

## КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ОБЩЕЙ ХОЛОДОВОЙ ТРАВМЫ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

**Олейник Г.А.**

Харьковская медицинская академия последипломного образования

Температура тела человека является важной физиологической функцией, и поддержание её в определённом равновесии является условием нормального функционирования всех органов и систем [4,12].

Общая холодовая травма (замерзание) приводит к нарушению всех жизненно-важных процессов, специфических и неспецифических адаптационных реакций в организме, которые обеспечиваются сложным взаимодействием нервной, иммунной и эндокринной систем [6,7,3]. Остаются невыясненными температурные параметры смертельной гипотермии, обратимость нарушений, связанных с длительностью холодовой экспозиции, причины гипоксии тканей и внутренних органов при их выраженном кровенаполнении [5, 9,10,11].

### Цель работы

Изучить клинико-лабораторные особенности общей холодовой травмы (замерзания) и морфофункциональное состояние эритроцитов в различные периоды течения заболевания в эксперименте при разных температурных и временных параметрах холодового воздействия.

### Материалы и методы

Экспериментальная работа выполнена с учётом требований комиссии по вопросам этики Харьковской медицинской академии последипломного образования МОЗ Украины.

В эксперименте использовано 27 белых крыс, в возрасте до 3-х месяцев, живой вес которых составлял 300-350 грамм. Все животные были распределены на 4 группы:

1-я группа – 5 особей – контрольная группа.

2-я группа – 10 особей – животные, которые подвергались общему холодовому воздействию при температуре – 20°C на протяжении 30 минут.

3-я группа – 10 особей – животные, которые подвергались общему холодовому воздействию при температуре -20°C на протяжении 1-го часа.

4-я группа – 2 особи – животные, которые подвергались общему холодовому воздействию 1 час 30 минут.

Общую холодовую травму получали путём помещения животных, фиксированных в спе-

циальном устройстве, в морозильную камеру с температурой – 20°C. Исследования проводили с использованием внутримышечного кетаминового наркоза.

Более длительная экспозиция животного в морозильной камере при температуре – 20°C приводит к необратимым явлениям – остановке дыхания и сердечной деятельности (смертельная гипотермия).

При проведении эксперимента обращали внимание:

– на общее состояние и поведение животных.

– оценивали цвет кожных покровов конечностей, плотность мягких тканей, подвижность в суставах, объём конечностей.

– регистрировали подкожную температуру дистальных отделов конечностей, в наружном слуховом проходе, в прямой кишке (на голубине 3 см).

Все перечисленные исследования проводили перед помещением животного в морозильную камеру, затем после непосредственного извлечения животных из камеры, в последующем через 1, 3 часа, а также на 1, 3, 7, 10 и 21 сутки после холодового воздействия. Температурные значения измеряли с помощью четырёхканального электронного термометра в режиме температур от – 50°C до + 100°C. В качестве термовоспринимающего элемента использованы полупроводники. Погрешность получаемых данных в пределах 0,2 – 0,3 °C. Морфометрически изучали периферическую кровь. Исследования проведены методом световой микроскопии на микроскопе MC ANTI-MOULD (Австрия), с увеличением в 1000 раз и фотографической регистрацией формы эритроцитов. Функциональное состояние клеток крови оценивали, исследуя каплю, которую помещали между покровным и предметным стеклом, добавляя при этом 0,2 мл. физиологического раствора, что позволяло удерживать эритроциты во взвешенном состоянии, и оценивать не только их вид и форму, но и их подвижность в препарате. Мазки крови после высушивания окрашивали гематоксилином – эозином [1,2,11].

Оценку особенностей формы и поверхностной архитектоники эритроцитов проводили по классификации Bessis [13].

## Результаты и их обсуждение

Систематизируя полученные экспериментальные данные, следует отметить, что в контрольной группе животных все особи вели себя спокойно, аппетит не страдал, общее состояние удовлетворительное, кожные покровы верхних и нижних конечностей бледно-розового цвета. Температура в наружном слуховом проходе  $38,16 \pm 0,11^\circ\text{C}$ , в прямой кишке  $38,54 \pm 0,30^\circ\text{C}$ , подкожная температура на верхних конечностях  $32,72 \pm 0,311^\circ\text{C}$ , на нижних конечностях  $33,6 \pm 0,14^\circ\text{C}$ . При проведении морфометрического исследования отмечено, что подвижность эритроцитов не страдала. Морфологически эритроциты представлены в виде двояковогнутых клеток, слегка закруглённых форм (сфероциты), выстроены местами в небольшие монетные столбики, равномерно насыщенные гемоглобином с лёгким просветлением в центре, а также единичными стоматоцитами с небольшими выростами (шипам). Динамическое наблюдение за этой группой животных существенных отклонений от исходных данных не выявило.

После помещения животных в морозильную камеру при температуре  $-20^\circ\text{C}$  (вторая группа) через 10 минут отмечено относительное беспокойство, нарастающее с удлинением экспозиции, учащение пульса и частоты дыхания. Животное успокаивалось через 20 минут (период приспособительной адаптации). Отмечено урежение дыхания и сердечных сокращений. Через 30 минут прибывания в морозильной камере животное попискивает, передние и задние лапки судорожно сокращаются, отмечено судорожное сокращение мышц передней брюшной стенки, что может свидетельствовать о симптомах замерзания I – II стадии. После извлечения крысы через 30 минут температура в наружном слуховом проходе  $32,67 \pm 0,16^\circ\text{C}$ , в прямой кишке  $31,17 \pm 0,87^\circ\text{C}$ , под кожей на верхних конечностях  $30,1 \pm 0,52^\circ\text{C}$ , на нижних конечностях  $25,9 \pm 0,53^\circ\text{C}$ . Кожные покровы верхних и нижних конечностей слегка цианотичны, подвижность в суставах не нарушена, объём конечностей не увеличен. Хвост твёрдый (оледенение), ушные раковины бледные, плотные на ощупь. Данные объективного осмотра свидетельствуют о наличии у животного местной локальной холодовой травмы – отморожения в дореактивном периоде.

При морфометрическом исследовании капли крови отмечено некоторое замедление скорости хаотичных движений эритроцитов в препарате. Микроскопически эритроциты представлены большим количеством сфероцитов, различными по величине дискоцитами с удлинением монетных столбиков клеток, увеличением количества стоматоцитов. Насыщенность гемоглоби-

ном равномерная.

При дальнейшем наблюдении за этой группой животных отмечена нормализация температурных параметров в течение первых суток спонтанного согревания. Данных за локальную холодовую травму не выявлено, что свидетельствует об обратимости процессов при общей холодовой травме I–II стадии замерзания и восстановлении нормального кровотока пораженных конечностей. Морфометрическое исследование мазков крови характеризуется нормализацией скорости движения эритроцитов, однако оставалось увеличенным количество патологических форм в виде эхиноцитов с большим количеством выростов, сфероцитов, стоматоцитов, формирующих более удлинённые столбики.

Наблюдение за третьей группой животных через 35 – 40 минут после помещения в морозильную камеру при температуре  $-20^\circ\text{C}$ , свидетельствует о том, что у крыс появляется кашель, учащается дыхание, отмечается усиление слюноотделения. Исследуемые особи вялы, адинамичны. Спины изгибаются, лапы поджаты к животу. Дальнейшее пребывание в камере приводит к полной обездвижимости животного, дыхание урежается.

Через час – животное лежит на боку, в согнутом состоянии с поджатыми к животу конечностями, судорожные подёргивания мышц передней брюшной стенки. Кожные покровы верхних и нижних конечностей без признаков отёка, синюшного цвета, плотные на ощупь, подвижность в суставах отсутствует, хвост деревянистой плотности. Объективные данные свидетельствуют о замерзании III стадии.

Температура в наружном слуховом проходе  $29,4 \pm 0,75^\circ\text{C}$ , в прямой кишке  $29,1 \pm 1,32^\circ\text{C}$ , подкожная температура верхних конечностей  $27,3 \pm 1,13^\circ\text{C}$ , нижних конечностей  $25,9 \pm 0,53^\circ\text{C}$ .

При морфометрическом исследовании подвижность эритроцитов значительно уменьшилась. При микроскопическом исследовании эритроциты представлены удлинёнными монетными столбиками сфероцитов, увеличенным количеством стоматоцитов, скоплениями эхиноцитов, причём выросты стенок удлиняются (морской ёж).

Через час после спонтанного согревания животное обездвижено, лежит на боку с согнутой спиной и поджатыми конечностями, отмечается обильное слюноотделение. Кожные покровы верхних и нижних конечностей без признаков отёка, синюшного цвета, плотные на ощупь, пассивные движения в суставах вызывают беспокойство. Температура в наружном слуховом проходе  $29,49 \pm 0,61^\circ\text{C}$ , в прямой кишке  $29,09 \pm 1,69^\circ\text{C}$ , подкожная на верхних конечностях  $28,18 \pm 1,73^\circ\text{C}$ , на нижних конечностях  $26,9 \pm 0,95^\circ\text{C}$ . Морфометрическое исследование

эритроцитов свидетельствует о замедлении скорости движения в препарате. Микроскопически эритроциты представлены большим количеством сфероцитов различной величины, практически полным отсутствием двояковогнутых форм, увеличенным количеством стоматоцитов, эхиноцитов. Клетки выстроены в удлинённой формы столбики.

Через три часа после извлечения животных из морозильной камеры и спонтанного согревания крысы хаотично двигаются по клетке, ориентация нарушена, отмечается обильное слюноотделение. Конечности плотные на ощупь, подвижность в суставах затруднена. Кожные покровы верхних и нижних конечностей без признаков отёка, цианотичны. Температура в наружном слуховом проходе  $33,49 \pm 0,76^\circ\text{C}$ , в прямой кишке  $31,65 \pm 1,72^\circ\text{C}$ , на верхних конечностях  $29,76 \pm 2,46^\circ\text{C}$ , подкожная на нижних конечностях  $28,52 \pm 1,25^\circ\text{C}$ . Исследование подвижности эритроцитов в капле крови свидетельствует о снижении скорости хаотичных движений. Микроскопически практически полное отсутствие двояковогнутых форм, увеличение количества стоматоцитов обеднённых гемоглобином и эхиноцитов с удлинёнными выростами (шипами). Прослеживается наличие шизоцитов (нарушение целостности стенок и выход гемоглобина в сосудистое русло). Все элементы представлены в виде конгломератов различной величины и формы.

При осмотре животных через сутки после холодого воздействия обращает на себя внимание общая заторможенность, крысы мало двигаются, сидят в согнутом положении с подогнутыми к животу конечностями. Обильное слюноотделение. Коже покровы верхних и нижних конечностей отёчны, синюшного цвета. Движения в суставах вызывают беспокойство. Температура в наружном слуховом проходе  $35,61 \pm 0,90^\circ\text{C}$ , в прямой кишке  $35,52 \pm 0,98^\circ\text{C}$ , подкожная на верхних конечностях  $31,67 \pm 2,07^\circ\text{C}$ , на нижних конечностях  $31,07 \pm 1,48^\circ\text{C}$ . Морфометрически скорость движения эритроцитов замедлена. Микроскопически эритроциты представлены сфероцитами различной величины с большими просветлениями в центре (потеря гемоглобина), сферо-стоматоцитами с различными по длине выростами в виде нагромождений неправильной формы, отдельными шизоцитами.

На третьи сутки после общей холодной травмы животные третьей группы более активны, однако аппетит снижен, слюноотделение уменьшилось. Коже покровы конечностей резко отёчны у 4 особей (40%), синюшного цвета. Движения в суставах вызывают беспокойство животных, что может свидетельствовать о наличии отморожений конечностей (реактивный период). Температура в наружном слуховом про-

ходе  $38,51 \pm 0,28^\circ\text{C}$ , в прямой кишке  $38,72 \pm 0,25^\circ\text{C}$ , подкожная на верхних конечностях  $33,58 \pm 0,55^\circ\text{C}$ , на нижних конечностях  $33,13 \pm 1,00^\circ\text{C}$ . Подвижность эритроцитов в препарате практически не страдает. Эритроциты представлены в виде стоматоцитов различной величины с большими просветлениями в центре, большим количеством эхиноцитов, величина конгломератов уменьшилась.

У 6 (60%) подопытных животных третьей группы отмечено улучшение общего состояния, восстановился аппетит, нормализовалось слюноотделение. Отёк конечностей не выражен, коже покровы слегка цианотичны, движения в суставах не ограничены. Температурные параметры в пределах исходных показателей. Подвижность эритроцитов в препарате несколько замедлена. Микроскопически эритроциты представлены в виде единичных двояковогнутых форм, большим количеством стоматоцитов различной величины с большим просветлением в центре, эхиноцитами, умеренным количеством сфероцитов.

Дальнейшее наблюдение за этой группой животных (7, 10, 21 сутки) свидетельствует о том, что общее состояние их прогрессивно улучшалось, восстановился аппетит, отмечена прибавка в весе, кожные покровы конечностей восстановили свой нормальный цвет, подвижность в суставах не страдала. Температурные параметры в пределах контрольных цифр. Морфометрически скорость движения эритроцитов не нарушена. Однако, микроскопически эритроциты представлены в виде отдельных столбиков двояковогнутых форм, стоматоцитами с несколькими увеличенными участками просветления (умеренная насыщенность гемоглобином), увеличенным количеством стоматоцитов, группирующихся в небольшие конгломераты неправильной формы.

При наблюдении за 4 особями третьей группы на 7 сутки отмечено, что состояние животных несколько улучшилось, повысилась активность, восстановился аппетит, нормализовалось слюноотделение. Однако, на верхних и нижних конечностях сформировались участки отморожений в виде сухого коагуляционного некроза на уровне голеностопных и лучезапястных суставов. У 2 крыс (50%) отмечается самоампутация верхних конечностей на уровне лучезапястного сустава. У 3 особей (75%) самоампутация хвостов на уровне верхней трети. Температура в наружном слуховом проходе  $38,35 \pm 0,25^\circ\text{C}$ , в прямой кишке  $38,4 \pm 0,2^\circ\text{C}$ , на верхних конечностях на предплечьях  $33,72 \pm 0,47^\circ\text{C}$ , на нижних конечностях на голених  $33,11 \pm 0,67^\circ\text{C}$ . При морфометрическом исследовании скорость движения эритроцитов не нарушена. Микроскопически эритроциты представлены единичными двояковогнутыми формами, сфероцитами различной вели-

чины, стоматоцитами с большими участками просветления, увеличенным количеством эхиоцитов в виде разноформенных конгломератов.

На 10 сутки наблюдения животные ведут себя активно, аппетит не нарушен, незначительно прибавили в весе, слюноотделение не страдает. У всех 4 крыс (100%) отмечается самоампутация верхних и нижних конечностей на уровне лучезапястных и голеностопных суставов. В рану выступают головки костей предплечья и голени. Пассивные движения в локтевых и коленных суставах вызывают беспокойство животных. Температурные параметры в пределах нормы. Морфофункциональное исследование скорости движения эритроцитов без признаков нарушения. Микроскопически эритроциты представлены в виде двояковогнутых форм - дискоцитами, выстроенными в короткие столбики, сфероцитами с небольшими просветлениями внутри, отдельными эхиоцитами и стоматоцитами. Скоплений в виде конгломератов не обнаружено.

Исследование животных на 21 сутки наблюдения свидетельствуют о удовлетворительном состоянии крыс. Они активны, хорошо передвигаются на культях верхних и нижних конечностей, прибавили в весе. Ампутированные культя представлены выступающими в раны головками костей предплечья и голени, окруженными гранулирующими ранами. Пассивные движения в суставах не вызывают беспокойства. Температурные параметры в пределах нормы. При морфофункциональном исследовании скорость движения эритроцитов не нарушена. Микроскопически эритроциты представлены на большей площади двояковогнутыми формами, дискоцитами с небольшими участками просветления в центре, единичными эхиоцитами с короткими отростками.

Таким, образом проведенные клиничко-лабораторные и морфофункциональные исследования эритроцитов при общей холодовой травме (замерзании) свидетельствуют о выраженном влиянии низких температур на общее состояние у подопытных животных, значительные изменения подвижности эритроцитов и появлению патологических форм последних. Степень выраженности этих изменений в прямой степени зависит от температурных параметров холодового воздействия и длительности экспозиции. При общей холодовой травме с температурой  $-20^{\circ}\text{C}$  и холодовым воздействием 30 минут у животного имеет место замерзание I-II стадии, которое выражается в обездвиженности, урежении дыхания и сердечных сокращений, появлению судорожных сокращений мышц конечностей и передней брюшной стенки, обильным слюноотделением. Выявлены значительные изменения морфофункционального состояния эритроцитов – замедление скорости движения,

большое количество патологических форм. Динамическое наблюдение свидетельствует об обратимости клинических проявлений при замерзании I – II стадии, однако изменения формы эритроцитов сохраняются длительное время.

Продолжительность холодового воздействия при температуре  $-20^{\circ}\text{C}$  на протяжении одного часа приводит к замерзанию III стадии, которое выразилось в полной обездвиженности, вынужденном положении животного (поза «боксер»), обильным слюноотделением, появлением кашля, резким урежением дыхания и сердечных сокращений. У 40% (4 крысы) после спонтанного согревания выявлены отморожения IV степени и самоампутация пораженных фрагментов конечностей. При морфофункциональном исследовании обнаружены значительные нарушения скорости движения и патологические формы эритроцитов, как на ранних этапах, так и поздние периоды наблюдения.

Пребывание животных в морозильной камере 1 час 30 минут приводит к остановке дыхания и сердечной деятельности.

### Выводы

1. В качестве экспериментального животного для воспроизведения общей холодовой травмы могут быть использованы крысы.

2. Экспозиция животного в морозильной камере при температуре  $-20^{\circ}\text{C}$  на протяжении 30 минут приводит к замерзанию I – II стадии, а клинические и морфофункциональные нарушения обратимы.

3. Экспозиция животного в морозильной камере один час приводит к проявлениям клиники замерзания III стадии и в некоторых случаях к возникновению отморожений конечностей с выраженными изменениями морфофункционального состояния эритроцитов.

4. Увеличение времени холодового воздействия до 1 часа 30 минут приводит к смертельной гипотермии.

Общее холодовое воздействие приводит к формированию своеобразного патологического процесса с нарушением функции внутренних органов и систем (холодовая болезнь). Исследование морфофункционального состояния эритроцитов при общей холодовой травме может быть *перспективным* при оценке степени тяжести и прогноза холодового повреждения.

### Литература

1. Абрамова М.Г. Гематологический атлас. М.: Медицина, 1979. 279 с.
2. Базарнова М.А. Руководство по клинической и лабораторной диагностике. Киев, 1982. 174 с.
3. Бердиев Н.Б., Парамонов Б.А. Отморожение конечностей в эксперименте // Здравоохранение

Таджикистана. 1987. №4. С. 99-100.

4. Вихриев Б.С., Кичемасов С.Х., Скворцов Ю.Р. Местные поражения холодом. Л.: Медицина, 1991. 189 с.

5. Воинов А.И. Клиническая классификация холодовых травм и прогнозирование глубины поражения тканей в остром периоде // Клиническая хирургия. 1989. №12. С. 41–43.

6. Григорьева Т.Г. Отморожения // Международный медицинский журнал. 2001. Т. 2, №2. С. 42 – 47.

7. Дмитренко А.С. // Галицинський лікарняний вісник. 2003. Т. 10. №2. С. 83 – 85.

8. Лапач С.Н., Губенко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. К.: Морион, 2000. 320 с.

9. Котельников В.П. Отморожения. М.: Медицина, 1988. 254 с.

10. Кулешова Л.Г. Морфологічні зміни еритроцитів людини за умов охолодження // Фізіологічний журнал. 2005. Т.51, №3. С. 73 – 77.

11. Фёдоров Н.А. Нормальное кроветворение и его регуляция. М.: Медицина, 1976. 544 с.

12. Штычно Ю.М., Васильевский В.Ю., и др. Реологические свойства артериальной и венозной крови крыс после прижизненного оледенения конечностей // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 1983. Вып.3. С. 81–85.

13. Bessis M. Living Blood Cells and their Ultrastructure. Berlin, Heidelberg, New – York, 1973. 767 p.

*Поступила в редколлегию 15.10.2009*

**Клініко-лабораторні особливості загальної холодової травми в експерименті / Олійник Г.А. // Медицина і... – 2009. – № 4(26). – С. 49-53.**

*Изучены клиничко-лабораторные особенности общей холодовой травмы в эксперименте. Выявлено, что при длительной экспозиции подопытных животных в морозильной камере при температуре -20°C развивается тяжёлая стадия замерзания, которая приводит к нарушению жизненно-важных процессов в организме, может способствовать возникновению глубоких локальных холодовых повреждений (отморожений), а также изменению морфофункционального состояния эритроцитов.*

*Ключевые слова: общая холодовая травма (замерзание), морфофункциональные изменения эритроцитов.*

**Клініко-лабораторні особливості загальної холодової травми в експерименті / Олійник Г.А. // Медицина і... – 2009. – № 4(26). – С.49-53.**

*В роботі вивчені клініко-лабораторні особливості загальної холодової травми в експерименті. Виявлено, що при тривалій експозиції дослідних тварин в морозильній камері при температурі -20°C розвивається важка стадія замерзання, яка призводить до порушення життєво-важливих процесів в організмі, може сприяти виникненню глибоких локальних холодових уражень (відморожень), а також впливати на морфофункціональний стан еритроцитів.*

*Ключові слова: загальна холодова травма (замерзання), морфофункціональні зміни еритроцитів.*

**The clinic-laboratory particularities general cold injuries in experiment / G.A.Oleynik // Medicine and... – 2009. – № 4 (26). – P. 49-53.**

*In the article was studied clinic-laboratory particularities general cold injuries in experiment. It was revealed that under long exposure experimental animal in frost camera at the temperature -20°C develops the heavy stage of the congelation, which brings about breach of the functions vitally-important processes in organism, can promote origin deep local cold damages (the frostbites), as well as change morphofunctional conditions of erythrocytes.*

*Key words: the general cold injury (the congelation), morphofunctional change of erythrocytes.*