



УДК 616-001:616.15]-092.4

А. О. Коган, В. П. Пішак

## МЕХАНІЗМИ ПОРУШЕННЯ РЕГУЛЯЦІЇ АГРЕГАТНОГО СТАНУ КРОВІ У РАНЬОМУ ПЕРІОДІ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ПОЛІТРАВМИ

Буковинська державна медична академія

Практично всі потерпілі з політравмою мають серйозні ускладнення, зумовлені порушеннями регуляції агрегатного стану крові, які суттєво впливають на перебіг післятравматичного періоду. При недостатній діагностиці та неефективній профілактиці дані порушення гемостазу можуть значно впливати на тяжкість клінічного стану хворого, аж до необхідності переведення потерпілого в реанімаційне відділення [11; 12]. Політравма зазвичай потребує масивних вливань крові та кровозамінних препаратів. Водночас доведено, що переливання крові впродовж короткого періоду часу в кількості, що перевищує 40–50 % ОЦК, здатне підсилити розлади у системі гемостазу [4; 14]. На фоні гіпокоагуляційних зрушень внаслідок дефіциту факторів згортання й активації фібринолізу швидко розвиваються повторні кровотечі, що значно ускладнює перебіг післятравматичного періоду [5]. Механізми стрімкого розвитку хронометричної і структурної гіпокоагуляції у гострому періоді політравми остаточно не з'ясовані [2].

Мета цієї роботи — з'ясувати механізми порушення взаємодії систем первинного і вторинного гемостазу, протизгортальної системи, а також плазмового і тканинного фібринолізу в ранньому періоді експериментальної стандартизованої політравми.

### Матеріали та методи дослідження

У дослідженні використано 49 статевозрілих самців білих щурів. При моделюванні стандартизованої політравми (перелом малої гомілкової кістки, проникне лапаротомне поранення черевної порожнини, травма м'яких тканин гомілки і спленектомія) останню виконували за Г. Ю. Стручко [13]. В асептичних умовах під нембуталовим наркозом (40 мг/кг маси тіла) виконували серединну лапаротомію, перев'язували судини селезінки шовком і видаляли її. Перелом малої гомілкової кістки здійснювали після її оголення через шкірний розріз, відсовуючи м'язи тупим способом. Кістку перетинали ножицями в асептичних умовах. Нефректомію виконували через позаочеревинний доступ, відокремлювали надниркову залозу від лівої нирки, що видалялася. Судини ниркової ніжки перев'язували в асептичних умовах. Після завершення операції тваринам внутрішньом'язово вводили розчин анальгину із розрахунку 1 мг/кг маси тіла кожні 4 год для попередження больового шоку. Контрольні тварини отримували анальгін за такою самою схемою.

Для порівняння параметрів системи регуляції агрегатного стану крові використовували дві контрольні групи щурів.

Тварини першої групи (15 інтактних щурів) і тварини другої контрольної групи (12 щурів) отримували нембуталовий наркоз одночасно з піддослідними щурами, а після виходу з наркозу їм також вводили анальгін. Евтаназію щурів здійснювали через 24 год після операції під легкою ефірною анестезією. Для стабілізації крові використовували 3,8%-й розчин цитрату натрію. Для дослідження показників гемостазу і фібринолізу кров брали з черевної аорти силіконовим шприцом, під нембуталовим наркозом (40 мг/кг маси тіла), стабілізували 3,8%-м розчином цитрату натрію, центрифугували і відокремлювали плазму від формених елементів.

Стан тромбоцитарно-судинного гемостазу оцінювали за відсотком адгезивних тромбоцитів [7] та індексом спонтанної агрегації тромбоцитів [15]. Загальний коагуляційний потенціал крові (хронометричні тести гемокоагуляції), потенційну активність плазміногену, активність антиплазмінів, концентрацію фібриногену в плазмі крові, активність антитромбіну III, концентрацію розчинних комплексів фібриномономера і вміст продуктів деградації фібрин/фібриногену, а також урокіназну активність сечі визначали за допомогою стандартних наборів реактивів фірми "Simko Ltd" (Україна).



Таблиця 1

**Характеристика коагуляційного потенціалу крові через 72 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=12
Час рекальцифікації, с	73,63±3,24	77,66±3,62 $P_1 > 0,4$	93,47±2,95 $P_1 < 0,001$ $P_2 < 0,01$
Активованний частковий тромбопластиновий час, с	40,14±2,51	40,12±3,24 $P_1 > 0,9$	47,38±2,55 $P_1 > 0,5$ $P_2 > 0,09$
Протромбіновий час, с	23,00±1,44	22,27±1,64 $P_1 > 0,8$	29,25±1,70 $P_1 < 0,01$ $P_2 < 0,01$
Тромбіновий час, с	13,26±0,65	13,65±0,70 $P_1 > 0,6$	17,55±1,26 $P_1 < 0,01$ $P_2 < 0,02$
Активність антитромбіну III, %	94,63±3,13	97,44±3,12 $P_1 > 0,5$	60,40±2,13 $P_1 < 0,001$ $P_2 < 0,001$
Відсоток адгезивних тромбоцитів, %	40,49±2,08	40,07±2,80 $P_1 > 0,9$	80,40±2,13 $P_1 < 0,001$ $P_2 < 0,001$
Індекс спонтанної агрегації тромбоцитів, %	1,42±0,13	1,27±0,13 $P_1 > 0,4$	13,88±0,80 $P_1 < 0,001$ $P_2 < 0,001$
Концентрація в крові фібриногену, г/л	3,85±0,15	3,82±0,06 $P_1 > 0,8$	3,67±0,08 $P_1 > 0,3$ $P_2 > 0,1$

*Примітка.* У табл. 1–3:  $P_1$  — ступінь вірогідності відмінностей показників відносно таких у тварин 1-ї контрольної групи;  $P_2$  — ступінь вірогідності відмінностей показників відносно таких у тварин 2-ї контрольної групи; n — кількість спостережень.

Відразу після евтаназії щурів наважки внутрішніх органів (головного мозку, серця, легень, печінки і нирок) заморожували в рідкому азоті для подальших біохімічних досліджень. Наважки тканин 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 плазміногену 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 [8]. Результати дослідження опрацьовували методами варіаційного статистичного аналізу з визначенням критерію Стьюдента за програмою "BioStat" [3].

#### Результати дослідження та їх обговорення

У тварин з політравмою через 72 год після операції зміни коагуляційного потенціалу крові характеризувалися (табл. 1) подовженням часу рекальцифікації на 20,4 %, однак активований частковий тромбопластиновий час, який точніше

відповідає стану внутрішнього механізму утворення протромбінового комплексу, вірогідно від контрольних показників не відрізнявся. Протромбіновий час у щурів з політравмою на 31,3 % перевищував контрольні величини, а час утворення фібринового згортка після додавання до плазми тромбіну зростав на 28,6 %. Активність антитромбіну III у післятравматичному періоді зменшувалася на 37,0 %, що супроводжувалося різким підвищенням функціональної активності тромбоцитів: відсоток адгезивних тромбоцитів зростав удвічі, а індекс їх спонтанної агрегації збільшувався майже в 11 разів. Вірогідних змін з боку концентрації фібриногену в плазмі крові через 24 год після моделювання політравми не відмічалось.

Зміни в системі плазмового фібринолізу характеризувалися (табл. 2) зниженням сумарної фібринолітичної активності на 49,8 %, причому неферментативний фібриноліз зростав на 43,3 %, а ферментативна фібринолітична активність, навпаки, зменшувалася на 59,1 %. Інтенсивність Хагеман-залежного фібринолізу також різко (в 1,9 разу) знижувалася. Крім того, у тварин з політравмою відмічалось гальмування потенціальної активності плазміногену на 67,0 %. Пригнічення фібринолітичної активності плазми крові відбувалося на фоні неадекватного підвищення активності антиплазмінів, причому як швидкодіючої (на 40,5 %), так і повільнодіючої (на 68,8 %) їх фракцій. У крові тварин виявляли високі концентрації розчинних комплексів фібрин-мономера, що супроводжувалося появою в сечі продуктів деградації фібрин/фібриногену.

Зміни тканинного фібринолізу характеризувалися (табл. 3) зниженням сумарної фібринолітичної активності в головному мозку на 48,0 %. Причому неферментативний фібрино-



Характеристика фібринолітичного потенціалу крові через 72 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=12
Сумарна фібринолітична активність плазми, мкмоль азофібрину/(мл·год)	6,38±0,34	6,95±0,42 P <sub>1</sub> >0,2	3,49±0,22 P <sub>1</sub> <0,001 P <sub>2</sub> <0,001
Неферментативна фібринолітична активність плазми, мкмоль азофібрину/(мл·год)	0,62±0,06	0,60±0,06 P <sub>1</sub> >0,8	0,86±0,03 P <sub>1</sub> <0,01 P <sub>2</sub> <0,001
Ферментативна фібринолітична активність плазми, мкмоль азофібрину/(мл·год)	5,77±0,34	6,43±0,42 P <sub>1</sub> >0,2	2,63±0,22 P <sub>1</sub> <0,001 P <sub>2</sub> <0,001
Хагеман-залежний фібриноліз, хв	13,89±0,70	13,76±0,86 P <sub>1</sub> >0,9	26,36±1,99 P <sub>1</sub> <0,001 P <sub>2</sub> <0,001
Потенційна активність плазміногену, хв	15,41±0,85	15,23±0,80 P <sub>1</sub> >0,8	25,44±2,40 P <sub>1</sub> <0,001 P <sub>2</sub> <0,001
Загальна активність антиплазмінів, %	84,88±2,88	84,63±2,61 P <sub>1</sub> >0,9	150,90±3,67 P <sub>1</sub> <0,001 P <sub>2</sub> <0,001
Активність швидкодіючих антиплазмінів, %	80,55±2,57	81,00±2,44 P <sub>1</sub> >0,9	121,50±5,33 P <sub>1</sub> <0,001 P <sub>2</sub> <0,001
Активність повільнодіючих антиплазмінів, %	78,73±2,73	74,79±2,62 P <sub>1</sub> >0,3	143,60±4,13 P <sub>1</sub> <0,001 P <sub>2</sub> <0,001
Концентрація розчинних комплексів фібринмономера в плазмі крові, мкг/л	не визначається	не визначається	9,97±0,67
Концентрація продуктів деградації фібрин/фібриногену в сечі, мкг/мл	не визначається	не визначається	1,49±0,13

ліз зростав на 41,0%, а інтенсивність ензиматичного лізису фібрину зменшувалася майже вдвічі. Сумарна фібринолітична активність серцевої тканини у щурів з політравмою відповідала контрольним показникам, однак при цьому спостерігалось підвищення неферментативної фібринолітичної активності на 31,5 % при зменшенні інтенсивності ферментативного фібринолізу на 24,2 %. Подібні зміни тканинного фібринолізу відмічалися у легенях: при відповідності сумарної фібринолітичної активності контрольним величинам неензиматичний лізис фібрину перевищував контроль на 39,0 %, а інтенсивність ферментативного фібринолізу, навпаки, була на 44,9 % нижчою, ніж у тварин контрольної групи. Сумарна фібринолітична активність печінкової тканини також не відрізнялася від контрольних показників при різноспрямованих зрушеннях неферментативного і ферментативного фібринолізу: якщо перший підвищувався на 41,8 %, то другий, навпаки, знижувався на 30,3 %. У кортикальній тканині нирок у щурів з політравмою знижувалася сумарна фібринолітична активність на 38,8 % винятково за рахунок різкого пригнічення ферментативного фібринолізу, без змін інтенсивності неензиматичного лізису фібрину. Крім того, у тварин з політравмою відмічали значне — в 3,2 рази зменшення урокіназної активності сечі.

Таким чином, через 72 год після моделювання політравми зміни тканинного фібринолізу в експериментальних тварин характеризуються підвищенням неферментативної і зниженням ферментативної фібринолітичної активності у тканинах головного мозку, серця, легень, печінки і нирок, що супроводжується зменшенням урокіназної активності сечі. Якщо в тканинах серця, легень і печінки сумарна фібри-

нолітична активність не змінювалася, то в головному мозку і кортикальній тканині нирок відбувалося зниження загальної інтенсивності тканинного фібринолізу.

Зрушення у системах згортання, протизгортання і фібринолізу при політравмі пов'язані з травматизацією великих ділянок судинної сітки, внаслідок чого тромбоутворення відбувається як поза-, так і внутрішньосудинно. Висока інтенсивність тромбіногенезу призводить до швидкого виснаження плазмових факторів коагуляційного гемостазу. Одно-

час активуються процеси ферментативного розпаду фібрину і фібриногену з утворенням продуктів, які, в свою чергу, підсилюють фібриноліз [5; 9]. Оскільки фактори згортання швидко виснажуються в умовах надмірної активації фібринолізу, при політравмі розвивається гіпокоагуляційна стадія синдрому дисемінованого внутрішньосудинного згортання крові [1; 10].

Результати нашого дослідження свідчать про поєднання хронометричної гіпокоагуляції з підвищенням функціональної активності тромбоцитів, пер-



Таблиця 3

**Характеристика тканинної фібринолітичної активності  
й урокіназної активності сечі через 72 год  
після моделювання політравми,  $x \pm Sx$**

Фібринолітична активність тканин, мкг/(г·год)	1-ша контрольна група, n=15	2-га контрольна група, n=12	Політравма, n=12
<i>Головний мозок</i>			
сумарна	59,41±2,42	64,32±2,09 P <sub>1</sub> >0,1	33,44±2,22 P <sub>1</sub> <0,001 P <sub>2</sub> <0,001
неферментативна	1,25±0,14	1,39±0,13 P <sub>1</sub> >0,4	1,96±0,09 P <sub>1</sub> <0,001 P <sub>2</sub> <0,01
ферментативна	58,16±2,50	62,93±2,12 P <sub>1</sub> >0,1	31,48±2,19 P <sub>1</sub> <0,001 P <sub>2</sub> <0,001
<i>Серце</i>			
сумарна	10,74±0,60	10,30±0,58 P <sub>1</sub> >0,6	10,39±0,57 P <sub>1</sub> >0,6 P <sub>2</sub> >0,9
неферментативна	4,96±0,26	4,63±0,25 P <sub>1</sub> >0,3	6,09±0,40 P <sub>1</sub> <0,05 P <sub>2</sub> <0,01
ферментативна	5,51±0,25	5,67±0,35 P <sub>1</sub> >0,7	4,30±0,41 P <sub>1</sub> <0,02 P <sub>2</sub> <0,02
<i>Легені</i>			
сумарна	11,73±0,20	11,67±0,31 P <sub>1</sub> >0,8	11,23±0,61 P <sub>1</sub> >0,4 P <sub>2</sub> >0,5
неферментативна	5,55±0,15	5,72±0,27 P <sub>1</sub> >0,5	7,95±0,74 P <sub>1</sub> <0,01 P <sub>2</sub> <0,02
ферментативна	6,18±0,17	5,95±0,13 P <sub>1</sub> >0,3	3,28±0,18 P <sub>1</sub> <0,001 P <sub>2</sub> <0,001
<i>Печінка</i>			
сумарна	15,62±0,46	15,76±0,69 P <sub>1</sub> >0,8	16,33±0,85 P <sub>1</sub> >0,4 P <sub>2</sub> >0,6
неферментативна	6,83±0,27	7,42±0,34 P <sub>1</sub> >0,1	10,52±0,90 P <sub>1</sub> <0,001 P <sub>2</sub> <0,01
ферментативна	8,79±0,23	8,34±0,37 P <sub>1</sub> >0,2	5,81±0,54 P <sub>1</sub> <0,001 P <sub>2</sub> <0,001
<i>Кортикальна тканина нирок</i>			
сумарна	10,68±0,27	10,72±0,38 P <sub>1</sub> >0,9	6,56±0,28 P <sub>1</sub> <0,001 P <sub>2</sub> <0,001
неферментативна	4,66±0,17	4,77±0,21 P <sub>1</sub> >0,6	4,27±0,18 P <sub>1</sub> >0,1 P <sub>2</sub> >0,08
ферментативна	6,02±0,17	5,95±0,20 P <sub>1</sub> >0,7	2,29±0,22 P <sub>1</sub> <0,001 P <sub>2</sub> <0,001
Урокіназна активність сечі, од.	44,05±1,55	44,18±2,01 P <sub>1</sub> >0,9	13,76±0,98 P <sub>1</sub> <0,001 P <sub>2</sub> <0,001

манентним зниженням активності антитромбіну III і вмісту в крові фібриногену, що узгоджується з даними літератури [1; 5; 9]. Про розвиток через 72 год після травматизації тварин внутрішньосудинного згортання крові свідчить різке пригнічення ферментативного фібринолізу в плазмі крові, зменшення Хагеман-залежного лізису фібрину і потенціальної активності плазміногену на фоні підвищення вмісту в крові розчинних комплексів фібрин-мономера [1; 6]. Крім того, внутрішньосудинна гемокоагуляція вже через 72 год після моделювання політравми поєднується з глибоким пригніченням ензиматичного лізису фібрину в тканинах життєво важливих органів — головного мозку, серця, легень, печінки і нирок, що супроводжується зменшенням урокіназної активності сечі. Вважаємо, що в умовах генералізованої внутрішньосудинної гемокоагуляції особливого значення набуває стан тканинного ферментативного фібринолізу, достатньо висока інтенсивність якого здатна забезпечити прохідність мікроциркуляторного русла життєво важливих органів. Однак розвиток внутрішньосудинної гемокоагуляції поєднується з глибоким пригніченням ензиматичного лізису фібрину у тканинах головного мозку, серця, легень, печінки і нирок, що супроводжується значним зниженням урокіназної активності сечі. Такі порушення в системі регуляції агрегатного стану крові і тканинного фібринолізу суттєво погіршують перебіг післяопераційного періоду: через 72 год після моделювання політравми з 34 прооперованих щурів вижило лише 12, тобто смертність становила 64,7 %.

#### Висновки

1. У ранньому періоді експериментальної політравми хронометрична гіпокоагуляція більш виражена з боку зовніш-





нього механізму згортання крові, що поєднується з уповільненням процесів фібриногенезу. Зниження протизгортального потенціалу крові відбувається в умовах різкої активації тромбоцитарної ланки первинного гемостазу.

2. Глибока депресія плазматичного ферментативного фібринолізу, різке зниження інтенсивності Хагеман-залежного фібринолізу і зменшення потенціальної активності плазміногену відбуваються на фоні неадекватної активації антиплазмінів, накопичення в крові розчинних комплексів фібрин-мономера при появі в сечі продуктів деградації фібрин/фібриногену.

3. Через 72 год після моделювання політравми зміни тканинного фібринолізу в експериментальних тварин характеризуються підвищенням неферментативної і зниженням ферментативної фібринолітичної активності у тканинах головного мозку, серця, легень, печінки і нирок, що супроводжується зменшенням урокіназної активності сечі.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Братчик А. М. Клинические проблемы фибринолиза. — К.: Здоров'я, 1993. — 433 с.
2. Воробьев А. И. Острая кровопотеря и переливание крови // Анестезиология и реаниматология (Прил.). Альтернативы переливания крови в хирургии: Матер. симпозиума. — М.: Медицина, 1999. — С. 18-26.
3. Гланц С. Медико-биологическая статистика. — М.: Практика, 1999. — 459 с.
4. Деденко И. К., Стариков А. В., Торбин В. Ф. Аутоотрансфузии крови и ее компонентов. — К.: Нора-принт, 1997. — 336 с.
5. Калинин О. Г., Курапов Е. П., Калинин А. О. Инфузионно-трансфузионная терапия (ИТТ) у пострадавших с множественными сочетанными повреждениями таза // Ортопедия, травматология и протезирование. — 2003. — № 1. — С. 10-15.
6. Крашутский В. В. ДВС-синдром в клинической медицине // Клини. медицина. — 1998. — № 3. — С. 8-14.
7. Мищенко В. П., Крохмаль Н. В., Надутый К. А. Простой метод определения адгезивно-агрегационных свойств тромбоцитов // Физиол. журнал. — 1980. — Т. 26, № 2. — С. 282-283.
8. Пат. № 30727А «Способ выявления тканинной фибринолитической активности» Пат. МПК G J 01 № 22.48 / Б. М. Боднар, О. Л. Кухарчук, В. М. Магальяс, Я. І. Пенішкевич, О. В. Пішак,

Ю. Є. Роговий, В. І. Сливка, В. П. Шаповалов від 17.05.2000.

9. Рынченко В. Г., Завеля М. И., Рынченко С. В. Принципы лечения переломов таза у пострадавших с множественными и сочетанными повреждениями // Праці XIII з'їзду ортопедів-травматологів України. — Донецьк, 2001. — С. 33-34.

10. Савушкин А. В. Свертывание протекающей крови и плазмы // Гематол. и трансфузиология. — 1999. — Т. 44, № 5. — С. 31-34.

11. Соколов В. А. Профилактика и лечение осложненной политравмы в постреанимационном периоде // Вестн. травматологии и ортопедии им. Н. И. Пирогова. — 2002. — № 1. — С. 78-84.

12. Современная профилактика и лечение тромботических осложнений у больных с политравмой в постреанимационном периоде / В. А. Соколов, Е. И. Бялик, П. П. Голиков и др. // Вестн. травматологии и ортопедии им. Н. И. Пирогова. — 2001. — № 1. — С. 55-59.

13. Стручко Г. Ю. Изменения нейромедиаторной системы тимуса у крыс после спленэктомии // Морфология. — 1998. — Т. 113, № 1. — С.105-108.

14. Усенко Л. В., Шифрин Г. А. Интенсивная терапия при кровопотере. — К.: Здоров'я, 1990. — 224 с.

15. Su un metodo di determinazione quantitativa della aggregabilità plastrinica spontanea / A. Taccola, G. B. Gotti, A. Baruffini, P. L. Cipolli // Rass. Med. Sper. — 1980. — Vol. 27, N 12. — P. 795-804.

