

Непреднамеренная гипотермия как фактор нарушения работы микроциркуляторного русла

Наталья Александровна Лычева*, Антон Вячеславович Седов,
Дарья Александровна Макушкина, Игорь Ильич Шахматов,
Вячеслав Михайлович Вдовин

Алтайский государственный медицинский университет, г. Барнаул, Россия

Реферат

Цель. Изучить динамику показателей микроциркуляторного русла при однократном охлаждении до умеренной степени гипотермии у крыс, как сразу после прекращения охлаждения, так и в различные периоды постгипотермии.

Методы. Исследование выполнено на 25 крысах линии Wistar. Животные подвергались однократному иммерсионному охлаждению в воде температурой 5 °С до достижения ректальной температуры 27–30 °С. Анализ состояния микроциркуляторного русла осуществляли сразу по достижении умеренной степени гипотермии, через 2, 5, 10 и 14 дней после прекращения охлаждения. Параметры микроциркуляции оценивали с помощью лазерного анализатора капиллярного кровотока ЛАКК-02 (НПО «Лазма», Россия) при длине волны 0,63 мкм. Регистрировали основные параметры микроциркуляции, а также проводили анализ амплитудно-частотного спектра колебаний кровотока.

Результаты. Сразу по достижении умеренной степени гипотермии регистрировался вазоспазм, что подтверждалось снижением показателя перфузии и амплитуд волн всех частотных диапазонов. Через 2 дня после прекращения охлаждения показатель перфузии вернулся к исходному значению, было зарегистрировано снижение амплитуд эндотелиальных, вазомоторных и дыхательных волн при увеличении пульсовых волн. На 5-й день наблюдали увеличение перфузии в 5 раз на фоне снижения амплитуд волн всех частотных диапазонов. К 10-му дню уровень кровотока вернулся к исходным значениям, амплитуды волн всех частотных диапазонов оставались на прежнем низком уровне. На 14-й день прогрессивное снижение факторов модуляции кровотока сопровождалось снижением уровня перфузии.

Вывод. Однократное охлаждение до умеренной гипотермии приводит к прогрессивному снижению показателя перфузии тканей и глубокой депрессии активных и пассивных факторов модуляции кровотока.

Ключевые слова: гипотермия, микроциркуляция, вазоспазм, крысы.

Для цитирования: Лычева Н.А., Седов А.В., Макушкина Д.А. и др. Непреднамеренная гипотермия как фактор нарушения работы микроциркуляторного русла. *Казанский мед. ж.* 2019; 100 (2): 252–256. DOI: 10.17816/KMJ2019-252.

Accidental hypothermia as a factor of microcirculatory disorders

N.A. Lycheva, A.V. Sedov, D.A. Makushkina, I.I. Shakhmatov, V.M. Vdovin
Altai State Medical University, Barnaul, Russia

Abstract

Aim. To study the dynamics of indicators of microcirculation during a single episode of hypothermia of moderate degree in rats, both immediately after cessation of cooling, and in different periods of posthypothermia.

Methods. The study was performed on 25 Wistar rats. The animals were subjected to a single immersion cooling in water at a temperature of 5 °C until reaching a rectal temperature of 27–30 °C. Analysis of the microvasculature was carried out immediately upon reaching a moderate degree of hypothermia, 2, 5, 10 and 14 days after the cooling. The microcirculation parameters were estimated using a laser analyzer of capillary circulation LAKK-02 (SMO «Lazma», Russia) at a wavelength of 0.63 μm. The main parameters of microcirculation were recorded, and the amplitude-frequency spectrum of blood flow oscillations was analyzed.

Results. Immediately after reaching a moderate degree of hypothermia, vasospasm was recorded, which was

confirmed by a decrease in the rate of perfusion and wave amplitudes of all frequency ranges. 2 days after stopping the cooling perfusion index returned to baseline, a decrease in amplitude of endothelial, vasomotor and respiratory waves was observed with an increase in pulse waves. On day 5, perfusion increased by 5 times was observed along with decreased amplitudes of the waves of all ranges. By day 10, the level of blood flow returned to its original values, and the wave amplitudes of all frequency ranges remained at the same low level. By day 14, a progressive decrease of the factors of bloodflow modulation was associated by the decrease of perfusion.

Conclusion. Single cooling to a moderate degree of hypothermia leads to a progressive decrease of tissue perfusion and deep inhibition of active and passive factors of bloodflow modulation.

Keywords: hypothermia, microcirculation, vasospasm, rats.

For citation: Lycheva N.A., Sedov A.V., Makushkina D.A. et al. Accidental hypothermia as a factor of microcirculatory disorders. *Kazan medical journal*. 2019; 100 (2): 252–256. DOI: 10.17816/KMJ2019-252.

Гипотермия оказывает генерализованное воздействие на организм. От степени и продолжительности охлаждения зависят характер гипотермии и ответная реакция организма на протяжении всего постгипотермического периода [1]. В формировании ответной реакции на холод вовлекаются все органы и системы. При этом основные компоненты, обеспечивающие адекватность трофики тканей, — микроциркуляторное русло и система гемостаза [2, 3].

Показано, что действие гипотермии способствует развитию полиорганной недостаточности в постгипотермическом периоде [4, 5]. Прогнозирование возможных нарушений со стороны микроциркуляторного русла, развивающихся после прекращения охлаждения, позволит минимизировать последствия повреждающего действия гипотермии на организм.

Цель исследования — изучить состояние микроциркуляторного русла в различные периоды постгипотермии у крыс при достижении умеренной степени гипотермии.

В исследовании использованы 25 крыс-самцов линии Wistar с массой тела 300 ± 15 г. Животных экспериментальных групп подвергали однократному охлаждению путём помещения их в индивидуальные клетки в ёмкости с водой на глубину 4,5 см при температуре воды 5°C и воздуха 7°C . Критерием прекращения воздействия было достижение экспериментальными животными ректальной температуры $27\text{--}30^\circ\text{C}$, что соответствовало умеренной степени гипотермии. Время экспозиции составляло 13 ± 2 мин.

В дальнейшем все животные были разделены на группы. У животных первой группы анализ состояния микроциркуляторного русла осуществляли сразу по достижении умеренной степени гипотермии, во второй группе — через 48 ч после прекращения охлаждения, в третьей группе — через 5 дней, в четвёртой группе — через 10 дней, в пятой группе — через 2 нед после холодного воздействия.

Оценку состояния микроциркуляции проводили при помощи лазерного анализатора капиллярного кровотока ЛАКК-02 (НПО «Лазма», Россия), имеющего блок анализатора с лазером (длина волны $0,63$ мкм). При этом регистрировали основные параметры микроциркуляции, а также проводили анализ амплитудно-частотного спектра колебаний кровотока. В него входит оценка очень низкочастотных (эндотелиальных, VLF), низкочастотных (вазомоторных, LF), высокочастотных (дыхательных, HF) и пульсовых (кардиальных, CF) колебаний кожного кровотока. Головку оптического зонда фиксировали в основании хвоста экспериментального животного в зоне проекции хвостовой вены. Длительность регистрации показателей микроциркуляции составила 7 мин.

При адаптации к условиям вивария все крысы находились в стандартных, одинаковых условиях содержания. Использование крыс в экспериментах осуществляли в соответствии с Европейской конвенцией по охране позвоночных животных, используемых в эксперименте, и Директивами 86/609/ЕЕС [6].

Сравнение полученных результатов осуществляли путём вычисления медианы (Me) и процентилей (25-й и 75-й). Статистический анализ выполнен с использованием непараметрических методов (U-критерия Манна–Уитни) на персональном компьютере с использованием пакета статистических программ Microsoft Excel Open Office 2010, Statistica 6.0 (StatSoft, США). Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез в данном исследовании принимали равным $0,05$.

Показатели микроциркуляторного русла, зарегистрированные в указанные периоды постгипотермии у крыс, представлены в табл. 1.

При оценке состояния микроциркуляторного русла сразу по достижении умеренной гипотермии было зафиксировано снижение показателей микроциркуляции в 1,8 раза ($p < 0,01$) по сравнению с исходными значениями. Со

Таблица 1. Показатели микроциркуляторного русла у крыс в различные периоды постгипотермии

Параметр	ПМ, пф.ед.	Вазомоторные волны, пф.ед.	Эндотелиальные волны, пф.ед.	Дыхательные волны, пф.ед.	Пульсовые волны, пф.ед.
Исходно	4,65 [2,72÷6,05]	17,02 [3,71÷26,87]	17,24 [4,82÷28,94]	10,69 [1,78÷12,03]	2,62 [0,88÷3,70]
Первая группа	2,60 [1,63÷3,54]*	5,41 [2,26÷9,66]*	6,58 [2,59÷11,46]*	2,30 [1,14÷4,08]*	0,93 [0,66÷1,46]*
Вторая группа	6,59 [4,58÷9,11]	8,70 [8,65÷9,88]*	9,61 [8,81÷10,01]*	6,17 [5,64÷6,86]*	3,07 [3,02÷3,12]*
Третья группа	12,42 [10,21÷14,62]*	5,19 [4,62÷5,75]*	8,61 [6,83÷10,38]*	1,64 [1,28÷2,00]*	0,59 [0,47÷0,72]*
Четвёртая группа	5,65 [4,40÷8,35]	3,56 [3,15÷14,14]*	6,85 [4,35÷14,47]*	2,14 [1,72÷7,32]*	0,88 [0,57÷2,66]*
Пятая группа	3,33 [2,59÷4,04]*	4,04 [2,73÷7,88]*	6,56 [4,06÷9,93]*	2,99 [1,50÷4,32]*	0,65 [0,47÷1,12]*

Примечание: данные представлены в виде Me (медиана выборки) и [25÷75] (процентили выборки); *статистически значимая разница ($p < 0,05$; $p < 0,01$); ПМ — показатель микроциркуляции; пф.ед. — перфузионные единицы.

стороны активных механизмов модуляции кровотока было установлено уменьшение амплитуд эндотелиальных волн в 2,6 раза ($p < 0,01$), вазомоторных волн — в 3,2 раза ($p < 0,01$). Динамика дыхательных и пульсовых колебаний, отражающих состояние пассивных факторов модуляции кровотока, также оставалась отрицательной и демонстрировала их снижение в 4,6 раза ($p < 0,01$) и 2,8 раза ($p < 0,01$) соответственно.

По истечении 48 ч после холодового воздействия уровень перфузии возвращался к исходным значениям, зафиксированным до охлаждения. При этом происходило снижение амплитуд как вазомоторных, так и эндотелиальных волн в 2 раза ($p < 0,05$). В то же время амплитуды пульсовых волн как одного из факторов пассивной модуляции кровотока увеличились на 39% ($p < 0,05$) при снижении амплитуд дыхательных волн в 1,7 раза ($p < 0,05$) по сравнению с исходными данными.

На 5-й день после достижения животными указанной степени гипотермии было зафиксировано увеличение показателя перфузии в 2,7 раза ($p < 0,01$). При этом амплитуды волн всех частотных диапазонов снижались. Амплитуды вазомоторных и эндотелиальных волн снизились в 3,2 раза ($p < 0,01$) и 2 раза ($p < 0,05$) соответственно. В свою очередь показатели, отражающие состояние пассивных факторов модуляции кровотока, пульсовые и дыхательные волны, свидетельствовали о более выраженной тенденции к снижению амплитуд. Для кардиальных волн снижение составило 4,4 раза ($p < 0,01$). Дыхательные волны, по состоянию которых мы можем судить об объёме веноулярного звена микроциркуляторного русла, уменьшились в 6,5 раза ($p < 0,01$).

Через 10 дней после охлаждения показатель перфузии вернулся к исходным значениям. Амплитуды вазомоторных колебаний были снижены в 4,8 раза ($p < 0,01$) по сравнению с исходными значениями. Амплитуда эндо-

телиальных волн, отражающая уровень синтеза эндотелиоцитами NO, а соответственно и активности NO-синтазы, также была снижена в 2,5 раза ($p < 0,05$). Кардиальные волны наряду с дыхательными показали снижение в 3 и 5 раз ($p < 0,01$) соответственно.

Через 14 дней после воздействия умеренной степени гипотермии показатель перфузии снизился на 30% ($p < 0,05$) в сравнении с исходными значениями и статистически не отличался от показателя, зафиксированного в гипотермический период. Со стороны активных и пассивных факторов модуляции кровотока было отмечено снижение амплитуд волн всех частотных диапазонов.

Таким образом, в ходе достижения умеренной степени гипотермии у животных развивалась вазоконстрикция, что подтверждается снижением показателей микроциркуляции, а также уменьшением амплитуд волн всех частотных диапазонов.

Развитие вазоспазма обусловлено активацией симпатoadренальной системы вследствие реализации стресс-реакции организма в ответ на холодовое воздействие, в результате чего происходит централизация кровообращения с распределением крови в пользу жизненно важных органов — сердца, лёгких, мозга [7, 8]. Также развитие вазоспазма объясняется внутриклеточной патологией со стороны гладкомышечных клеток сосудов — нарушением переноса ионов Ca^{2+} и, как следствие, сбоям в нормальной работе актин-миозинового комплекса [9]. Спазм сосудов микроциркуляторного русла в свою очередь ведёт к обеднению кровотока и, как следствие, ишемии [10, 11].

В пользу этого говорит также уменьшение амплитуды колебаний эндотелиальных и дыхательных волн. Снижение амплитуд колебаний эндотелиальных волн свидетельствует о снижении активности NO-синтазы эндотелиоцитов, что отрицательно сказывается на уровне

содержания основного вазодилататора — NO [12, 13]. В свою очередь снижение колебаний дыхательных волн — признак снижения объёма крови в венолярном звене.

Последствия нарушений на уровне микроциркуляторного русла, происходящих в предыдущем периоде, сохраняются по истечении 48 ч после холодного воздействия. На данном этапе мы зафиксировали тенденцию к увеличению показателя перфузии тканей на фоне сниженного уровня колебаний вазомоторных волн, как одного из активных факторов модуляции кровотока.

Это обусловлено накоплением кислых продуктов обмена и недостаточным питанием гладкомышечных клеток стенки сосудов микроциркуляторного русла в зоне ишемии, что в итоге ведёт к нарушению нормального функционирования гладкомышечных клеток, в том числе и к дополнительному накоплению ионов Ca^{2+} , что в свою очередь вызывает разобщение окислительного фосфорилирования, усугубляет ишемию и ацидоз, а в итоге ведёт к замыканию порочного круга. Данный патологический процесс имеет название «кальциевого парадокса» [9, 14].

В этот же период возрастает влияние пассивных факторов модуляции кровотока — пульсовых волн. Таким образом организм компенсирует нарушения активных механизмов контроля кровотока в тканях [15].

На 5-й день после холодного воздействия зафиксировано увеличение перфузии более чем в 2 раза при снижении амплитуд волн всех частотных диапазонов. Со стороны активных факторов контроля микроциркуляции отмечена депрессия как вазоконстриктивных, так и вазодилатационных влияний, характеризующихся соответственно вазомоторными и эндотелиальными волнами. Мы заметили, что снижение амплитуд колебаний последних менее выражено по сравнению с колебаниями вазомоторных волн. Это позволяет говорить о преобладании вазодилатации на фоне более глубокой депрессии вазоконстриктивных влияний, что и объясняет увеличение уровня перфузии.

К 10-му дню появилась тенденция к восстановлению кровотока в тканях. При этом мы зафиксировали снижение амплитуд колебаний волн всех частотных диапазонов. Депрессия активных механизмов модуляции кровотока стала более выраженной по сравнению с предыдущим периодом.

К окончанию 2-й недели после холодного воздействия уровень перфузии в тканях снизился до показателей гипотермического периода.

Зафиксировано снижение амплитуд колебаний волн всех частотных диапазонов. При этом также отмечена их тенденция к возвращению уровня, достигнутого на момент холодного воздействия. Всё это свидетельствует о развитии вторичных нарушений на уровне микроциркуляторного русла и срыве как активных, так и пассивных механизмов контроля микроциркуляции к концу 14-го дня после холодного воздействия [16, 17].

ВЫВОДЫ

1. По истечении 2 дней после достижения умеренной степени гипотермии наиболее выраженное влияние на уровень перфузии оказывают пассивные факторы модуляции кровотока — пульсовые волны. Таким образом достигается компенсация нарушений в состоянии активных механизмов контроля микроциркуляции, включающихся в данный период постгипотермии.

2. На 10-й день после воздействия отмечена тенденция к возврату уровня перфузии к исходным значениям. При этом происходит срыв как активных, так и пассивных механизмов контроля микроциркуляции.

3. На 14-й день после прекращения охлаждения зарегистрировано прогрессивное снижение показателя перфузии тканей, сопровождающееся глубокой депрессией активных и пассивных факторов модуляции кровотока.

4. В ходе исследования установлено, что однократное охлаждение экспериментальных животных до умеренной гипотермии оказывает выраженный модулирующий эффект на функционирование микроциркуляторного русла, заключающийся в первую очередь в срыве и последующей глубокой депрессии как активных, так и пассивных факторов модуляции кровотока.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов по представленной статье.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта №16-34-60054/15 мол_а_дк.

ЛИТЕРАТУРА

1. Wu C.Y., Chan K., Cheng Y.-J. Effects of different types of fluid resuscitation for hemorrhagic shock on splanchnic organ microcirculation and renal reactive oxygen species formation. *Crit. Care.* 2015; (19): 434. DOI: 10.1186/s13054-015-1135-y.
2. Лопатина А.Б. Механизмы становления адаптации. *Международ. науч.-исслед. ж.* 2016; (6): 51–52.

- [Lopatina A.B. Mechanisms of formation of adaptation. *Mezhdunarodnyy nauchno-issledovatel'skiy zhurnal*. 2016; (6): 51–52. (In Russ.)]
3. Bisschops L.A., Hoeven J.G., Mollnes T.E. Seventy-two hours of mild hypothermia after cardiac arrest is associated with a lowered inflammatory response during re-warming in a prospective observational study. *Crit. Care*. 2014; 18 (5): 546. DOI: 10.1186/s13054-014-0546-5.
4. Коннов Д.Ю., Коннов Ю.А., Лукьянов С.А., Шаповалов К.Г. Закономерности изменений микроциркуляции при острой общей холодовой травме. *Регионарное кровообращение и микроциркуляция*. 2017; 16 (3): 26–30. [Konnov D.Yu., Konnov Yu.A., Lukyanov S.A., Shapovalov K.G. Patterns of changes in microcirculation in acute general cold injury. *Regionarnoe krovoobrashchenie i mikrotsirkulyatsiya*. 2017; 16 (3): 26–30. (In Russ.)] DOI: 10.24884/1682-6655-2017-16-3-26-30.
5. Koopmans M., Kuiper M.A., Endeman H. Microcirculatory perfusion and vascular reactivity are altered in post cardiac arrest patients, irrespective of target temperature management to 33 °C vs 36 °C. *Resuscitation*. 2015; (86): 14–18. DOI: 10.1016/j.resuscitation.2014.09.025.
6. Council Directive of 24 November 1986 on the Approximation of Laws, Regulations of the Member States Regarding the Protection of Animals Used for Experimental and Other Purposes Directive (86/609/EEC). *Official Journal of the European Communities*. L. 262; 1–29. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/ALL/?uri=CELEX%3A31986L0609> (access date: 18.10.2018).
7. Коннов Д.Ю., Малярчиков А.В., Шаповалов К.Г., Коннов В.А. Закономерности изменений параметров микроциркуляции и электрофизиологических показателей сердечного ритма при критической гипотермии. *Забайкальский мед. вестн.* 2017; (4): 17–24. [Konnov D.Yu., Malyarchikov A.V., Shapovalov K.G., Konnov V.A. Regularities of changes in microcirculation parameters and electrophysiological indicators of heart rhythm during critical hypothermia. *Zabaykalskiy meditsinskiy vestnik*. 2017; (4): 17–24. (In Russ.)]
8. Олейник Г.А. Патогизиология холодового шока. *Мед. неотлож. состояний*. 2013; (8): 16–21. [Oleynik G.A. Pathophysiology of cold shock. *Meditsina neotlozhnykh sostoyaniy*. 2013; (8): 16–21. (In Russ.)]
9. Винокуров А.А., Алабовский В.В., Хамбуров В.В., Маслов О.В. Диастолическая дисфункция как результат реверсии $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ обмена при возникновении «кальциевого парадокса» в сердечной мышце. *Науч.-мед. вестн. центрального Черноземья*. 2013; (2): 54–62. [Vinokurov A.A., Alabovskiy V.V., Khamburov V.V., Maslov O.V. Diastolic dysfunction as a result of reversal of $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ metabolism in the event of a «calcium paradox» in the heart muscle. *Nauchno-meditsinskiy vestnik tsentral'nogo Chernozem'ya*. 2013; (2): 54–62. (In Russ.)]
10. Абрамович С.Г., Машанская А.В., Дробышев В.А., Долбилкин А.Ю. Микроциркуляция у здоровых людей и больных артериальной гипертензией. *J. Siberian Med. Sci.* 2013; (2): 51–57. [Abramovich S.G., Mashanskaya A.V., Drobyshev V.A., Dolbilkin A.Yu. Microcirculation in healthy people and patients with arterial hypertension. *Journal of Siberian medical sciences*. 2013; (2): 51–57. (In Russ.)]
11. Басанцова Н.Ю., Шишкин А.Н., Тибеккина Л.М. Цереброкardiaльный синдром и его особенности у пациентов с острыми нарушениями мозгового кровообращения. *Вестн. Санкт-Петербургского ун-та*. 2017; (12); (1): 31–47. [Basantsova N.Yu., Shishkin A.N., Tibekina L.M. Cerebrocardiac syndrome and its features in patients with acute cerebral circulatory disorders. *Vestnik Sankt-Peterburgskogo universiteta*. 2017; (12); (1): 31–47. (In Russ.)]
12. Кузнецова В.Л., Соловьёва А.Г. Оксид азота: свойства, биологическая роль, механизмы действия. *Соврем. пробл. науки и образования*. 2015; (4): 462. [Kuznetsova V.L., Solov'eva A.G. Nitric oxide: properties, biological role, mechanisms of action. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*. 2015; (4): 462. (In Russ.)]
13. Винник Ю.С., Юрьева М.Ю., Теплякова О.В. и др. Значение эндотелиальной дисфункции в патогенезе локальной холодовой травмы. *Рус. мед. ж.* 2014; 22 (31): 2204–2206. [Vinnik Yu.S., Yur'eva M.Yu., Teplyakova O.V. et al. The value of endothelial dysfunction in the pathogenesis of local cold injury. *Russkiy meditsinskiy zhurnal*. 2014; 22 (31): 2204–2206. (In Russ.)]
14. Шаповалов К.Г. Роль дисфункции эндотелия в альтерации тканей при местной холодовой травме. *Тромбоз, гемостаз и реология*. 2016; (4): 26–30. [Shapovalov K.G. The role of endothelial dysfunction in the alteration of tissues with local cold injury. *Tromboz, gemostaz i reologiya*. 2016; (4): 26–30. (In Russ.)]
15. Лычева Н.А., Шахматов И.И., Блажко А.А., Седов А.В. Модулирующие эффекты умеренной гипотермии на состояние системы гемостаза и микроциркуляторного русла у крыс. *Соврем. пробл. науки и образования*. 2016; (5): 83. [Lycheva N.A., Shakhmatov I.I., Blazhko A.A., Sedov A.V. Modulating effects of moderate hypothermia on the state of the hemostatic system and microvasculature in rats. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*. 2016; (5): 83. (In Russ.)]
16. Шапкин Ю.Г., Стекольников Н.Ю., Гамзатова П.К., Однокозова Ю.С. Эндотелиальная дисфункция в отдалённом периоде холодовой травмы. *Вестн. экперим. и клин. хир.* 2014; 7 (4): 359–363. [Shapkin Yu.G., Stekol'nikov N.Yu., Gamzatova P.K., Odnokozova Yu.S. Endothelial dysfunction in the remote period of cold injury. *Vestnik eksperimental'noy i klinicheskoy khirurgii*. 2014; 7 (4): 359–363. (In Russ.)]
17. Beyer A.M., Freed J.K., Durand M.J. Critical role for telomerase in the mechanism of fow-mediated dilation in the human microcirculation. *Circ. Res.* 2016; 118 (5): 856–866. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.115.307918.