

ОСОБЕННОСТИ ОРИЕНТИРОВОЧНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КОАГУЛОГРАММЫ КРОЛИКОВ В УСЛОВИЯХ ОСТРОЙ БАРОКАМЕРНОЙ ГИПОКСИИ

Еникеев Д.А., Хисамов Э.Н., Еникеев О.А., Хисамов Э.Э., Фаюршин А.З., Лашин А.А.

ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России», e-mail: Hisamov7958@yandex.ru

Изучение состояния некоторых ориентировочных показателей коагулограммы при действии на организм острой барокамерной гипоксии проводилось на взрослых кроликах породы шиншилла. Разрежение воздуха соответствовало 5-7 тыс. м высоты. Исследование гемостаза проводилось по показателям времени конца свертывания капиллярной крови, ретракции кровяного сгустка, а также активности спонтанного фибринолиза в исходном уровне (контроль), через 3, 7, 12, 24 часа действия острой гипоксии, а также через 1, 2, 3, 4, 5 суток после опыта. Показатели времени конца свертывания капиллярной крови в условиях барокамерной гипоксии постепенно снижались с максимальными значениями к концу 24 часов опыта. Возвращение к исходному состоянию данного показателя также происходило постепенно, нормализация наступала лишь на 4-5-е сутки. Свертывание крови в данном опыте моделировало образование первичного сосудисто-тромбоцитарного сгустка, когда повышалась активность тромбоцитарного, эндотелиального звеньев и гуморальных факторов - адреналина, VIII плазменного фактора Виллебранда, III фактора тромбопластина, а также IV фактора - ионов кальция. Среднее значение ретракции кровяного сгустка постепенно по мере удлинения срока пребывания животных в барокамере повышалось и максимального значения достигало через 24 часа. Возвращение к исходному уровню происходило на 4-5-е сутки после опыта. Только через 3 часа действия острой гипоксии наблюдалось статистически значимое понижение данного показателя по сравнению с исходным уровнем. Среднее значение активности фибринолиза крови под действием барокамерной гипоксии имело тенденцию к снижению. Выявленные сдвиги со стороны фибринолиза, возможно, обусловлены дефицитом процесса оксигенации ферментативного превращения плазминогена в плазмин. Исключение составляло значение данного показателя через 3 часа острой гипоксии, когда отмечалось статистически достоверное его повышение. Таким образом, в целом обозначился прокоагуляционный эффект гипобарической гипоксии.

Ключевые слова: гипоксия, свертывание крови, ретракция сгустка крови, фибринолиз.

PECULIARITIES OF THE REFERENCE INDICATORS OF THE RABBIT COAGULOGRAM IN THE CONDITIONS OF ACUTE BARCAMERA HYPOXIA

Enikeev D.A., Khisamov E.N., Enikeev O.A., Khisamov E.E., Fayurshin A.Z., Lashin A.A.

FSBEI HE "Bashkir State Medical University" of the Ministry of Health of Russia", e-mail: Hisamov7958@yandex.ru

The study of the state of some indicative indicators of the coagulogram under the influence of acute hyperbaric chamber hypoxia on the body was carried out on adult Chinchilla rabbits. The rarefaction of air corresponded to 5-7 thousand meters of height. The study of hemostasis was carried out according to the indicators of the time of the end of coagulation of capillary blood, blood clot retraction, as well as the activity of spontaneous fibrinolysis at the initial level (control), after 3, 7, 12, 24 hours of acute hypoxia, as well as after 1, 2, 3, 4 5 days after the experiment. The end capillary blood coagulation time under pressure chamber hypoxia gradually decreased with maximum values at the end of the 24 hours of the experiment. The return to the initial state of this indicator also occurred gradually, normalization occurred only on the 4-5th day. In this experiment, blood coagulation simulated the formation of a primary vascular-platelet clot, when the activity of platelet, endothelial units and humoral factors-adrenaline, plasma VIII Willebrand factor III, thromboplastin factor III, and factor IV-calcium ions increased. The average value of blood clot retraction gradually increased as the animals stayed in the pressure chamber longer and reached a maximum value after 24 hours. Return to baseline occurred on 4-5 days after the experiment. Only after 3 hours of acute hypoxia there was a statistically significant decrease in this indicator compared with the initial level. The average value of blood fibrinolysis activity under the influence of hyperbaric chamber hypoxia tended to decrease. The revealed shifts from the side of fibrinolysis are probably due to a deficiency in the oxygenation process of the enzymatic conversion of plasminogen to plasmin. An exception was the value of this indicator after 3 hours of acute hypoxia, when a statistically significant increase was noted. Thus, the procoagulative effect of hypobaric hypoxia was generally indicated.

Keywords: hypoxia, coagulation of blood, retraction of a blood clot, fibrinolysis.

Система гемостаза представляет собой наиболее важный компонент более обширной системы регуляции агрегатного состояния крови и коллоидов (РАСК), обеспечивающей гомеостаз внутренней среды [1]. Индивидуальная адаптация организма в физиологических условиях, а также при патологии невозможна без адекватной пластичности системы гемостаза. Поэтому любая лечебная коррекция или диагностика нуждаются в информации о степени равновесия или отклонения различных элементов гемостаза – прокоагулянтов, антикоагулянтов и фибринолитической системы. В практической медицине имеет важное значение исследование состояния гемостаза с применением относительно недорогих и простых методов, но достаточно полно отражающих состояние плазменных факторов свертывания крови.

Реакция гемостаза на действие гипоксии не всегда однозначна. Это касается состояния внутреннего равновесия элементов гемостаза в целом, а также его факторов в отдельности. Поэтому работы, направленные на изучение данной проблемы, сохраняют свою оригинальность.

Цель исследования: установить направленность сдвигов различных фаз коагуляционного гемостаза и фибринолитической системы в условиях действия на организм острой прерывистой барокамерной гипоксии различной интенсивности и в послеопытном периоде в сравнительном аспекте.

Материал и методы исследования

Материалом для работы служила периферическая кровь 50 кроликов породы шиншилла. Экспериментальные условия были созданы в виде пребывания взрослых кроликов в барокамере со снижением уровня атмосферного давления, соответствующего по показателю манометра-анероида 5-7 тыс. м высоты. Прерывистая гиперкапническая гипоксия создавалась с перерывами на 15 минут через каждый час пребывания в камере. Исследование проводилось через 3, 7, 12, 24 часа и в течение 5 суток после опыта. Во время эксперимента и после него состояние кроликов было удовлетворительное, случаев гибели не было. Изучение свертываемости крови проводилось по трем параметрам:

1. Определение времени конца свертывания капиллярной крови по методу Сухарева. В капилляр аппарата Панченкова для СОЭ набирается 25 мм крови и устанавливается время полной остановки движения крови при смене наклона капилляра 40 г в каждые 30 сек. Индекс свертывания крови (ИСК %) = (Исходное время свертывания / экспериментальное время свертывания) x 100%.

2. Определение величины ретракции (R%) сгустка крови по методу Рутберг. Устанавливается по формуле: $R (\%) = (F_2 \times 50) / V$, где F_2 – объем сыворотки 2 мл крови после

удаления сгустка и центрифугирования (15 мин. 1500 об. в мин.); V- объем плазмы 2 мл крови по гематокриту; 50 – расчетное число для 100 мл плазмы крови.

3. Определение активности спонтанного фибринолиза (SF %) по методу Рутберг. Устанавливается по формуле: $SF (\%) = (F_3 \times 50) / HT$, где: F_3 - объем форменных элементов (мл) после центрифугирования сыворотки 2 мл крови; HT – гематокрит, т.е. объем форменных элементов 2 мл крови; 50 - расчет на 100 мл плазмы. Например, в исходном состоянии: $F_2=1,8$ мл. $V=1,32$ мл. $R=68,2\%$. $GT=34,1\%$ (0,68 мл). $F_3=0,18$ мл. $SF=13,23$.

Соответствие выборок нормальному распределению оценивалось по критерию Шапиро - Уилка. Показатели внутри выборок отличались от стандартного нормального распределения. Для установления достоверности различий был использован критерий Вилкоксона для сопряженных пар, когда одно и то же животное является контролем (исходное состояние) и экспериментальным (в процессе опыта) [2].

Результаты исследования и их обсуждение

В соответствии с поставленной целью работы объектом изучения стали ориентировочные свойства плазменных факторов: время свертывания крови, значение ретракции кровяного сгустка и активность спонтанного фибринолиза взрослых кроликов в условиях 24-часового пребывания в барокамере при понижении уровня атмосферного давления, соответствующего 5-7 тыс. м высоты в динамике.

Среднее время конца свертывания капиллярной крови по мере пребывания животных в барокамере постепенно снижалось, с максимальным значением к 24 часам действия острой гипоксии (табл. 1). Возвращение к исходному состоянию наблюдалось лишь на 4-5-е сутки после опыта.

Таблица 1

Показатели свертывания крови при действии барокамерной гипоксии

Сроки исследования	Среднее время конца свертывания капиллярной крови (сек.)	Диапазон времени конца свертывания капиллярной крови (сек.)	Среднее значение индекса конца свертывания капиллярной крови (%)	Диапазон индекса свертывания капиллярной крови (%)
Исходное состояние	188,7±5,1	156-277	-	-
Через 3 часа	176,3±4,9*	153-272	188,7/176,3 x100=107,0	92-121
Через 7 часов	161,2±5,2*	144-258	188,7/161,2 x100=117,0	98-136
Через 12 часов	143,3±4,9*	131-246	188,7/143,3 x100=131,5	119-141
Через 24 часа	98,2±4,7*	118-221	188,7/98,2 x100=192,1	179-203
После 1 суток	123,1±4,6*	133-242	188,7/123,1 x100=153,2	145-162

После 2 суток	148,5±4,8*	145-225	188,7/148,5 X100=127,0	118-136
После 3 суток	173,1±5,3*	146-261	188,7/173,1 x100=109,0	93-117
После 4 суток	195,2±5,4	151-271	188,7/195,2 x100=96,7	81-107
После 5 суток	191,2±5,3	155-281	188,7/191,2 x100=98,6	82-109

Примечание: n = 50; М - средняя арифметическая величина; m – стандартная ошибка средней арифметической; *- P<0,05 достоверность различий при сопоставлении с исходным уровнем.

Состояние плазменных факторов гемостаза изучалось с помощью значения ретракции и активности спонтанного фибринолиза (табл. 2). Среднее значение ретракции кровяного сгустка постепенно по мере удлинения срока пребывания животных в барокамере снижалось и максимального значения достигало через 24 часа. Возвращение к исходному уровню происходило на 4-5-е сутки после опыта. Лишь через 3 часа действия острой гипоксии наблюдалось статистически значимое повышение данного показателя по сравнению с исходным уровнем.

Активность фибринолиза крови под действием барокамерной гипоксии имело тенденцию к снижению по сравнению с исходным состоянием. Исключение составляло значение данного показателя через 3 часа острой гипоксии, когда отмечалось статистически достоверное повышение среднего показателя активности спонтанного фибринолиза при сопоставлении с исходным уровнем.

Таблица 2

Ориентировочные показатели коагуляционного гемостаза при действии острой гипоксии

Сроки исследования	Среднее значение ретракции кровяного сгустка (%), М±m	Диапазон значения ретракции сгустка (%), М±m	Среднее значение активности спонтанного фибринолизиса (%), М±m	Диапазон активности спонтанного фибринолизиса (%), М±m
Исходное состояние	68,2 ±1,32	73-64	13,23 ±0,28	14,4-10,9
Через 3 часа	64,1±1,21*	69-63	14,8±0,31	15,6-11,2
Через 7 часов	69,4±1,28	72-66	13,5±0,26	14,9-10,6
Через 12 часов	74,2±1,35*	79-62	12,8±0,29	14,1-10,9
Через 24 часа	78,6±1,47*	81-59	11,4±0,24	13,6-9,3
После суток	74,5±1,36*	77-67	11,6±0,26	12,8-9,8
После суток	71,7±1,29*	75-66	11,8±0,25	12,2-9,1
После суток	69,3±1,28*	73-63	12,5±0,29	13,1—10,1

После суток	4	69,1±1,33	70-62	14,1±0,27	13,9-10,8
После суток	5	67,8±1,34	71-54	13,4±0,26	13,4-9,9

Примечание: n = 50; М - средняя арифметическая величина; m – стандартная ошибка средней арифметической; * - P<0,05 достоверность различий при сопоставлении с исходным уровнем.

Исследование времени свертывания крови имеет важное значение, так как оно отражает общую коагуляционную активность периферической крови независимо от этиологического процесса. Однако значение этого показателя наиболее адекватно в тех случаях, когда отклонение его связано с патологией вторичного характера в качестве сопутствующего признака или как осложнение основного заболевания. Поскольку почти в любой патологии имеют место изменения в динамике окислительного фосфорилирования, как обязательного элемента в механизме патологического процесса, то есть гипоксии в широком ее понимании, не остается сомнения о конкретной роли последнего в регуляции физиологического гомеостаза внутренней среды, следовательно, и системы свертывания крови. Однако влияние гипоксии как фактора, экспрессирующего ферментативный процесс, распространяется на все звенья гемостаза, включая прокоагулянтный, антикоагулянтный и фибринолитический компоненты. Остается открытым вопрос, как реагируют на гипоксию компоненты гемостаза, происходит ли внутренняя перестройка с доминирующей активностью одного звена и подавлением другого. Если допустить такой вариант, то какое место занимают по активности прокоагуляционная, антикоагуляционная и, наконец, фибринолизующая системы. Поэтому для установления ясности в этих вопросах, кроме определения времени свертывания крови, были изучены и активность ретракции кровяного сгустка, и показатели фибринолиза при гипоксии.

В процессе капиллярного свертывания крови происходит образование сгустка крови при участии внутренних и внешних факторов сосудисто-тромбоцитарного гемостаза, где доминирующую роль играют адгезия, агрегация тромбоцитов и эритроцитов, зафиксированных фибриновыми нитями. Повышение активности тромбоцитарного фактора при барокамерной гипоксии было приведено в нашей предыдущей работе [3], что косвенно указывает на усиление при гипоксии коагуляционного гемостаза [4]. Сокращение времени свертывания крови в условиях кислородного голодания организма отмечено и другими авторами [4-6]. В результате данного исследования нами было отмечено прямо пропорциональное сокращение времени конца свертывания капиллярной крови по мере увеличения срока пребывания животных в барокамере. Свертывание крови в данном случае моделировало образование первичного сосудисто-тромбоцитарного тромба при повышении

активности, наряду с тромбоцитарным и эндотелиальным звеньями, гуморальных факторов - адреналина, VIII-плазменного фактора Виллебранда, III-фактора тромбопластина, а также IV- фактора – ионов кальция [1].

Конец капиллярного свертывания крови отражает начало формирования первичной гемостатической пробки. Однако этот процесс может быть обратимым при активации под влиянием простаглицина. Тогда адгезивность тромбоцитов стирается, и кровяной сгусток распадается. Дальнейший процесс формирования необратимого уплотненного сгустка крови происходит только при ретракции его, а также при активации секрета тромбоцитов тромбостенина, когда появляются способные к сокращению фибриновые нити в условиях реализации схемы: протромбин -тромбин-фибриноген- фибрин. Гипоксическое состояние сопровождается повышением содержания в крови ионов кальция, медиаторов тромбоксана и простагландина I₂ (простаглицина). В норме действие простагландинов доминирует над эффектом тромбоксана, тогда прилипчивость, а также тенденция к скучиванию тромбоцитов не наблюдаются. Однако в условиях кислородного голодания ситуация может изменяться в противоположном направлении: функциональная эффективность тромбоксана оказывается выше, чем таковая простаглицина, тогда усиливается адгезивность и агрегация тромбоцитов, что способствует в результате усилению прокоагуляционного эффекта. Этому способствует и повышение содержания ионов кальция, которое наблюдается при гипоксии. Дефицит кислорода в организме также приводит к возбуждению симпато-адреналовой системы, что сопровождается доминированием активности прокоагуляционной системы [1]. Данный процесс подтверждается результатами наших исследований – сокращением конечного времени капиллярного свертывания крови и повышением активности ретракции кровяного сгустка в условиях барокамерной гипоксии.

Сохранение адекватных реологических свойств крови обеспечивается равновесием между прокоагуляционной и антикоагуляционной системами. В роли антикоагуляционной системы важную роль играет фибринолитическая система. Логично допустить, что выявленные нами сдвиги со стороны фибринолиза во время опытов обусловлены дефицитом процесса оксигенации ферментативного превращения плазминогена в плазмин. Что касается неферментативных путей снижения активности фибринолиза, то их также можно связать со снижением синтеза АТФ в процессе секреции биогенных аминов, участвующих в динамике фибринолиза, в условиях острой гипоксии.

Выводы

1. Время свертывания капиллярной крови в условиях барокамерной гипоксии постепенно снижалось с максимальным выражением к концу 24 часов опыта. Возвращение к исходному состоянию данного показателя также происходило постепенно, нормализация наступила

лишь на 4-5-е сутки. Свертывание крови происходило по схеме развития сосудисто-тромбоцитарного гемостаза.

2. Ретракция кровяного сгустка по мере удлинения срока пребывания животных в барокамере повышалась и максимального значения достигала через 24 часа. Функциональная эффективность тромбксана оказалось выше таковой простаглицлина. Возвращение к исходному уровню происходило на 4-5-е сутки после опыта.

3. Активность фибринолиза крови под действием барокамерной гипоксии имела тенденцию к снижению. Выявленные сдвиги со стороны фибринолиза, очевидно, обусловлены дефицитом процесса оксигенации ферментативного превращения плазминогена в плазмин. Таким образом, в целом обозначился прокоагуляционный эффект гипобарической гипоксии.

Список литературы

1. Питкевич Э.С., Угольник Т.С., Лызиков А.А., Бель Ю.И. Система гемостаза: физиология, патофизиология и медикаментозная коррекция: учебно-методическое пособие. Гомель: Гомельский государственный медицинский университет, 2007. 44 с.
2. Зверев А.А., Зефиоров Т.Л. Статистические методы в биологии: учебно-методическое пособие. Казань: КФУ, 2013. 42 с.
3. Еникеев Д.А., Хисамов Э.Н., Еникеев О.А., Срубиллин Д.В., Шакиров А.Р. Состояние клеточного гемостаза при действии острой барокамерной гипоксии // Современные проблемы науки и образования. 2019. № 4.; URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=29028> (дата обращения: 24.11.2019).
4. Шахматов И.А., Вдовин В.М., Киселев В.И. Состояние системы гемостаза при различных видах гипоксического воздействия // Бюллетень СО АМН. 2010. Т. 30. № 2. С.131-138.
5. Хайбуллина З.Р., Вахидова Н.Т. Состояние периферической крови при острой гипоксии в эксперименте // Медицина: вызовы сегодняшнего дня: материалы Междунар. науч. конф. Челябинск: Два комсомольца, 2012. С. 24-29.
6. Москаленко С.В., Шахматов И.И., Бондарчук Ю.А., Улитина О.М. Влияние однократного и многократного воздействия гипоксической гипоксии сильной интенсивности на состояние системы гемостаза у крыс // Сибирский научный медицинский журнал. 2018. Т. 38. №1. С. 32-37.