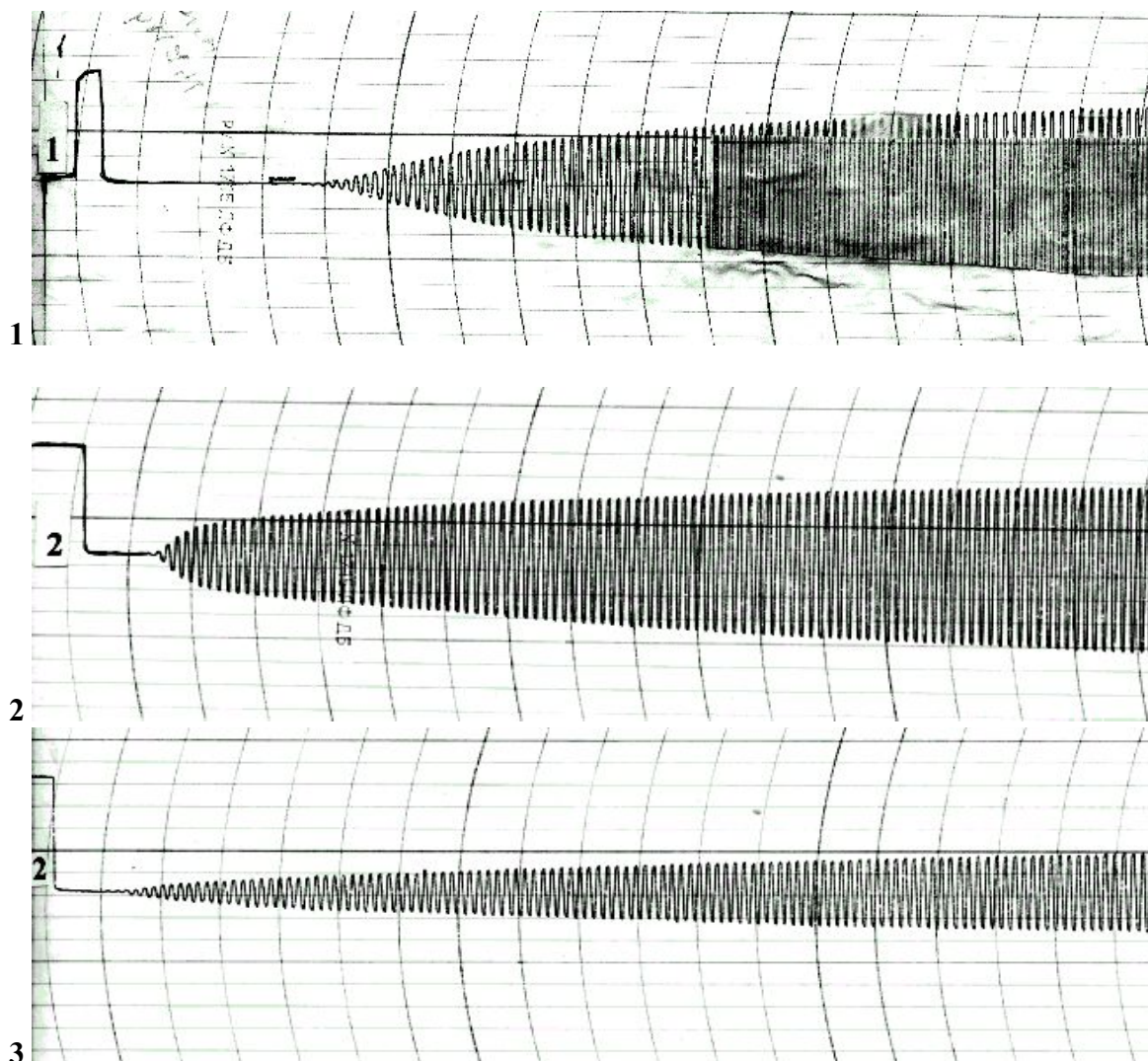


Рис.1. Изменения параметров тромбоэластограммы при лактат-ацидозе.

1. - тромбоэластограмма крови бедренной артерии рН 7,4 (контроль).
2. - тромбоэластограмма крови бедренной артерии рН 7,2 (опыт).
3. - тромбоэластограмма крови печеночной вены рН 6,9 (опыт).

Электрокоагулографические исследования подтверждают данные, полученные коагулологическими методами. В контроле в бедренной артерии начало свертывания (T_1) составляло 160 с (с учетом данных секундомера), конец свертывания (T_2) составил 230 с, продолжительность свертывания была равной 70 с. В опыте при сдвиге рН в кислую сторону до 7,2 начало свертывания в бедренной артерии укорачивалось до 50 с, в печеночной вене 70 с, а продолжительность свертывания в бедренной артерии и печеночной вене составила соответственно 40 и 30 с (рис.2). Полученные данные согласуются с показателями времени свер-

тывания плазмы и тромбинового времени. Это свидетельствует о том, что сдвиг рН в кислую сторону до 7,2, приводит к развитию гиперкогулемии.

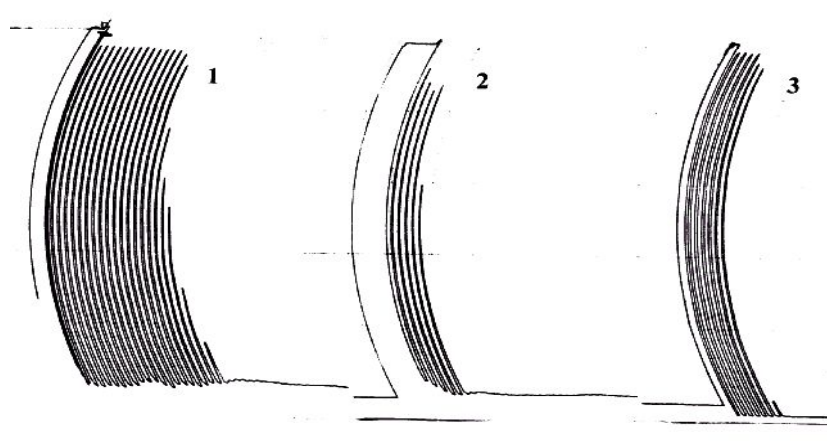


Рис.2. Изменения электрокоагулограммы при различных уровнях рН.

1. - электрокоагулограмма крови бедренной артерии рН 7,4.
2. - электрокоагулограмма крови бедренной артерии рН 7,2.
3. - электрокоагулограмма крови печеночной вены рН 7,2.

Результаты гемокоагуляционных тестов показали, что в контроле имеются различия в показателях системы гемостаза, которые связаны с неодинаковыми значениями рН в крови бедренной артерии и воротной вены. РН крови бедренной артерии составляет 7,4, а бедренной вены – 7,36, что соответствует общепринятой норме. Время свертывания плазмы было короче в крови бедренной вены на 12,3%, тромбиновое время на 23,4%. При создании ацидоза со сдвигом рН в бедренной артерии до 7,25, а в воротной вене до 7,15 скорость свертывания крови резко возрастала в обоих сосудах. Протромбиновое время удлинялось в артерии. Тромбиновое время в артерии, при сдвиге рН крови в кислую сторону до 7,25-7,15, укорачивалось. Сдвиг рН крови до 6,9 приводит к гипокоагуляции. Это, вероятно, связано с нарушением полимеризации фибрина. Активность фибринстабилизирующего фактора снижалась, время образования сгустка, как в артерии, так и в вене значительно удлинялось, в отдельных опытах определить его активность не удалось. В результате усиления постоянного внутрисосудистого свертывания крови уровень фибриногена закономерно уменьшался. Параллельно со снижением концентрации фибриногена пропорционально нарастал уровень РФМК (таблица 3).

Влияние различной степени лактат-ацидоза на некоторые показатели гемокоагуляционного гемостаза в бедренной артерии и вене

Таблица 3

Исучаемые показатели	Контроль До введения лактата	Опыт После введения лактата
----------------------	---------------------------------	--------------------------------

n = 15	Бедренная артерия	Бедренная вена	Бедренная артерия	Бедренная вена	Бедренная артерия	Бедренная вена
	pH 7,4	pH 7,36	pH 7,25	pH 7,15	pH 7,0	pH 6,9
Время свертывания плазмы	82,4 ± 3,8	74,2 ± 3,4 p < 0,05	63,8 ± 1,6 p < 0,001	58,0 ± 2,0 p < 0,001	140,5 ± 9,0 p < 0,001	142,3 ± 10,6 p < 0,001
Протромбиновое время (с)	24,7 ± 1,1	22,0 ± 1,1 p < 0,4	26,2 ± 1,4 p < 0,02	28,8 ± 1,4 p < 0,1	33,3 ± 2,9 p < 0,05	38,0 ± 2,4 p < 0,001
Тромбиновое время (с)	41,0 ± 2,65	33,0 ± 2,85 p < 0,01	38,2 ± 3,28 p < 0,1	26,2 ± 0,98 p < 0,001	нет сгустка	нет сгустка
Фактор XIII (%)	100,0 ± 9,1	95,7 ± 9,6 p < 0,5	>200 p < 0,001	> 200 p < 0,001	> 200 p < 0,001	> 200 p < 0,001
Содержание фибриногена (г/м)	16,4 ± 1,1	18,6 ± 1,4 p < 0,2	12,4 ± 1,1 p < 0,001	12,6 ± 1,3 p < 0,01	11,8 ± 2,3 p < 0,05	10,9 ± 1,8 p < 0,001
РФМК (мг/дл)	3,5 ± 0,26	4,0 ± 0,2 p < 0,2	6,4 ± 0,3 p < 0,01	8,1 ± 0,4 p < 0,001	9,9 ± 0,4 p < 0,001	11,7 ± 0,3 p < 0,001

Примечание: p - достоверность различий между контролем и опытом, n - количество исследований

Таким образом, лактат-ацидоз приводит к усилению постоянного внутрисосудистого свертывания крови. При pH 7,21-7,15 наряду с гиперкоагуляцией, что подтверждается данными тромбоэластографии и электрокоагулографии, наблюдается спонтанная агрегация тромбоцитов, происходит снижение концентрации фибриногена и нарастание РФМК, Увеличение глубины и продолжительности ацидоза приводит к развитию вторичной гипокоагуляции, при этом удлиняются основные параметры и снижается амплитуда тромбоэластограммы.

Работа выполнена в рамках Государственного задания по вузу Минобрнауки РФ, № 2707

Список литературы

1. Баркаган З. С. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза / З. С. Баркаган А. П. Момот. 3-е изд. М.: Ньюдиамед, 2008. – 292 с.
2. Бокарев И. Н., Попова Л. В. Венозный тромбоэмболизм и тромбоэмболия легочной артерии. Издательство: Медицинское информационное агентство. 2013. – 512 с.

3. Кижяева Е.С., Закс И.О. Полиорганная недостаточность в интенсивной терапии // Вест. интенс. терапии. 2004. № 1. – С. 12–24.
4. Кузник Б.И. Клеточные и молекулярные механизмы регуляции системы гемостаза в норме и патологии: монография / Б. И. Кузник - Чита: Экспресс-издательство. 2010. - 832 с.
5. Малышев В.Д. Кислотно-основное состояние и водно-электролитный баланс в интенсивной терапии. — М.: ОАО «Издательство «Медицина», 2005. – 228 с:
6. Окорочков А.И.. Лечение болезней внутренних органов: Т. 3, кн. 1. Лечение болезней сердца и сосудов: - Мед. Лит. 2002. – 464 с.
7. Brus F., van Oeveren W., Okken A. et al. Number and activation of circulating polymorphonuclear leukocytes and platelets are associated with neonatal respiratory distress syndrome severity // Pediatrics. – 1997. – V. 99, N 5. – P. 672-680.

Рецензенты:

Авсеенко Н.Д., д.м.н., профессор кафедры Безопасности жизнедеятельности и защиты окружающей среды Забайкальского института железнодорожного транспорта (ИрГУПС), г.Иркутск;

Вертипрахов В.Г., д.б.н., профессор кафедры Медико-биологических основ, Забайкальский государственный университет, г.Иркутск.