

# Експериментальні дослідження

УДК 616.15:616-001]-019

*В.П.Пішак, А.О.Коган*

## ПОРУШЕННЯ РЕГУЛЯЦІЇ АГРЕГАТНОГО СТАНУ КРОВІ В ГОСТРОМУ ПЕРІОДІ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ПОЛІТРАВМИ

Буковинська державна медична академія

**Резюме.** У досліджах на 52 самцях білих щурів встановлено, що в гострому періоді (24 год) експериментальної політравми хронометрична гіперкоагуляція пов'язана з активацією як зовнішнього, так і внутрішнього механізмів утворення протромбінази при значному скороченні тривалості фібриногенезу. Пригнічення протизгортальної активності крові, збільшення функціональної активності тромбоцитів і концентрації в крові фібриногену при активації систем плазмового фібринолізу поєднується з адекватним підвищенням активності антиплазмінів, що супроводжується появою в крові розчинних комплексів мономерного фібрину, а в сечі - продуктів розпаду фібрину і фібриногену. У тканинах головного мозку, серця, легень, печінки і нирок спостерігаються односпрямовані зміни фібринолізу, які характеризуються підвищенням сумарної фібринолітичної активності за рахунок збільшення інтенсивності як ферментативного, так і неферментативного фібринолізу. Водночас у легеневій, печінковій і нирковій тканинах відбувається переважно збільшення високоефективного ензиматичного лізису фібрину. У даний період політравми суттєво зростає уроекізна активність сечі.

**Ключові слова:** травма, гемостаз, тромбоцити, фібриноліз, антитромбін III.

**Вступ.** Система крові при політравмі різко змінює свій коагуляційний потенціал, що створює передумови для розвитку поліорганної недостатності й нерідко є причиною смерті постраждалого [7]. Механізми порушення взаємодії між факторами первинного коагуляційного гемостазу, протизгортальної системи крові й фібринолізу при політравмі остаточно не з'ясовані, що стримує розробку нових способів запобігання розвитку поліорганної недостатності. Залишаються не з'ясованими гемокоагуляційні зміни на рівні мікроциркуляторних одиниць нервової тканини, серця, легень, печінки, нирок та інших органів. Порушення мікроциркуляції крові призводять до збільшення інтенсивності згортання крові на тлі зниження її фібринолітичного потенціалу [8]. Пригнічення тканинного фібринолізу також здатне значно погіршити перебіг післятравматичного періоду [3].

**Мета дослідження.** Вивчити механізми порушення взаємодії систем первинного і вторинного гемостазу, протизгортальної системи, плазмового і тканинного фібринолізу в гострому періоді експериментальної стандартизованої політравми.

**Матеріал і методи.** У роботі використано 52 статевозрілих самців білих щурів. При моделюванні стандартизованої політравми, котра включала перелом малої гомілкової кістки, проникне лапаротомне поранення черевної порожнини, травму м'яких тканин гомілки, і нефректомію. В асептичних умовах під нембуталовим наркозом (40 мг/кг маси тіла) проводили серединну лапаротомію, перев'язували судини селезінки шовком і видаляли її. Перелом малої гомілкової кістки проводили після її оголення через шкірний розріз. Кістку пересікали ножицями в асептичних умовах. Нефректомію виконували через позаочеревинний доступ, наднирник відокремлювали від лівої нирки, що видалялася, судини ниркової ніжки перев'язували в асептичних умовах. Після завершення операції тваринам внутрішньом'язово вводили розчин анальгін з розрахунку 1 мг/кг маси тіла кожні 4 год для запобігання розвитку больового шоку. Контрольні тварини отримували анальгін за такою самою схемою. Післяопераційний період характеризувався досить високою смертністю експериментальних тварин: впродовж першої доби після завершення операції загинуло 10 із 25 оперованих щурів.

Для адекватного порівняння параметрів системи регуляції агрегатного стану крові використовували дві контрольні групи щурів. Тварини першої контрольної групи (15 щурів) інтактні, тварини другої контрольної групи (12 щурів) отримували нембуталовий наркоз одночасно з піддослідними щурами, а після виходу з наркозу

їм також вводили анальгін. Евтаназію щурів проводили через 24 год після операції під легкою ефірною анестезією. Для дослідження показників гемостазу і фібринолізу кров збирали з черевної аорти сіліконовим шприцом, під нембуталовим наркозом (40 мг/кг маси тіла), стабілізували 3,8%-ним розчином цитрату натрію, центрифугували і відокремлювали плазму від формених елементів. Стан тромбоцитарно-судинного гемостазу оцінювали за відсотком адгезивних тромбоцитів [9] та індексом спонтанної агрегації тромбоцитів [12]. Загальний коагуляційний потенціал крові, потенційну активність плазміногена, активність антиплазмінів, концентрацію фібриногену в плазмі крові, активність антитромбіну III, концентрацію розчинних комплексів фібрин-мономера і вміст продуктів деградації фібрин/фібриногену та урокіназну активність сечі визначали за допомогою стандартних наборів реактивів фірми "Simko Ltd" (Україна).

Відразу після евтаназії щурів наважки внутрішніх органів (головного мозку, серця, легень, печінки і нирок) заморожували в рідкому азоті для подальших біохімічних досліджень. Тканини гомогенізували в 2,0 мл боратного буфера (pH 9.0). Визначення сумарного, ферментативного і неферментативного фібринолізу в плазмі крові і тканинах внутрішніх органів проводили за лізисом азофібрину ("Simko Ltd", Україна). При інкубації азофібрину зі стандартною кількістю плазміногена в присутності активаторів та інгібіторів фібринолізу, які містяться в плазмі крові або в тканинах, утворюється плазмін, а інтенсивність фібринолізу оцінюється за ступенем забарвлення розчину в лужному середовищі в присутності  $\epsilon$ -амінокапронової кислоти (неферментативний фібриноліз) або без неї (сумарна фібринолітична активність). Різниця між даними показниками відповідає інтенсивності ферментативного фібринолізу [10].

Результати дослідження опрацьовували методами варіаційного статистичного аналізу з визначенням критерію Стьюдента (t) за програмою "BioStat" на PC PENTIUM II [4].

**Результати дослідження та їх обговорення.** Результати дослідження коагуляційного потенціалу крові наведені в таблиці 1. Жодна пара з досліджуваних показників у контрольних групах щурів вірогідно між собою не відрізнялася. Навпаки, параметри гемокоагуляції у контрольних тварин обох груп максимально наближались один до одного ( $p > 0,4-0,9$ ), тому описання відсоткових змін наведено за співвідношенням показників піддослідних щурів і тварин 2-ї контрольної групи. Через 24 год після моделювання політравми час рекальцифікації плазми крові скорочувався на 34,2%, активований парціальний тромбопластиновий час - на 27,6%, протромбіновий час - на 29,7%, тромбіновий час - на 40,8%. Отже, у гострому періоді політравми у тварин спостерігається хронометрична гіперкоагуляція, причому активуються процеси як зовнішнього, так і внутрішнього механізмів утворення протромбінового комплексу, про що свідчить скорочення часу утворення фібринового згортка як після додавання тканинного тромбопластину, так і після рекальцифікації плазми крові. Крім того, активацію внутрішнього механізму згортання крові підтверджує зменшення активованого часткового тромбопластинового часу. Кінцеві етапи згортання крові також були активовані - скорочення тромбінового часу майже вдвічі вказує на значну інтенсифікацію фібриногенезу. Водночас у тварин з політравмою знижувалася активність антитромбіну III на 25,1%, що є свідченням пригнічення всієї протизгортальної активності крові, оскільки остання на 95% складається з антитромбіну III, тоді як кофактор II гепарину синтезується і переходить в активний стан паралельно антитромбіну III [2]. Суттєве підвищення прокоагуляційного потенціалу плазмових факторів згортання крові супроводжувалось активацією тромбоцитарно-судинного гемостазу, що характеризувалось збільшенням адгезивності тромбоцитів на 16,2% при зростанні індексу їх спонтанної агрегації майже в 5 разів. Загальну картину підвищеної готовності крові до тромбоутворення доповнювало збільшення плазмової концентрації фібриногену на 30%.

Таким чином, через 24 год після моделювання політравми розвивається як хронометрична, так і структурна гіперкоагуляція (за показниками функціональної активності тромбоцитів). Підвищення коагуляційного потенціалу крові відбувається на тлі зниження її протизгортальної активності, збільшення функціональної активності тромбоцитів і концентрації в крові фібриногену, що створює реальну загрозу як для макро-, так і мікротромбоутворення.

На такому фоні у тварин із політравмою спостерігалось (табл. 2) підвищення сумарної фібринолітичної активності плазми крові на 50,2%, що було пов'язано як з активацією неферментативного фібринолізу (на 41,7%), так і з підвищенням інтенсивності ензиматичного лізису фібрину (на 49,1%). Крім того, при стабільній

Таблиця 1

**Характеристика коагуляційного потенціалу крові через 24 год після моделювання політравми ( $\bar{x} \pm Sx$ )**

Показники, що вивчалися	1-ша контрольна група, n=15	2-га контрольна група, n=12	Політравма, n=15
Час рекальцифікації, с	73,63±3,24	77,66±3,62 $p_1 > 0,4$	51,08±2,58 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
Активований частковий тромбопластиновий час, с	40,14±2,51	40,12±3,24 $p_1 > 0,9$	29,04±1,48 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,01$
Протромбіновий час, с	23,00±1,44	22,27±1,64 $p_1 > 0,8$	15,65±0,77 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
Тромбіновий час, с	13,26±0,65	13,65±0,70 $p_1 > 0,6$	8,08±0,58 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
Активність антитромбіну III, %	94,63±3,13	97,44±3,12 $p_1 > 0,5$	72,37±3,87 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
Відсоток адгезивних тромбоцитів, %	40,49±2,08	40,07±2,80 $p_1 > 0,9$	56,23±2,65 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
Індекс спонтанної агрегації тромбоцитів, %	1,42±0,13	1,27±0,13 $p_1 > 0,4$	6,10±0,63 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
Концентрація в крові фібриногену, г/л	3,85±0,15	3,82±0,06 $p_1 > 0,8$	4,98±0,18 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$

**Примітки:**  $p_1$  – ступінь вірогідності різниць показників відносно таких у тварин 1-ї контрольної групи;  
 $p_2$  – ступінь вірогідності різниць показників відносно таких у тварин 2-ї контрольної групи;  
 n – число спостережень.

потенціальній активності плазміногена зростала активність Хагеман-залежного фібринолізу. Відповідно підвищенню фібринолітичної активності крові збільшувалась активність антиплазмінів, головним чином їх швидкодіючої фракції. Як результат підвищення прокоагуляційного потенціалу крові й активації систем плазмового фібринолізу зростала концентрація в крові розчинних комплексів фібрин-мономера, а в сечі з'являлися продукти деградації фібрин/фібриногену. Отже, через 24 год після моделювання політравми активація систем плазмового фібринолізу супроводжується підвищенням активності швидкодіючих антиплазмінів при появі в крові розчинних комплексів мономерного фібрину, а в сечі - продуктів розпаду фібрину і фібриногену.

Зміни тканинного фібринолізу в даний період політравми характеризувалися (табл. 3) підвищенням сумарної фібринолітичної активності тканини головного мозку на 21,0%. При цьому збільшення неферментативного фібринолізу становило 34,5%, ферментативної фібринолітичної активності - 20,7% від контрольного рівня. Загальна фібринолітична активність тканини серця у шурів з політравмою підвищувалася на 49,7% при збільшенні інтенсивності ензиматичного і неензиматичного лізису фібрину на 33,3 і 63,3% відповідно. Сумарна інтенсивність фібринолізу в тканині легень зростала на 61,4%, причому переважно підвищувалася ферментативна фібринолітична активність - у 2,1 раза, тоді як неферментативний лізис фібрину збільшувався лише на 12,1%. Сумарна фібринолітична активність у тканині печінки зростала і перевищувала контроль на 67,3%. Інтенсивність неензиматичного лізису фібрину в печінковій тканині становила 23,5%, ферментативного фібринолізу - 210%. Найбільшою мірою сумарна фібринолітична активність у

Таблиця 2

Характеристика фібринолітичного потенціалу крові через 24 год після моделювання політравми ( $\bar{x} \pm S_x$ )

Показники, що вивчалися	1-ша контрольна група, n=15	2-га контрольна група, n=12	Політравма, n=15
Сумарна фібринолітична активність плазми, мкмоль азофібрину/ мл/1 год	6,38±0,34	6,95±0,42 $p_1 > 0,2$	10,44±0,30 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
Неферментативна фібринолітична активність плазми, мкмоль азофібрину/ мл/1 год	0,62±0,06	0,60±0,06 $p_1 > 0,8$	0,85±0,05 $p_1 < 0,01$ $p_2 < 0,01$
Ферментативна фібринолітична активність плазми, мкмоль азофібрину/ мл/1 год	5,77±0,34	6,43±0,42 $p_1 > 0,2$	9,59±0,29 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
Хагеман-залежний фібриноліз, хв	13,89±0,70	13,76±0,86 $p_1 > 0,9$	7,59±0,42 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
Потенційна активність плазміногена, хв	15,41±0,85	15,23±0,80 $p_1 > 0,8$	15,30±0,60 $p_1 > 0,9$ $p_2 > 0,9$
Загальна активність антиплазмінів, %	84,88±2,88	84,63±2,61 $p_1 > 0,9$	135,00±5,07 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
Активність швидкодіючих антиплазмінів, %	80,55±2,57	81,00±2,44 $p_1 > 0,9$	97,32±2,18 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
Активність повільнодіючих антиплазмінів, %	78,73±2,73	74,79±2,62 $p_1 > 0,3$	80,96±2,02 $p_1 > 0,5$ $p_2 > 0,06$
Концентрація розчинних комплексів фібрин-мономерів в плазмі крові, мкг/л	не визначається	не визначається	3,91±0,43
Концентрація продуктів деградації фібрин/фібриногену в сечі, мкг/мл	не визначається	не визначається	6,47±0,47

**Примітки:**  $p_1$  – ступінь вірогідності різниць показників відносно таких у тварин 1-ї контрольної групи;  
 $p_2$  – ступінь вірогідності різниць показників відносно таких у тварин 2-ї контрольної групи;  
n – число спостережень.

тварин з політравмою зростала в кортикальній тканині нирок - на 84,8% від контрольного рівня. При цьому неферментативний фібриноліз збільшився на 3%, а інтенсивність ензиматичного лізису фібрину у 2,4 раза. Крім того на 36,9% зросла урокіназна активність сечі.

Таким чином, у гострому післятравматичному періоді хронометрична гіперкоагуляція, збільшення функціональної активності тромбоцитів і вмісту в крові фібриногену поєднуються зі зниженням активності антитромбіну III при адекватному зростанні інтенсивності плазмового і тканинного фібринолізу. Проте поява розчинних комплексів фібрин-мономерів в крові і продуктів деградації фібрин/фібриногену в сечі свідчить про те, що через 24 год після моделювання політравми в експериментальних тварин розпочинаються процеси внутрішньосудинної гемокоагуляції [1, 8]. Варто звернути увагу на те, що в гострий період політравми інкреторна діяльність нирок ще не страждає, оскільки урокіназна активність сечі значно збільшується [5,6].

Таблиця 3

Характеристика тканинної фібринолітичної активності й урокіназної активності сечі через 24 год після моделювання політравми ( $\bar{x} \pm S_x$ )

Фібринолітична активність (мкг азофібрину/1 г за 1 год) тканини:	1-ша контрольна група, n=15	2-га контрольна група, n=12	Політравма, n=15
<u>голового мозку</u>			
- сумарна	59,41±2,42	64,32±2,09 $p_1 > 0,1$	77,84±2,08 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
- неферментативна	1,25±0,14	1,39±0,13 $p_1 > 0,4$	1,87±0,11 $p_1 < 0,01$ $p_2 < 0,01$
- ферментативна	58,16±2,50	62,93±2,12 $p_1 > 0,1$	75,98±2,12 $p_1 < 0,001$ ; $p_2 < 0,001$
<u>серця</u>			
- сумарна	10,74±0,60	10,30±0,58 $p_1 > 0,6$	15,42±0,64 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
- неферментативна	4,96±0,26	4,63±0,25 $p_1 > 0,3$	6,17±0,34 $p_1 < 0,01$ $p_2 < 0,01$
- ферментативна	5,51±0,25	5,67±0,35 $p_1 > 0,7$	9,25±0,35 $p_1 < 0,001$ ; $p_2 < 0,001$
<u>легень</u>			
- сумарна	11,73±0,20	11,67±0,31 $p_1 > 0,8$	18,83±0,53 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
- неферментативна	5,55±0,15	5,72±0,27 $p_1 > 0,5$	6,41±0,18 $p_1 < 0,01$ $p_2 < 0,05$
- ферментативна	6,18±0,17	5,95±0,13 $p_1 > 0,3$	12,41±0,47 $p_1 < 0,001$ ; $p_2 < 0,001$
<u>печінки</u>			
- сумарна	15,62±0,46	15,76±0,69 $p_1 > 0,8$	26,37±0,91 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
- неферментативна	6,83±0,27	7,42±0,34 $p_1 > 0,1$	9,16±0,47 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,01$
- ферментативна	8,79±0,23	8,34±0,37 $p_1 > 0,2$	17,21±0,53 $p_1 < 0,001$ ; $p_2 < 0,001$
<u>кортикальної тканини нирок</u>			
- сумарна	10,68±0,27	10,72±0,38 $p_1 > 0,9$	САРu!?, 81±0,61 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
- неферментативна	4,66±0,17	4,77±0,21 $p_1 > 0,6$	5,69±0,13 $p_1 < 0,01$ $p_2 < 0,01$
- ферментативна	6,02±0,17	5,95±0,20 $p_1 > 0,7$	14,12±0,57 $p_1 < 0,001$ ; $p_2 < 0,001$
Урокіназна активність сечі, од.	44,05±1,55	44,18±2,01 $p_1 > 0,9$	60,50±2,52 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$

Примітки:  $p_1$  – ступінь вірогідності різниць показників відносно таких у тварин 1-ї контрольної групи;  $p_2$  – ступінь вірогідності різниць показників відносно таких у тварин 2-ї контрольної групи; n – число спостережень.

### Висновки.

1. Для гострого періоду (24 год) політравми характерною є хронометрична гіперкоагуляція з активацією як зовнішнього, так і внутрішнього механізмів утворення протромбінази при значному скороченні тривалості фібриногенезу.

2. Через 24 год після моделювання політравми відбувається пригнічення протизгортальної активності крові, збільшення функціональної активності тромбоцитів і концентрації в крові фібриногену за активації систем плазмового фібринолізу з адекватним підвищенням активності антиплазмінів, що супроводжується появою в крові розчинних комплексів мономерного фібрину, а в сечі - продуктів розпаду фібрину і фібриногену.

### Перспективи подальших досліджень.

У гострому періоді політравми в тканинах головного мозку, серця, легень, печінки і нирок спостерігаються односпрямовані зміни фібринолізу, що характеризуються підвищенням сумарної фібринолітичної активності за рахунок збільшення інтенсивності як ферментативного, так і неферментативного фібринолізу. Водночас у легеневій, печінковій і нирковій тканинах відбувається переважно збільшення високоефективного ензиматичного лізису фібрину. Тому, у подальшому планується розробити заходи щодо нормалізації агрегатного стану крові.

**Література.** 1. Бокарев И.Н. ДВС-синдром, современные представления // Клини. мед. - 1992. - Т. 70, № 2. - С.109-113. 2. Бокарев И.Н., Щепотин Б.М., Ена Я.М. Внутрисосудистое свертывание крови. - К.: Здоровья, 1989. - 298 с. 3. Братчик А.М. Клинические проблемы фибринолиза. - К.: Здоровья, 1993. - 433 с. 4. Гланц С. Медико-биологическая статистика. - М.: Практика, 1999. - 459 с. 5. Драник Г.П., Ена Я.М., Варейская Т.В. Продукты расщепления фибрина/фибриногена при патологических процессах. - К.: Здоровья, 1987. - 184 с. 6. Жила В.В., Куцириук В.И. Местный фибринолиз почек. - К.: Наукова думка, 1986. - 168 с. 7. Котельников Г.П., Конюровцев В.А., Чеснокова И.Г. Травматическая болезнь: клинико-патогенетическое, диагностическое и прогностическое значение изменений в системе гемостаза // Клини. мед. - 1998. - № 1. - С.31-34. 8. Крашутский В.В. ДВС-синдром в клинической медицине // Клини. мед. - 1998. - № 3. - С.8-14. 9. Мищенко В.П., Крахмаль Н.В., Набутый Ю.А. Простой метод определения адгезивно-агрегационных свойств тромбоцитов // Физиол. ж. - 1980. - Т.26, № 2. - С.282-283. 10. Пат. № 30727А "Способ назначения тканевой фибринолитической активности" Пат. МПК G 1 01 № 22.48 / Боднар Б.М., Кухарчук О.Л., Магалия В.М., Пенішкевич Я.І., Пішак О.В., Роговий Ю.Є., Сливка В.І., Шаповалов В.П. від 17.05.2000. 11. Стручко Г.Ю. Изменения пейромедваторной системы тимуса у крыс после спленэктомии // Морфология. - 1998. - Т.113, № 1. - С.105-108. 12. Taccola A., Gotti G.B., Baruffini A., Cipolli P.L. Su un metodo di determinazione quantitativa della aggregabilita plastrinica spontanea // Rass. Med. Spet. - 1980. - V.27, №12. - P.795-804.

## DISTURBANCES OF THE REGULATION OF THE AGGREGATE BLOOD STATE AT AN ACUTE STAGE OF POLYTRAUMA

*Pishak V.P., Kogan A.A.*

**Abstract.** In experiments on 52 male albino rats it has been established that during the acute period (24 hours) of an experimental polytrauma chronometric hypercoagulation is connected with a considerable reduction of the duration of fibrinogenesis. An inhibition of the anticoagulative blood activity, an increase of the functional activity of thrombocytes and the fibrinogen blood concentration with an activation of the systems of plasma fibrinolysis are associated with an adequate elevation of the activity of antiplasmins. It is accompanied by the appearance of soluble complexes of monomer fibrin in the blood and decay products of fibrin and fibrinogen in the urine. Unidirectional changes of fibrinolysis characterized by an elevation of the total fibrinolytic activity at the expense of enzymatic fibrinolysis are observed in the tissues of the brain, heart, lungs, liver and kidneys. A primary augmentation of highly effective enzymatic fibrin lysis occurs in the pulmonary, hepatic and renal tissues at the same time. The urokinase urinary activity is considerably increased during the acute stage of polytrauma.

**Key words:** trauma, hemostasis, thrombocytes, fibrinolysis, antithrombin-III.

Bukovinian State Medical Academy

*Buk. Med. Herald.*-2004.-Vol.8, №1.-P.15-18.

Надійшла до редакції 13.02.2004 року