

Н.А. Лычева^{1,2}, И.И. Шахматов^{1,2}, В.М. Вдовин^{1,2}, В.И. Киселёв^{1,2}

Устранение активирующего влияния психоэмоционального стресса на гемостаз действием мягкой гипотермии

¹ Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования

«Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России, 656038, г.Барнаул, пр. Ленина, 40

² Федеральное государственное бюджетное учреждение «НИИ физиологии и фундаментальной медицины» СО РАМН, 656031, г.Барнаул, ул. Папанинцев, 126

Изучено состояние системы гемостаза при психоэмоциональном и гипотермическом воздействии на крыс. Показано, что психоэмоциональное воздействие сопровождается гиперкоагуляцией. «Чистый» эффект гипотермии характеризуется гипокоагуляцией и активацией фибринолиза. Таким образом, в работе показано, что более выраженное влияние на систему гемостаза оказывает общее переохлаждение в водной среде, чем психоэмоциональное воздействие.

Ключевые слова: психоэмоциональный стресс, гипотермия, гемостаз

N.A. Lycheva^{1,2}, I.I. Shahmatov^{1,2}, V.M. Vdovin^{1,2}, V.I. Kiselev^{1,2}

Elimination of the activating influence of emotional stress on hemostasis mild hypothermia action

¹ Altai State Medical University

² Institute of Physiology and Fundamental Medicine RAMS

The state of the hemostatic system in the psycho-emotional and hypothermia in rats. It is shown that the psycho-emotional impact is accompanied by a hypercoagulable. «Clean» effect of hypothermia is characterized by the activation of anticoagulation and fibrinolysis. Thus, we have shown that the general hypothermia in the aquatic environment has a more pronounced effect on the hemostatic system than the psycho-emotional impact.

Key words: psycho-emotional stress, hypothermia, hemostasis

Гипотермия оказывает генерализованное воздействие на организм, являясь не только естественным фактором внешней среды, но и искусственно создаваемой средой, используемой в практической медицине. При этом гипотермия, обладая выраженными нейропротективными свойствами, используется как тренирующий фактор [4], а также является обязательным условием при проведении операций на открытом сердце [8], важным компонентом комплексной терапии неотложных состояний [10, 11].

Однако при чрезмерно длительном или интенсивном воздействии на организм гипотермия способна вызывать различные нарушения метаболизма и повреждение внутренних органов. Развитие полиорганной недостаточности, наблюдаемое при гипотермии, связывают, прежде всего, с нарушением микроциркуляции [7]. Основной системой, обеспечивающей адекватное реологическое состояние крови, является система гемостаза. В то же время, имеющиеся в литературе данные не позволяют составить целостного представления о зависимости между степе-

нью и режимом гипотермического воздействия и выраженностью и направленностью ответных реакций организма.

Цель работы — исследование реакции системы гемостаза в условиях мягкой гипотермии [1].

Методика

Исследования выполнены на 50 лабораторных крысах линии Wistar. Однократная иммерсионная гипотермия моделировалась путем помещения животных, находящихся в индивидуальных клетках, в емкости с водой на глубину 4,5 см при температуре воды 5°C, воздуха 7°C [6]. Животные находились в камере до достижения ректальной температуры 32—35°C. Время экспозиции было индивидуальным и в среднем составляло 20±8 мин. В качестве контрольных выступали животные, помещаемые в индивидуальных клетках в воду температурой 30°C на время, соответствовавшее времени нахождения опытной группы. Для получения референсных значений системы гемостаза была исследована кровь 30 интактных животных.

Забор крови у животных обеих групп осуществлялся сразу после извлечения из воды. 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).

На протяжении недельной адаптации к условиям вивария все крысы находились в стандартных условиях содержания, предусмотренных требованиями Всемирного общества защиты животных (WSPA) и Европейской конвенции по защите экспериментальных животных.

У всех животных исследовались показатели тромбоцитарного и коагуляционного гемостаза, а также антикоагулянтная и фибринолитическая активность плазмы [3] с помощью наборов фирмы «Технология-Стандарт» (Россия). Анализ показателей периферической крови производился при помощи гематологического анализатора «Drew-3» (США).

Сравнение полученных результатов осуществляли путем вычисления средних значений и ошибки среднего. Статистический анализ выполнен с использованием непараметрических методов (U-критерий Манна—Уитни) на персональном компьютере с использованием па-

Таблица

Коагулограмма крыс после воздействия однократной мягкой гипотермии ($M \pm m$)

Показатели	Интактные животные (1), n = 30	Контроль (2), n = 12	Опыт (3), n = 12	p
Количество лейкоцитов, $10^9/л$	$4,2 \pm 0,3$	$3,3 \pm 0,2$	$4,0 \pm 0,4$	$p_{1-3} > 0,05$ $p_{1-2} > 0,05$ $p_{2-3} < 0,05$
Количество эритроцитов, $10^{12}/л$	$4,5 \pm 0,3$	$6,45 \pm 0,09$	$6,1 \pm 0,07$	$p_{1-3} > 0,05$ $p_{1-2} < 0,05$ $p_{2-3} < 0,05$
Гематокрит, %	$23,6 \pm 1,3$	$31,3 \pm 0,3$	$29,8 \pm 0,4$	$p_{1-3} > 0,05$ $p_{1-2} < 0,05$ $p_{2-3} > 0,05$
Количество тромбоцитов, $10^9/л$	$379,8 \pm 32,3$	$522,6 \pm 16,6$	$553,7 \pm 16,3$	$p_{1-3} < 0,05$ $p_{1-2} < 0,05$ $p_{2-3} < 0,05$
Агрегация, %	$28,6 \pm 2,3$	$11,4 \pm 3,3$	$4,8 \pm 1,1$	$p_{1-3} < 0,05$ $p_{1-2} < 0,05$ $p_{2-3} < 0,05$
Силиконовое время, с	$272,1 \pm 20,1$	$113,7 \pm 15,6$	$218,3 \pm 8,9$	$p_{1-3} > 0,05$ $p_{1-2} < 0,05$ $p_{2-3} < 0,05$
Активированное частичное тромбопластиновое время, с	$17,2 \pm 0,4$	$13,9 \pm 1,0$	$22,5 \pm 2,0$	$p_{1-3} < 0,05$ $p_{1-2} < 0,05$ $p_{2-3} < 0,05$
Протромбиновое время, с	$22,3 \pm 0,9$	$22,6 \pm 0,5$	$32,8 \pm 2,8$	$p_{1-3} < 0,05$ $p_{1-2} > 0,05$ $p_{2-3} < 0,05$
Эхитоксовое время, с	$23,7 \pm 1,3$	$24,3 \pm 0,5$	$36,1 \pm 1,1$	$p_{1-3} < 0,05$ $p_{1-2} > 0,05$ $p_{2-3} < 0,05$
Растворимые фибриномономерные комплексы, мг/100 мл	$3,3 \pm 0$	$3,0 \pm 0$	$3,0 \pm 0$	$p_{1-3} > 0,05$ $p_{1-2} > 0,05$ $p_{2-3} > 0,05$
Фибриноген, г/л	$1,8 \pm 0,1$	$2,1 \pm 0,1$	$2,1 \pm 0,1$	$p_{1-3} > 0,05$ $p_{1-2} > 0,05$ $p_{2-3} > 0,05$
Антитромбин III, %	$96,1 \pm 3,7$	$113,7 \pm 2,1$	$81,2 \pm 4,5$	$p_{1-3} > 0,05$ $p_{1-2} > 0,05$ $p_{2-3} < 0,05$
Эуглобулиновый фибринолиз, мин	$498,4 \pm 34,8$	$487,0 \pm 37,9$	$228 \pm 20,4$	$p_{1-3} < 0,001$ $p_{1-2} > 0,05$ $p_{2-3} < 0,001$

Примечание. n — число наблюдений; p — уровень статистической значимости различий сравниваемых показателей. Для определения статистической значимости различий в группах применялся непараметрический U-критерий Манна—Уитни.

кета прикладных статистических программ Statistica 6.0 (StatSoft, США). Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез в данном исследовании принимали равным 0,05.

Результаты и обсуждение

В таблице приведены данные показателей гемостаза и периферической крови интактной, контрольной и опытной групп животных.

При сравнении интактной и контрольной групп оценивалось влияние эмоционального стресса, возникающего у животных при помещении их в несвойственные им условия среды. Помещение животных в теплую воду сопровождалось повышением количества эритроцитов на 43% ($p < 0,05$) и увеличением гематокритного показателя на 32% ($p < 0,05$). При оценке состояния сосудисто-тромбоцитарного гемостаза выявлено увеличение числа кровяных пластинок на 37% и снижение их агрегационной способности на 60% ($p < 0,05$). Кроме того, психоэмоциональный стресс сопровождался развитием гиперкоагуляционного сдвига, выражающегося укорочением силиконового времени и активированного парциального тромбопластинового времени свертывания на 60% и 20% соответственно ($p < 0,05$). Наблюдаемые нами изменения в системе гемостаза согласуются с данными литературы, в которых описывается активирующее влияние острого психоэмоционального стресса на коагуляционную систему [9].

Изолированное влияние гипотермии было показано при сравнении результатов, полученных у контрольной и опытной групп животных, подвергавшихся иммерсионному погружению при различных температурных режимах.

«Чистый эффект» гипотермии со стороны периферической крови проявлялся в снижении количества эритроцитов на 6% ($p < 0,05$). Кроме того, наблюдалось содружественное увеличение количества лимфоцитов и тромбоцитов на 21% и 5% соответственно ($p < 0,05$). Агрегационная способность тромбоцитов при данной степени гипотермии снижалась в 2 раза ($p < 0,05$).

Со стороны плазменного гемостаза наблюдалась гипокоагуляция на всех этапах свертывания крови. Угнетение контактной фазы характеризовалось удлинением силиконового времени свертывания на 91% ($p < 0,05$). Гипокоагуляционный сдвиг по внешнему и внутреннему пути характеризовался удлинением протромбинового и активированного парциального тромбопластинового времени свертывания на 45% и 61% соответственно ($p < 0,05$). Эхитоксовое время, характеризующее конечный этап свертывания, удлинялось на 48% ($p < 0,05$).

Уровень антитромбина III, характеризующий состояние антикоагулянтной системы, в ходе опытного воздействия снижался на 30% ($p < 0,05$). При этом активность фибринолитической системы возрасла на 64% ($p < 0,001$).

Выявленные нами изменения, зарегистрированные в условиях мягкой гипотермии в периферической крови, находят подтверждение в литературных источниках. Так, по данным многих авторов, снижение количества эритроцитов под действием охлаждения наблюдается вследствие развития гемолитических процессов, так как гипотермия приводит к снижению осмотической резистентности красных кровяных телец [2]. Тенденция к содружественному увеличению количества лимфоцитов и тромбоцитов объясняется целесообразностью такого реагирования иммунокомпетентных клеток и кровяных пластинок для улучшения адгезии последних и улучшения миграционной способности лейкоцитов [5].

Развитие гипокоагуляционных сдвигов при действии гипотермии объясняется повышением активности ингибиторов сериновых протеаз [2]. Ранее также показано активирующее влияние гипотермии на фибринолитическую систему за счет увеличения активности плазминогена [12].

Сочетанное влияние психоэмоционального напряжения и гипотермии оценивалось при сравнении результатов, полученных у интактных и опытных животных. Комплексное воздействие стрессирующих факторов сопровождалось существенными изменениями в изучаемых системах. Так, оценка состояния сосудисто-тромбоцитарного гемостаза показала, что совокупность исследуемых воздействий вызывала увеличение числа кровяных пластинок на 45% ($p < 0,05$) и снижение их агрегационных свойств в 6 раз ($p < 0,05$).

При оценке плазменного гемостаза выявлялся гипокоагуляционный сдвиг как в состоянии внутреннего, так и внешнего путей свертывания. Так активированное парциальное тромбопластиновое время удлинялось на 14% ($p < 0,05$), а протромбиновое время — на 47% ($p < 0,05$). При сравнении показателей, отражающих конечный этап свертывания, регистрировалось смещение гемостатического потенциала плазмы в сторону гипокоагуляции (по данным теста эхитоксового времени свертывания, удлинявшегося на 52% ($p < 0,05$)).

Противосвертывающая система при данном режиме гипотермии не изменяла своей активности. При этом активность фибринолитической системы, оцениваемая по времени спонтанного лизиса эуглобулинов, увеличивалась вдвое ($p < 0,001$).

Таким образом, анализируя данные, полученные в ходе экспериментов, можно отметить, что смещение гемостатического потенциала в сторону гиперкоагуляции, вызванное психоэмоциональным напряжением, нивелируется гипотермическим воздействием. Так, при последовательном рассмотрении влияния гипотермии и психоэмоционального стресса на гемостаз были выявлены разнонаправленные изменения. Количество эритроцитов под действием психоэмоционального стресса возрасло, а при действии гипотермии снижалось. Вслед-

ствии этого сравнение данных, полученных у интактной и опытной групп животных, не сопровождалось достоверными различиями по этому показателю. Подобные разнонаправленные изменения наблюдались и при оценке показателя, характеризующего стадию контактной активации. В то же время под действием стрессирующих факторов наблюдаются и однонаправленные изменения в изучаемой системе. Так, агрегационная способность тромбоцитов снижалась по сравнению с интактной как в группе, подвергавшейся психоэмоциональному, так и термическому стрессу.

Таким образом, результаты экспериментов показали, что общее переохлаждение в водной среде оказывает более выраженное влияние на систему гемостаза, чем психоэмоциональное воздействие. Гипокоагуляция, регистрируемая при общем переохлаждении организма, обусловленная угнетением ферментативной активности компонентов плазменного гемостаза, проявляется даже на фоне активирующего влияния на гемостаз катехоламинов, выбрасываемых при психоэмоциональном стрессе.

Кроме того, в нашем исследовании подтверждено активирующее влияние гипотермии на фибринолитическую систему. Таким образом, суммарное изменение компонентов в системе гемостаза, характеризующееся снижением коагуляционной и повышением фибринолитической активности, снижающее (в совокупности) тромбогенный потенциал стрессированных животных, является важной особенностью системы гемостаза, выявленной в ходе описанных экспериментов, что необходимо учитывать при воздействии острой общей гипотермии на организм.

Список литературы

1. *Алябьев Ф.В., Парфирьева А.М., Чесалов Н.П., Шамарин Ю.А.* и др. Функционально-морфологические изменения сердца при гипотермии. — Сибирский медицинский журнал. — 2008. — №1. — С. 68-71.

2. *Гусакова Е.А., Городецкая И.А.* Стресс и протеолитические ферменты лизосом. — Вестник ВГМУ. — 2012. — Т. 11, №4. — С. 15 — 25.

3. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза / Баркаган З.С., Момот А.П. — М.: Ньюдиамед-АО, 2008. — 292 с.

4. *Дикий Б.В.* Перспективы использования закаливания природно-климатическими факторами в целях реабилитации соматических заболеваний // Физическое воспитание студентов. — 2009. — №3. — С. 12-15.

5. *Михайлюченко М.И., Шаповалов К.Г., Витковский Ю.А.* Лимфоцитарно-тромбоцитарные взаимодействия у больных с холодовой травмой. — Забайкальский вестник. — 2006. — №2. — С. 19-21.

6. *Северина Т.Г., Кубарко А.П.* Влияние острой иммерсионной гипотермии на температуру тела и активность лизосомальных ферментов печени устойчивых и неустойчивых к холоду крыс. — Медицинский журнал — 2009. — №2. — С. 112-115.

7. *Степанян Ю.С.* К вопросу о микрогемодиализации в железах внутренней секреции при гипотермии. — Проблемы экспертизы в медицине. — 2009. — Т. 09, №34. — С. 25-27.

8. *Цветовская Г.А., Караськов А.М., Князькова Л.Г.* Стратегия биохимической адаптации при кардиохирургических вмешательствах. — Патология кровообращения и кардиохирургия. — 1998. — №1. — С. 45-46.

9. *Шахматов И.И.* Влияние однократной иммобилизации различной интенсивности на реакции системы гемостаза. — Бюллетень СО РАМН. — 2011. — Т. 31, №4. — С. 33-36.

10. *Шевелев О.А., Бутров А.В., Каленова И.Е.* Терапевтическая гипотермия — метод нейропротекции при ишемическом инсульте. — Российский Медицинский Журнал. Хирургия. — 2012. — №18. — С. 893 — 895.

11. *Шевелев О.А., Бутров А.В.* Технология лечебной гипотермии в интенсивной терапии и реаниматологии. — Неотложная медицина. — 2010. — №3. — С. 12-15.

12. *Staikou C., Paraskeva A., Drakos E., Anastassopoulou I., Papaioannou E., Donta I., Kontos M.* Impact of graded hypothermia on coagulation and fibrinolysis. — Journal of surgical research. — 2011. — №1. — P. 125-130.

Поступила 20.11.13

Сведения об авторах:

Лычёва Наталья Александровна, преподаватель кафедры нормальной физиологии ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России, младший научный сотрудник ФГБУ «НИИ физиологии и фундаментальной медицины» СО РАМН

Шахматов Игорь Ильич, д.м.н., профессор кафедры нормальной физиологии, ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России, старший научный сотрудник ФГБУ «НИИ физиологии и фундаментальной медицины» СО РАМН

Вдовин Вячеслав Михайлович, к.м.н., доцент кафедры нормальной физиологии, ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России старший научный сотрудник ФГБУ «НИИ физиологии и фундаментальной медицины» СО РАМН

Киселев Валерий Иванович, д.м.н., проф., член-корр. РАМН, заведующий кафедрой нормальной физиологии ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России; зав. лабораторией ФГБУ «НИИ физиологии и фундаментальной медицины» СО РАМН