

## СОСТОЯНИЕ ТРОМБОЦИТОВ ПОСЛЕ КРОВОПОТЕРИ

Еникеев Д.А., Хисамов Э.Н., Еникеев О.А., Срубиллин Д.В., Фаюршин А.З.

*ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Уфа, e-mail: Hisamov7958@yanlex.ru*

В травматологии, хирургии, гинекологии и акушерстве врачи сталкиваются со случаями кровопотери. Поэтому вопросы, связанные с состоянием гемостаза при кровопотере, не теряют актуальности. Целью ставилось определить роль тромбоцитов в условиях кровопускания в легкой степени в эксперименте. В процессе работы была установлена динамика сдвигов количественных параметров кровяных пластинок, а также тромбоцитограммы. Определено значение клеточных элементов в системе гемостаза после кровопотери в размере 20% от объема циркулирующей крови (ОЦК) у кроликов. Со стороны тромбоцитов и тромбоцитограммы описаны фазовые сдвиги в соответствии с фазами сосудисто-рефлекторной, гидремической, костномозговой и восстановительной в динамике кровопотери. Отмечено, что ситуационные проявления свойств тромбоцитов распространялись как на тромботическое, так и атромботическое состояния в зависимости от положения физиологических процессов. Динамика сдвигов процентного содержания количества тромбоцитов, характер тромбоцитограммы также находились в зависимости от общего адаптационного синдрома и указывали на конкретное состояние организма в динамике острой постгеморрагической анемии. Так, после процедуры кровопускания через 5 часов было установлено достоверное снижение количества тромбоцитов. По истечении 1 суток после кровопускания относительное количество тромбоцитов в единице объема крови снизилось еще в большей степени. После 5 суток после кровопотери изменение количества тромбоцитов по сравнению с предыдущим сроком, то есть через 24 часа после кровопускания, заключалось в некотором повышении данного показателя. Через 10 суток после кровопускания количество тромбоцитов находилось в пределах исходного уровня.

Ключевые слова: кровопускание, тромбоциты, тромбоцитограмма, сосудисто-тромбоцитарный гемостаз.

## THE STATE OF PLATELETS AFTER BLOOD LOSS

Enikeyev D.A., Hisamov E.N., Enikeyev O.A., Srubilin D.V., Fayurshin A.Z.

*Bashkir State Medical University of the Ministry of Health RF, Ufa, e-mail: Hisamov7958@yanlex.ru*

In traumatology, surgery, gynecology and obstetrics, doctors face cases of blood loss. Therefore, issues related to the state of hemostasis during blood loss do not lose relevance. The aim was to determine the role of platelets in the conditions of bloodletting to a mild extent in the experiment. In the course of the work, the dynamics of shifts in the quantitative parameters of blood plates, as well as thrombocytograms, were established. The value of cellular elements in the hemostasis system after blood loss in the amount of 20% circulating blood volume (BCC) in rabbits was determined. On the part of platelets and thrombocytograms, phase shifts are described in accordance with the phases of vascular reflex, hydremic, bone marrow and restorative in the dynamics of the pathogenesis of blood loss. It was noted that situational manifestations of platelet properties extended to both thrombotic and atrombotic states depending on the position of physiological processes. The dynamics of changes in the percentage of platelets, as well as the nature of the thrombocytogram, were dependent on the general adaptation syndrome and indicated a specific state of the body in the dynamics of acute posthemorrhagic anemia. So, after the bloodletting procedure, a significant decrease in the number of platelets was found after 5 hours. After 1 day after bloodletting, the relative number of platelets per unit volume of blood decreased even more. After 5 days after blood loss, the change in the number of platelets compared to the previous period, that is, 24 hours after bleeding, consisted in a slight increase in this indicator. 10 days after bloodletting, the number of platelets was within the baseline level.

Keywords: Bloodletting, platelets, thrombocytogram, vascular-platelet hemostasis.

Изучение состояния гемостаза проводилось в различных формах патологии, в том числе в условиях барокамерной гипоксии [1], при массивной кровопотере [2]. Кровопотеря, вызванная повреждением кровеносного сосуда, сопровождается рядом физиологических сдвигов, в том числе и со стороны кровяных пластинок. Первичный рефлекторный ангиоспазм, а также поврежденный эндотелий сосудов обуславливают активацию

тромбоцитов. Активированные тромбоциты усиливают влияние ферментов глюкозилтрансферазы и фосфолипазы А<sub>2</sub>. В свою очередь, фосфолипаза А<sub>2</sub> приводит к высвобождению арахидоновой кислоты. Активированная арахидоновая кислота далее через цАМФ обуславливает фосфорилирование кальмодулина. Одновременно при этом экспрессируются простогландины и тромбоксан. Под влиянием тромбоксана происходит вторичный спазм сосудов. Фосфорилирование кальмодулина способствует адгезии тромбоцитов путем изменения формы и образования псевдоподий. Параллельно происходит дегрануляция тромбоцитов. В результате осуществляется агрегация тромбоцитов с формированием первичной гемостатической пробки с последующей адсорбцией и активацией плазменных факторов свертывания крови, синтезом фибрина и тромбостенина. Таким образом, роль тромбоцитов не ограничивается только участием в механизме сосудисто-тромбоцитарного гемостаза, также распространяется и на процессы развития коагуляционного гемостаза [3, с. 117].

#### **Материал и методы исследования**

Материалом для исследования служили взрослые кролики, самцы породы шиншилла массой тела 3,5-4,0 кг. 10 особей. Кровопускание производилось из краевой вены уха одновременно в размере 20% от объема циркулирующей крови без обезболивания. ОЦК определялся из расчета 6% от массы тела. Изучение полученного биоматериала производилось в исходном состоянии животных, далее через 5 и 24 часа, 5 и 10 суток после кровопускания. Для исследования тромбоцитограммы мазки крови окрашивались азур-эозином. Дифференцированный подсчет различных форм тромбоцитов производился на мазках крови. Немногочисленные юные формы кровяных пластинок характеризовались нерезкими контурами, наличием нежного, необильного, более или менее с равномерным расположением грануломера и бледно-розового, реже голубого гиаломера. Зрелые формы, которые представляли основную массу кровяных пластинок, имели округлую или овальную форму, отличались резкими контурами. Гиаломер окрашивался в голубоватые или розоватые тона. Грануломер располагался, главным образом, в центре пластинки, содержал гранулы красновато-фиолетового цвета. У старых форм кровяных пластинок большую часть занимал грануломер. Гранулы его были грубые, пикнотичные, темно-фиолетовой окраски. Гиаломер находился в виде узкого ободка. Пластинки в целом были сморщены, имели чаще неправильную форму. В некоторых кровяных пластинках старой формы встречались разной величины вакуоли. Формы раздражения кровяных пластинок характеризовались наличием незначительного, еле заметного ободка гиаломера розового оттенка и, занимающего почти всю пластинку, фиолетового цвета грануломера. Форма их была овальная или колбасовидная. Количество тромбоцитов определялось с помощью гематологического анализатора. Индекс

сдвига тромбоцитограммы устанавливался отношением юных форм к остальным формам тромбоцитов в процентном соотношении. Работа в процессе опытов проведена с соблюдением основных принципов биоэтики, морально-этических принципов проведения биомедицинских экспериментов на животных, сформулированных локальным этическим комитетом БГМУ (председатель Хасанов А.Г.). Соответствие выборок нормальному распределению оценивалось по критерию Шапиро-Уилки. 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) [4].

### Результаты исследования и их обсуждение

Целью ставилось определить роль тромбоцитов в условиях кровопускания в легкой степени в эксперименте. Кровопотеря, которая моделировалась одномоментным кровопусканием из краевой вены уха кроликов, изучалась по показателям количества тромбоцитов, а также по величине сдвига тромбоцитограммы. В исходном состоянии количество тромбоцитов составляло в среднем  $311,4$  в диапазоне  $287-334 \times 10^9/\text{л}$  (табл.).

Сводные показатели кровяных пластинок кроликов после кровопускания в динамике

( $M \pm m$ ;  $n-10$ ;  $*-P < 0,05$  в сравнении с исходными данными;

$** - P < 0,05$  в сравнении с предыдущими данными;  $** - P$ )

Показатели крови	Исходные данные	Через 5 час.	Через 24 час.	После 5 суток	После 10 суток
Тромбоциты ( $\times 10^9 / \text{л}$ )	$311,4 \pm 7,2$	$291,4 \pm 6,7^*$	$218,4 \pm 7,1^{*,**}$	$265,7 \pm 7,1^{*,**}$	$313,9 \pm 8,2^{**}$
Индекс сдвига тромбоцитограммы	$0,016 \pm 0,003$	$0,013 \pm 0,002$	$0,008 \pm 0,001^{*,**}$	$0,04 \pm 0,005^{*,*}$	$0,015 \pm 0,003^*$
Юные формы, %	$1,6 \pm 0,05$	$1,3 \pm 0,17$	$0,8 \pm 0,2$	$3,9 \pm 0,27$	$1,5 \pm 0,26$
Зрелые формы, %	$85,5 \pm 2,3$	$84,3 \pm 1,8$	$81,3 \pm 1,6$	$85,2 \pm 1,7$	$77,8 \pm 1,8$
Старые формы, %	$4,8 \pm 0,13$	$4,9 \pm 0,11$	$6,4 \pm 0,12$	$3,2 \pm 0,13$	$2,6 \pm 0,11$
Формы раздражения, %	$8,1 \pm 0,19$	$9,6 \pm 0,415$	$11,5 \pm 0,45$	$8,6 \pm 0,37$	$18,1 \pm 0,42$

Проведенная в процессе опыта кровопотеря, естественно, привела к уменьшению общего количества крови в организме. Содержание количества тромбоцитов ведется исходя из концентрации его в определенном объеме крови, в частности на 1 литре циркулирующей крови.

После процедуры кровопускания через 5 часов было установлено достоверное снижение количества тромбоцитов, что, очевидно, связано не только со снижением объема циркулирующей крови, но также и с усилением «потребления», то есть использования, в процессе свертывания крови (табл.). В соответствии с представлением, что в первые 8-12 часов после кровопотери наблюдается сосудисто-рефлекторная фаза, снижение ОЦК в тромбоцитопении играло небольшую роль [3, с. 116-120]. Основной причиной относительного снижения количества кровяных пластинок, вероятно, является участие их в формировании гемостатической пробки. В этот же срок, то есть через 5 часов после кровопотери, следует учесть и значение рефлекторного выброса депонированной крови в сосудистое русло. Следовательно, состояние количества тромбоцитов в первые часы после кровопотери зависело от трёх факторов. Первая причина – феномен «потребления», который отрицательно сказывался на данном показателе. Вторая причина – гиповолемия исходя из размеров ОЦК, которая, вероятно, была выражена незначительно и поэтому в развитии тромбоцитопении не имела достоверного значения. Третья причина – выброс тромбоцитов в циркулирующую кровь из депо крови, что вполне допустимо. Однако в этом случае имела место положительная роль влияния по отношению к количеству кровяных пластинок.

В этот же срок, через 5 часов после кровопускания, в тромбоцитограмме отмечалось снижение процентного содержания юных форм тромбоцитов и, соответственно, увеличение процентного содержания форм раздражения. Со стороны старых и зрелых форм кровяных пластинок в этот срок в целом достоверные изменения не наблюдались. Следовательно, в этот отрезок времени был зарегистрирован определенный правый сдвиг тромбоцитограммы.

Изменение тромбоцитограммы со сдвигом вправо, с определенной вероятностью, можно объяснить выбросом депонированной крови в сосудистое русло, где преобладает доля старых и форм раздражения тромбоцитов.

По истечении 1 суток после кровопускания картина со стороны тромбоцитов, по сравнению с исходной, претерпела более выраженные изменения (табл.). Относительное количество тромбоцитов в единице объема крови снизилось еще в большей степени. Параллельно происходило снижение процентного содержания юных и зрелых форм и, соответственно, отмечалось повышение относительного числа старых форм и форм раздражения в тромбоцитограмме. Таким образом, в этот срок моделирования кровопотери

наряду с дальнейшим падением относительного числа тромбоцитов в циркулирующей крови наблюдался более выраженный сдвиг вправо тромбоцитограммы.

Как известно, через 1-2 суток после кровопотери наступает вторая фаза - гидремическая, когда для поддержания объема циркулирующей крови, необходимой для недопущения остановки сердечного выброса, происходит пополнение ОЦК за счет тканевой жидкости [3, с. 116-120]. В этих условиях разжижения крови и снижения показателя гематокрита в пользу плазмы, естественно, происходит снижение не только абсолютного, но и относительного количества тромбоцитов. Наблюдаемый определенный сдвиг вправо тромбоцитограммы через 1 сутки после кровопотери, вероятно, связан не адекватным уровнем процесса пролиферации и дифференциации в мегакариоцитарно-тромбоцитарной системе.

После интервала времени, соответствующего 5 суткам после кровопускания, наблюдался определенный сдвиг как со стороны количества тромбоцитов, так и тромбоцитограммы (табл.). Так, изменение количества тромбоцитов по сравнению с предыдущим сроком, то есть через 24 часа после кровопускания, заключалось в некотором повышении данного показателя. Причиной этого сдвига, очевидно, является усиление мегакариоцитарно-тромбоцитарного генеза в красном костном мозге вследствие повышения концентрации в крови тромбопоэтина по механизму «обратной связи». Однако, несмотря на некоторое оживление данного процесса, количество тромбоцитов после 5 суток кровопотери оставалось ниже исходного уровня, что указывало на недостаточный уровень компенсаторного процесса в условиях острой постгеморрагической анемии.

Сдвиги со стороны тромбоцитограммы через 5 суток после кровопотери в целом подтверждали оживление пролиферации и дифференциации мегакариоцитарно-тромбоцитарного звена гемопоэза. В этот срок значительно повышалось процентное содержание юных форм и снижалось процентное содержание старых форм тромбоцитов. В результате эти изменения привели к сдвигу «влево» индекса тромбоцитограммы (табл.).

По истечении 10 суток после кровопускания количественные параметры кровяных пластинок приблизились к исходному уровню до начала эксперимента. Количество тромбоцитов в единице объема циркулирующей крови в этот срок исследования находилось в пределах исходного уровня (табл.). Среднее значение индекса тромбоцитограммы в данный срок, то есть через 10 суток после кровопотери, также максимально приблизилось к исходному перед кровопусканием состоянию. Среднее процентное содержание юных форм вернулось в исходное состояние, относительное число зрелых и старых форм снизилось, и, соответственно, увеличилось процентное содержание форм раздражения.

Наблюдаемые в этот срок после кровопотери количественные показатели кровяных пластинок отражают состояние мегакариоцитарно-тромбоцитарного звена гемопоэза, которое

характеризуется стабилизацией компенсаторно-адаптивного процесса в ответ на постгеморрагическую гиповолемию. Однако в это время в динамике постгеморрагического состояния сохраняются признаки последствий в виде еще сохранения повышенного процентного содержания форм раздражения, указывающие на достаточно высокий уровень резистентности системы гемостаза в ответ на стресс-воздействие.

Таким образом, в динамике изменений со стороны кровяных пластинок вследствие кровопотери наблюдалось волнообразное течение. Уже через 5 часов, а затем и через 24 часа падало не только количество, но и процесс регенерации тромбоцитов. Однако на 5-е сутки было выявлено оживление процессов пролиферации и дифференциации кровяных пластинок. А на 10-е сутки после кровопотери показатели тромбоцитов достигли близкое к исходному состоянию. Наблюдаемые сдвиги при сопоставлении с предыдущим уровнем имели достоверный характер.

Известно, что мегакариоцитарно-тромбоцитарное звено в системе гемостаза играет важную роль не только в процессе свертывания крови, но и во многом определяет состояние микроциркуляции путем участия в установлении параметров реологического состояния крови, а также влияния на состояние так называемого ответа острой фазы [5]. Ситуационные проявления сдвигов тромбоцитов распространяются как на тромботическое, так и атромботическое состояние, в зависимости от физиологических процессов. Изменения в организме при моделировании кровопотери носят комплексный характер. Тромбоцитарный фактор III запускает каскад реакции свертывания крови, арахидоновой кислоты с усилением активности медиаторов тромбоксана A<sub>2</sub>, тромбоциклина, а также тромбоцитарного фактора IV с антигепариновым эффектом. Поэтому количественные и качественные изменения тромбоцитов вполне определенно отражали реакцию организма на стрессовое воздействие в виде кровопотери. Динамика сдвигов содержания количества тромбоцитов, а также характер тромбоцитограммы находились в зависимости от общего адаптационного синдрома и указывали на конкретное состояние организма в динамике острой постгеморрагической анемии с четырьмя фазами: коллапса (сосудисто-рефлекторной), гидремической, костномозговой и восстановительной. Также следует подчеркнуть, что на примере острой постгеморрагической анемии раскрываются механизмы специфической и неспецифической реакции, а также срочной и долговременной адаптации в форме проявлений стресса и общего адаптационного синдрома. Если повреждение сосудов и кровопотерю расценивать в качестве стадии тревоги на стресс-воздействие, то формирование сосудисто-тромбоцитарной гемостатической пробки представляет собой последующую стадию – резистентности. Гемическая форма гипоксии, синдром гипоксемии одновременно инициировали неспецифическую адаптивную реакцию с вовлечением ряда энергообеспечивающих систем

организма. Формирование коагуляционного (вторичного) гемостаза на субэндотелий является стадией срочной адаптации, восстановление ОЦК – стадией долговременной адаптации. Последующие физиологические процессы представляют собой «структурный адаптивный след», по терминологии Ф.З. Меерсона. В то же время коагуляционный гемостаз, по терминологии Г. Селье, можно рассматривать как «местный адаптационный синдром». Если состояние кровопотери осложнилось бы полиорганной недостаточностью, то оно расценивалось бы как переход «эустресса в дистресс», то есть в стадию истощения [3, с. 198-199].

### **Заключение**

В результате моделирования постгеморрагической анемии нами был установлен ряд существенных сдвигов со стороны состояния кровяных пластинок. Выявленные изменения по-разному характеризовали тромбоциты в зависимости от сроков постгеморрагического периода. Оценка полученных данных проводилась в соответствии с общепринятыми в литературе стадиями после кровопотери.

1. Так, после процедуры кровопускания через 5 часов было установлено достоверное снижение количества тромбоцитов, что, очевидно, связано не только со снижением объёма циркулирующей крови, но также и с усилением «потребления», то есть использования, в процессе формирования гемостатической пробки. В тромбоцитограмме отмечалось снижение процентного содержания юных форм тромбоцитов и, соответственно, увеличение процентного содержания форм раздражения. Со стороны старых и зрелых форм кровяных пластинок в этот срок в целом достоверные изменения не наблюдались.

2. По истечении 1 суток после кровопускания картина со стороны тромбоцитов, по сравнению с исходной, претерпела более выраженные изменения. Относительное количество тромбоцитов в единице объёма крови снизилось еще в большей степени. Параллельно происходило снижение процентного содержания юных и зрелых форм, и, соответственно, отмечалось повышение относительного числа старых форм и форм раздражения в тромбоцитограмме.

3. После 5 суток после кровопотери изменение количества тромбоцитов по сравнению с предыдущим сроком, то есть через 24 часа после кровопускания, заключалось в некотором повышении данного показателя. В этот срок значительно повышалось процентное содержание юных форм и снижалось процентное содержание старых форм тромбоцитов. В результате эти изменения привели к сдвигу «влево» индекса тромбоцитограммы.

4. Через 10 суток после кровопускания количество тромбоцитов находилось в пределах исходного уровня. Среднее значение индекса тромбоцитограммы также максимально приблизилось к исходному состоянию. Среднее процентное содержание юных форм

вернулось в исходные параметры, относительное число зрелых и старых форм снизилось, и, соответственно, увеличилось процентное содержание форм раздражения.

### Список литературы

1. Состояние клеточного гемостаза при действии острой барокамерной гипоксии. Еникеев Д.А., Хисамов Э.Н., Еникеев О.А., Срубиллин Д.В., Шакиров А.Р. // Современные проблемы науки и образования. 2019. № 4. [Электронный ресурс]. URL: <http://www.science-education.ru/article/view?id=29028> (дата обращения: 29.05.2022).
2. Мусинов И.М, Ганин А.С, Оноприенко С.С. Состояние системы гемостаза при острой массивной кровопотере // Военно-медицинский журнал. 2017. Т. 338. № 7. С. 25-30.
3. Новицкий В.В., Гольдберг Е.Д., Уразова О.И. Патологическая физиология: учебник: в 2 т. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012. Т. 1. 840 с.
4. Зверев А.А., Зефилов Т.Л. Статистические методы в биологии: учебно-методическое пособие. Казань: КФУ, 2013. 42 с.
5. Марковчин А.А. Физиологические особенности тромбоцитов // Современные проблемы науки и образования. 2014. № 6. [Электронный ресурс]. URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=16888> (дата обращения: 01.06.2022).