

## Особенности системы гемостаза крысы линии Wistar, важные для экспериментальной хирургии

© А.А. КИНЗЕРСКИЙ, В.Т. ДОЛГИХ, М.С. КОРЖУК, Д.А. КИНЗЕРСКАЯ, В.Е. ЗАЙЦЕВА  
Омский государственный медицинский университет, ул. Ленина, д. 12, Омск, 644099,  
Российская Федерация

**Актуальность.** Апробация новой методики гемостаза в хирургии зачастую проходит через этап эксперимента. Ключевым моментом является выбор животного и правомочность экстраполяции полученных экспериментальных результатов относительно человека. Лабораторные крысы часто используются для исследования параметров системы гемостаза при моделировании различной патологии в хирургии. Появление методики низкочастотной пьезотромбоэластографии (НПТЭГ), в совокупности с показателями коагулограммы, общего анализа крови, протеина С и плазминогена способно детализировать имеющиеся знания о своеобразии системы гемостаза у этих животных и помочь избежать ошибок в интерпретации полученных результатов в эксперименте.

**Цель.** Выявить особенности параметров системы гемостаза крысы линии Wistar в сравнении с аналогичными параметрами системы гемостаза человека, важные для экспериментальной хирургии.

**Материалы и методы.** Исследование проведено на крысах-самцах ( $n=42$ ) линии Wistar массой  $349\pm 33$  г ( $M\pm\sigma$ ). Кровь забирали из левой сонной артерии в условиях наркоза тилетамин/золазепамом ( $20-40$  мг/кг внутримышечно) + ксилазином ( $5-10$  мг/кг внутримышечно). Кровь без цитрата в объеме  $0,45$  мл за  $8$  секунд помещалась в кювету НПТЭГ АРП-01М «Меднорд», в настройках которого использовали дельту для принятия точки максимальной, равную  $1$ , и время ожидания подъема кривой -  $20$  минут. Следующая порция крови набиралась в пробирку с  $3,8\%$  цитратом в объеме  $4,5$  мл ( $9:1$ ) для исследования уровня фибриногена на полуавтоматическом коагулометре Thrombotimer 4 Behnk Elektronik, значений активированного частичного тромбoplastинового времени (АЧТВ), протромбинового времени (ПВ), тромбинового времени (ТВ) и антитромбина III (АТ III) - на автоматическом анализаторе коагуляции крови Systex CA 600, активности плазминогена и протеина С - на полуавтоматическом фотометре Riele5010 v5+c длиной волны, равной  $405$  нм. Исследование показателя гематокрита и определение количества тромбоцитов выполняли на автоматическом гематологическом анализаторе АВХ Micros ES 60. Для определения показателей системы гемостаза использовали реактивы ООО фирмы «Технология-Стандарт». Параметры НПТЭГ для человека взяты из цитируемой литературы, остальные показатели получены у  $120$  здоровых взрослых добровольцев. Статистическая обработка реализована на языке программирования R с использованием статистических пакетов «VIM», «mice», «car», «sm», «coin», «boot». Референсные значения НПТЭГ у крыс уточнены методом непараметрического бутстреп. Сравнение между группами выполнено тестом Манна-Уитни и перепроверено пермутационным тестом с коррекцией уровня  $p$  на множественные сравнения методом Беньямини-Йекутили. Уровень  $\alpha$  после коррекции принят, равный  $0,05$ .

**Результаты и их обсуждение.** Большинство показателей системы гемостаза крысы отличаются от одноименных параметров человека, кроме показателя гематокрита ( $p3=0,84$ ,  $p4=0,98$ ) и показателя интенсивности лизиса и ретракции сгустка (ИРЛС) ( $p3=0,15$ ,  $p4=0,067$ ). У крысы, по сравнению с человеком, на фоне снижения активности протеина С на  $29\%$ , увеличения количества тромбоцитов и их активности на  $69\%$  и на  $79\%$ , роста активности тромбина и ускорения его образования на  $35\%$  и  $30\%$ , усилены I-II фаза коагуляции. В III фазу коагуляции отмечается усиление протеолитического этапа на  $37\%$  и ослабление полимеризационного на  $44\%$ . Укорачивается время свертывания на  $29\%$  и удлиняется тромбиновое время на  $64\%$ , что не противоречит росту коэффициента суммарной противосвертывающей активности крови (КСПА) на  $62\%$ . Другие показатели клинически значимо не отличаются.

**Заключение.** Система гемостаза крыс линии Wistar очень близка к человеческой, за исключением значительного усиления I-II фаз свертывания, протеолитического этапа III фазы и такого же значительного ослабления ее полимеризационного этапа, возможно, за счет увеличения активности системы плазмينا, антикоагулянтной активности крови на этом этапе и снижения уровня фибриногена. Эволюционно крысы лучше приспособлены к остановке кровотечения после травмы, что необходимо учитывать при выполнении эксперимента в хирургии.

**Ключевые слова:** крысы-самцы Wistar; система гемостаза, низкочастотная пьезотромбоэластография, коагулограмма, протеин С, плазминоген

## The Wistar Rat Line Hemostatic System Characteristics to be Important for Experimental Surgery

© A.A. KINZERSKY, V.T. DOLGIKH, M.S. KORZHUK, D.A. KINZERSKAYA, V.E. ZAITSEVA  
Omsk State Medical University, 12 Lenin str., Omsk, 644099, Russian Federation

**Background.** Testing a new method of hemostasis in surgery often goes through the experimental stage. The key point is selecting animals, and eligibility of the obtained experimental results extrapolating to humans. Experimental rats are often used for studying the hemostasis system indicates in modeling various pathologies in surgery. The emergence of the low-frequency piezothromboelastography technique in combination with the coagulogram findings, general blood test, protein C and plasminogen

indicators has been able to detail the available knowledge about the hemostasis system at these animals and to help avoiding errors in interpreting the results obtained in the experiment.

**Aim.** To determine the features of the Wistar line rats' hemostasis system parameters in comparison with the same human ones being important for experimental surgery.

**Materials and methods.** The research was conducted on Wistar male rats ( $n=32$ ) weighing  $349 \pm 33$  g ( $M \pm \sigma$ ). Blood was taken from the left carotid artery under conditions of anesthesia with tiletamine / zolazepam (20-40 mg / kg intramuscularly) + xylazine (5-10 mg / kg intramuscularly). Eight seconds before blood without citrate in a volume of 0.45 ml was placed in a cuvette of the LFPTEG technique ARP-01M "Mednord" in settings of which the delta was used to take a maximum point equal to 1, and the waiting time of the curve rising was 20 minutes. The next blood sample was collected in a test tube with 3.8% citrate in a volume of 4.5 ml (9:1) for investigating the fibrinogen level at the Thrombotimer 4 Behnk Elektronik semi-automatic coagulometer, the activated partial thromboplastin time (APTT) values, prothrombin time (PT), thrombin time (TT) and antithrombin III at the automatic blood coagulation analyzer Sysmex CA 600, and activity of plasminogen and protein C at the semi-automatic Riele 5010 v5 + photometer with a wave length of 405 nm. Studying the hematocrit indicators and determining the platelet count were performed at the automatic hematological analyzer ABX Micros ES 60. The reagents of Ltd "Tekhnologiya standart" were used for detecting the parameters of the hemostasis system. Parameters of the LFPTEG technique for human had been taken from the cited literature, the other indicators had been obtained from 120 healthy adult volunteers. Statistical processing was implemented in the programming language R with using the statistical packages "VIM", "mice", "car", "sm", "coin", "boot". The LFPTEG technique reference values in rats were refined by the nonparametric bootstrap method. The comparison between the groups was carried out by Mann-Whitney's test and rechecked by the Permutation test with the level  $p$  correction for multiple comparisons by the Benjamin-Yekutieli method. The  $\alpha$  level was assumed to be 0.05 after correction.

**Results and Discussion.** Most indicators of the rat hemostasis system differed from the same human parameters, except the hematocrit ( $p_3=0.84$ ,  $p_4=0.98$ ) indicator, and the lysis intensity, and retraction of the clot ( $p_3=0.15$ ,  $p_4=0.067$ ) indices. The I-II coagulation phases were increased at the background of decreasing protein C activity by 29%, increasing the number of platelets and their activity by 69% and 79%, intensification of thrombin activity and acceleration of its formation by 35% and 30% in a rat compared to a person. At the III phase of coagulation the proteolytic stage was noted to become intensified by 37% and the polymerization to become weakened by 44%. The clotting time was shortened by 29%, and the thrombin time was prolonged by 64% that did not contradict the coefficient growth of total anticoagulant blood activity (TAAC) by 62%. Other indicators have clinically differed a little.

**Conclusion.** The Wistar line rats' haemostasis system is very similar to human one except significant increasing of the I-II coagulation phases, the III proteolytic phase, and significant weakening of its polymerization stage probably due to increasing the plasmin system activity, the anticoagulant blood activity at this stage, and decreasing the fibrinogen level. Rats evolutionarily must be considered to be better suited to stop bleeding after trauma while performing a surgical experiment.

**Key words:** Wistar line male rats, hemostasis system, low-frequency piezotromboelastography, coagulogram, protein C, plasminogen

Эксперимент - неотъемлемая часть разработки и апробация новой методики гемостаза в хирургии. Ключевым моментом является выбор вида животного и правомочность экстраполяции полученных экспериментальных результатов относительно человека [1, 2]. Лабораторные крысы часто используются для исследования системы гемостаза при моделировании геморрагического, травматического шока, травмы-паренхиматозных органов и проверки новых методов остановки кровотечения [2, 3, 4, 5, 6, 7]. Появление методики низкочастотной пьезотромбоэластографии (НПТЭГ) и использование полученных с ее помощью данных, в совокупности с показателями коагулограммы, общего анализа крови, протеина С и плазминогена способно детализировать имеющиеся знания о системе гемостаза у этих животных и помочь избежать ошибок в интерпретации полученных результатов в эксперименте.

Цель исследования выявить особенности параметров системы гемостаза крысы линии Wistar в сравнении с аналогичными параметрами системы гемостаза человека, важные для экспериментальной хирургии.

### Материалы и методы

Исследование проведено на крысах-самцах ( $n=42$ ) линии Wistar массой  $349 \pm 33$  г ( $M \pm \sigma$ ). Кровь за-

бирали из левой сонной артерии в условиях наркоза тилетамин/золазепамом (20-40 мг/кг внутримышечно) + ксилазином (5-10 мг/кг внутримышечно). Эксперименты с животными проводились в соответствии с требованиями Европейской конвенции по защите экспериментальных животных (86/609/ЕЕС; 1986) и Всемирного общества защиты животных (WSPA). Кровь без цитрата в объеме 0,45 мл за 8 секунд помещалась в кювету низкочастотного пьезотромбоэластографа АРП-01М «Меднорд» (НПТЭГ), в настройках которого использовали дельту для принятия точки максимальной, равную 1, и время ожидания подъема кривой - 20 минут [8].

Исследовались величины: время контактной коагуляции ( $T_1$ ) в минутах (мин.), интенсивность контактной коагуляции (ИКК) в относительных единицах (о.е.), время достижения константы тромбиновой активности ( $T_2$ , мин.), константа тромбиновой активности (КТА, о.е.), время свертывания крови ( $T_3$ , мин.), интенсивность коагуляционного драйва (ИКД, о.е.), интенсивность полимеризации сгустка (ИПС, о.е.), время формирования фибрин-тромбоцитарной структуры ( $T_5$ , мин.), максимальная плотность сгустка (МА, о.е.), интенсивность тотального свертывания крови (ИТС, о.е.), интенсивность ретракции и лизиса сгустка (ИРЛС, %), коэффициент суммарной проти-

восвертывающей активности (КСПА, о.е.). Следующая порция крови набиралась в пробирку с 3,8% цитратом в объеме 4,5 мл (9:1) для исследования уровня фибриногена на полуавтоматическом коагулометре Thrombotimer 4 Behnk Elektronik, значения активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ), протромбинового времени (ПВ), тромбинового времени (ТВ) и антитромбина III (АТ III) - на автоматическом анализаторе коагуляции крови Sysmex CA 600, активности плазминогена и протеина С - на полуавтоматическом фотометре Riele5010 v5+c использованием длины волны, равной 405 нм. В пробирку с ЭДТА помещали 0,2 мл крови для исследования показателя гематокрита и количества тромбоцитов в общем анализе крови на автоматическом гематологическом анализаторе ABX Micros ES 60 [9, 10].

Для определения показателей системы гемостаза использовали реактивы ООО фирмы «Технология-Стандарт». Значения показателей низкочастотной пьезотромбоэластографии для человека взяты из цитируемой литературы [11], остальные параметры определены у 120 здоровых добровольцев в лаборатории клинической коагулологии БУЗОО «Областной детской клинической больницы». Статистическая обработка выполнена на языке программирования R с использованием статистических пакетов “VIM”, “mice”, “car”, “sm”, “coin”, “boot”. Выбросы исключены методом Тьюки:  $[Q1-1,5*IQR, Q3+1,5*IQR]$ , где  $Q1, Q3$  — границы первого и третьего квартилей,  $IQR=Q3-Q1$  — межквартильный размах. Пробелы показателей были заполнены с помощью многомерного восстановления данных связанными уравнениями, используя пакеты “VIM” и “mice”. Оценка правильности распределения выполнена по критерию Шапиро-Уилка, квантильными графиками методом огибающих Б. Рипли и графиками ядерной плотности, реализованных в пакетах “car”, “sm”.

Для всех показателей НПТЭГ у крыс были определены медиана (Me), среднее (M), среднеквадратичное отклонение (SD), первый и третий квартиль (Q1, Q3), максимальные (max) и минимальные значения (min). Кроме того, значения медианы (Me(b)), среднего (M(b)), среднеквадратичного отклонения (SD(b)) и 95% доверительные интервалы для них (95% CI) были уточнены методом непараметрического бутстрепа с коррекцией смещения и ускорением (BCa) на основании 5000 псевдовыборок с использованием пакета “boot”.

Сравнение с показателями человека выполнено непараметрическим тестом Манна-Уитни и, во избежание недостаточной мощности выборки, перепроверено пермутационным тестом на основании 10000 псевдовыборок с помощью пакета “coin”.

Коррекция уровня  $p$  на одновременные множественные сравнения произведена методом Беньямини-Йекутили, после чего уровень  $\alpha$  принят, равный 0,05.

## Результаты и их обсуждение

Результаты по оценке основных статистик НПТЭГ у крыс представлены в табл. 1. Такие показатели как ИКК, T1, КТА, T3, T5, ИПС, ИРЛС оказались по критерию Шапиро-Уилка неправильно распределенными. Однако после графической проверки методом огибающих Б. Рипли и графиками ядерной плотности неправильность распределения была подтверждена только у показателя ИРЛС (рис. 1). Учитывая характер представленных в литературе данных и неоднородность показателей по нормальности распределения, было сочтено целесообразным использование непараметрических критериев, таких как тест Манна-Уитни и пермутационный тест [12] с коррекцией уровня  $p$  на множественные сравнения методом Беньямини-Йекутили.

После проведенной статистической обработки, как видно из табл. 2 и табл. 3, можно сказать, что крысы отличаются от людей по всем перечисленным параметрам, кроме показателя гематокрита ( $p3=0,84, p4=0,98$ ) и ИРЛС ( $p3=0,15, p4=0,067$ ), характеризующего фибринолитическую активность крови. Ряд интегративных параметров, несмотря на статистическую значимость различий у крыс и людей, клинически не значимо отличается: это показатели ИТС

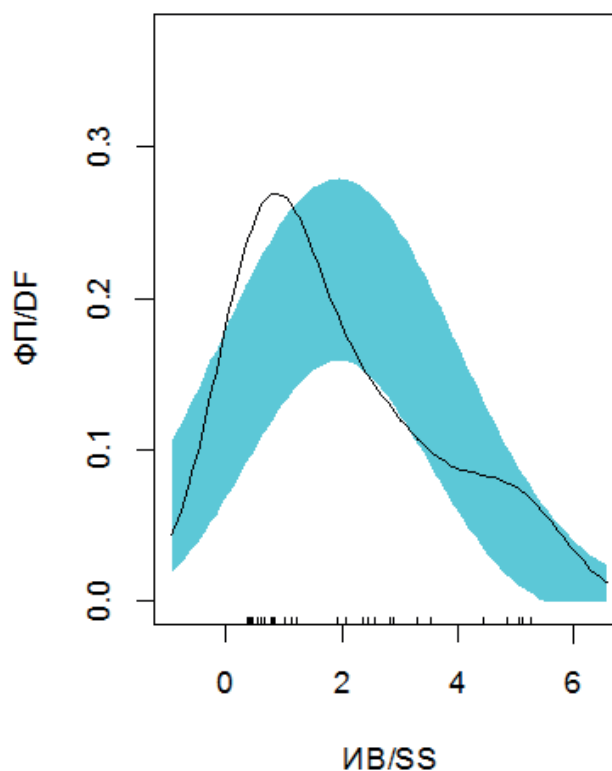


Рис. 1. График ядерной плотности для показателя интенсивности ретракции и лизиса сгустка (ИРЛС) у крыс-самцов линии Wistar. ЭР — эмпирическое распределение, НР — нормальное распределение (z-шкала), ФП — функция плотности, ИБ — имитированная бутстрепом выборка / Fig. 1. The nuclear density graph for the the retraction and lysis of clot intensity (RLCI). ED - empirical distribution, ND - normal distribution (z-scale), DF - density function, SS - simulated (by the bootstrap method) sample.

Таблица 1 / Table 1

**Статистики низкочастотной пьезотромбоэластографии крыс-самцов линии Wistar и 95% доверительные интервалы для них, уточненные бутстрепом (b). / Statistics of Wistar line male rat slow-frequency piezothromboelastography and 95% confident intervals for them specified by abootstrap method (b)**

Показатель / Test	p	min	max	Me [Me(b); 95%CI]	M [M(b); 95%CI]	Q <sub>1</sub>	Q <sub>3</sub>	SD [SD(b); 95%CI]
ИКК*, о.е. / CCI*, r.u.	0,029	1,1	18,9	5,71 [6,59; 4,21-10,0]	7,69 [7,68; 6,1-9,55]	3,89	10,0	5,04 [4,93; 4,14-6,18]
T <sub>1</sub> *, мин / T <sub>1</sub> *, min	0,002	0,4	1,9	0,7 [0,73; 0,5-0,9]	0,79 [0,79; 0,68-0,94]	0,5	1,0	0,38 [0,37; 0,29-0,53]
T <sub>2</sub> , мин / T <sub>2</sub> , min	0,66	1,7	4,1	2,8 [2,82; 2,4-2,9]	2,84 [2,84; 2,65-3,06]	2,4	3,3	0,6 [0,59; 0,49-0,76]
КТА*, о.е. / TAC*, r.u.	0,016	31,3	76,9	45,45 [44,94; 40,0-47,62]	48,33 [48,32; 44,63-52,91]	39,62	56,38	12,02 [11,77; 9,57-15,05]
ИКД, о.е. / CDI, r.u.	0,28	37,4	85,4	59,88 [60,71; 51,68-67,99]	60,1 [60,12; 55,65-64,41]	47,62	70,58	13,12 [12,85; 11,29-15,55]
T <sub>3</sub> *, мин / T <sub>3</sub> *, min	0,016	3,6	8,3	5,4 [5,36; 4,9-5,8]	5,57 [5,56; 5,18-6,02]	4,7	6,13	1,23 [1,12; 0,95-1,55]
T <sub>5</sub> *, мин / T <sub>5</sub> *, min	0,047	19,3	41,3	26,8 [26,85; 24,7-30,85]	28,24 [28,24; 26,26-30,48]	23,68	32,02	6,43 [6,29; 5,21-7,85]
МА, о.е. / MA, r.u.	0,22	338	532	462,0 [460,0; 428,0-483,0]	452,0 [452,0; 435,0-467,0]	412,0	492,0	48,0 [47,0; 41,0-61,0]
ИПС*, о.е. / CPI*, r.u.	0,05	6,6	14,3	9,3 [9,25; 8,1-10,2]	9,59 [9,6; 8,9-10,38]	8,05	10,73	2,18 [2,14; 1,76-2,67]
ИТС, о.е. / TBCI, r.u.	0,09	10,1	26,4	17,0 [17,09; 14,75-19,7]	17,77 [17,77; 16,12-19,46]	13,52	21,74	4,89 [4,8; 4,16-5,74]
ИРЛС* / ILCR*, %	0,003	0,3	5,34	1,12 [1,3; 0,78-2,42]	1,92 [1,93; 1,43-2,54]	0,7	2,82	1,61 [1,57; 1,28-1,94]
КСПА, о.е. / TAAC, r.u.	0,93	3,6	8,72	6,26 [6,27; 5,73-6,88]	6,36 [6,36; 5,94-6,79]	5,55	7,16	1,23 [1,2; 1,0-1,55]
Тромбоциты, *10 <sup>9</sup> /л / Platelets, *10 <sup>9</sup> /L	0,48	589	1130	830 [841; 779-890]	849 [849; 804-896]	763	921	135 [132; 106-172]
Гематокрит/Нematocrit, %	0,28	34	57,0	44,95 [44,6; 40,7-47,1]	43,92 [43,92; 42,05-45,86]	39,4	47,5	5,46 [5,33; 4,64-7,02]
Фибриноген, г/л* / Fibrinogen, g/L*	0,11	1,3	3,17	2,0 [1,99; 1,78-2,07]	2,05 [2,05; 1,89-2,36]	1,73	2,33	0,5 [0,49; 0,4-0,63]
АТ III, %	0,59	77,8	123,4	97,95 [97,0; 92,7-100,5]	98,06 [98,04; 94,43; 102,42]	92,25	104,0	11,52 [11,27; 9,29-14,39]
Плазминоген/ Plasminogen, %	0,46	75,0	106,0	90,5 [91,07; 88,5-95,0]	91,66 [91,66; 88,78-94,09]	86,5	98,5	7,73 [7,55; 6,4-9,68]
Протеин С / Protein C, %	0,96	57,0	96,0	79,50 [78,13; 69,0-85,0]	78,0 [78,06; 70,7- 84,4]	70,75	83,75	11,59 [10,75; 8,04-16,82]
АЧТВ, с /APPT, sec	0,29	24,7	45,2	32,0 [32,34; 29,9-35,6]	33,15 [33,14; 31,53-34,93]	29,5	33,15	4,96 [4,85; 4,12-6,36]
ПВ, с /PT, sec	0,22	8,7	19,6	14,2 [14,1; 11,7-14,7]	13,49 [13,5; 12,48-14,36]	11,3	15,12	2,72 [2,66; 2,27-3,42]
ТВ, с /TT, sec	0,83	44,3	62,0	52,7 [52,61; 50,0-54,7]	52,8 [52,79; 51,32-54,47]	49,3	55,88	4,51 [4,42; 3,73-5,55]

Примечание: \* значение Шапиро-Уилка  $p < 0,05$ . / Note: \* the Shapiro-Wilk test value  $p < 0,05$ . \*\* о.е. – относительные единицы / r.u. – relative units.\*\*\* T<sub>1</sub> – время контактной коагуляции; ИКК – интенсивность контактной коагуляции; T<sub>2</sub> – время достижения константы тромбиновой активности; КТА – константа тромбиновой активности; T<sub>3</sub> – время свертывания крови; ИКД – интенсивность коагуляционного драйва; ИПС – интенсивность полимеризации сгустка; T<sub>5</sub> – время формирования фибрин-тромбоцитарной структуры; МА – максимальная плотность сгустка; ИТС – интенсивность тотального свертывания крови; ИРЛС – интенсивность ретракции и лизиса сгустка; КСПА – коэффициент суммарной противосвертывающей активности. / Note: T<sub>1</sub> – the contact coagulation time; CCI – the contact coagulation intensity; T<sub>2</sub> – the time of reaching the thrombin activity constant; TAC – the thrombin activity constant; T<sub>3</sub> – the clotting time; CDI – the coagulation drive intensity; CPI – the clotpolymerization intensity; T<sub>5</sub> – the time of forming the fibrin-plateletstructure; MA – the maximum clot density; TBCI – the total blood clotting intensity; RLCI – the retraction and lysis of clot intensity; TAAC – the total anticoagulant activity coefficient.



(Me=17,0 и 15,6 о.е), T1 (Me=0,7 и 0,9 мин.), АЧТВ (Me=32,0 и 34,86 с), ПВ (Me= 14,2 и 12,55 с) - или отличаются не выражено: T5 (Me=26,8 и 34,0 мин.), активность антитромбина III (Me=97,95 и 111,26 %), и плазминогена (Me=90,5 и 108,35 %), количество фибриногена (Me=2,0 и 2,62 г/л) и МА (Me=462 и 502,5 о.е)

Это указывает на сбалансированность ключевых компонентов системы гемостаза при сопоставлении показателей, присущих человеку и крысе, а также на схожесть конечного результата свертывания. Тем не менее, есть резко отличающие показатели, такие как количество тромбоцитов (Me=830 и 259\*10<sup>9</sup>/л), ИКК (Me=-5,71 и -27,25 о.е.), T2 (Me=2,8 и 4,0 мин.), КТА (Me=45,45 и 29,4 о.е), ИКД (Me=59,88 и 37,6 о.е), T3 (Me=5,4 и 7,6 мин.), ИПС (Me=9,3 и 16,75 о.е.), КСПА (Me=6,26 и 2,35 о.е), активность протеина С (Me=79,5 и 111,38 %), ТВ (Me=52,7 и 19,09 с).

Анализируя эти отличия, можно сделать следующие выводы. У крысы, по сравнению с человеком, на фоне снижения активности протеина С на 29%, увеличения количества тромбоцитов и их активности на 69% и на 79%, роста активности тромбина и ускорения образования на 35% и 30%, усилена I-II фаза коагуляции (этап предварительно зарождающегося

сгустка). В третью фазу коагуляции отмечается усиление протеолитического этапа на 37% и ослабление полимеризационного на 44%. Как следствие, фиксируется ускорение перехода крови из состояния золь в гель, т.е. достижения точки желирования, и укорочения времени свертывания на 29%. У крысы удлиняется ТВ на 64%, что не противоречит росту коэффициента суммарной антикоагулянтной активности крови (КСПА) на 62%. В целом, сложившаяся картина свидетельствует о том, что у этих экспериментальных животных тромбообразование инициируется раньше, чем у человека, и нарастает быстрее до этапа полимеризации фибрин-мономеров, который у них значительно замедлен. Далее происходит небольшое ускорение латеральной сборки фибрин-полимера, и формируется тромб, уступающий немного по плотности, но не по интенсивности лизиса. Все это реализуется на фоне снижения активности антикоагулянтов, таких как антитромбин III, протеин С, на протеолитическом этапе свертывания и усиления действия других антикоагулянтов и системы плазмينا на этапе полимеризации. Одной из особенностей проведенного исследования является то, что выполнялась оценка артериальной крови у крысы, однако такие интегративные клоттинговые показатели, как АЧТВ, ПВ, ТВ, уровни активности антитромбина

Таблица 2 / Table 2

*Нормальные значения и различия некоторых показателей общего анализа крови, коагулограммы, низкочастотной пьезотромбоэластографии у людей и крыс-самцов линии Wistar / Normal values and differences in some indicators of the general blood test, coagulogram, and low-frequency piezotromboelastography both in humans and Wistar line male rats*

Показатель* / Test*	Крысы-самцы / male rats Wistar, n=42 Me [Q1; Q3]	Человек / Human, n=120 Me [Q1; Q3]	Me крыса / Me человек Me rat / Me human, %
ИКК, о.е. / CCI, г.у.	-5,71 [10,0; 3,89]	-27,25 [36; 16,15]	>79,04
T <sub>12</sub> , мин / T <sub>12</sub> , min	0,7 [0,5; 1,0]	0,9 [0,6; 1,3]	<22,0
T <sub>2</sub> , мин / T <sub>2</sub> , min	2,8 [2,4; 3,3]	4,0 [3,0; 4,9]	<30,0
КТА, о.е. / TAC, г.у.	45,45 [39,62; 56,38]	29,4 [25; 38]	>35,31
ИКД, о.е. / CDI, г.у.	59,88 [47,62; 70,58]	37,6 [32,5; 43,5]	>37,2
T <sub>3</sub> , мин / T <sub>3</sub> , min	5,4 [4,7; 6,13]	7,6 [5,9; 9,2]	<28,94
T <sub>5</sub> , мин / T <sub>5</sub> , min	26,8 [23,68; 32,02]	34,0 [27,0; 38,0]	<21,18
МА, о.е. / MA, г.у.	462,0 [412,0; 492,0]	502,5 [466,5; 560,5]	<8,05
ИПС, о.е. / CPI, г.у.	9,3 [8,05; 10,73]	16,75 [13,65; 19,65]	<44,48
ИТС, о.е. / TVCI, г.у.	17,0 [13,52; 21,74]	15,6 [14; 18,1]	>8,47
ИРЛС / ILCR, %	1,12 [0,7; 2,82]	0,9 [0,1; 2,5]	>19,64
КСПА, о.е. / TAAC, г.у.	6,26 [5,55; 7,16]	2,35 [1,9; 2,8]	>62,46
Тромбоциты, *10 <sup>9</sup> /л / Platelets, *10 <sup>9</sup> /L	830,0 [763,0; 921,0]	259,0 [222; 301]	>68,8
Гематокрит/Нematocrit, %	44,95 [39,4; 47,5]	43,64 [40,46; 46,66]	>3,0
Фибриноген, г/л / Fibrinogen, g/L	2,0 [1,73; 2,33]	2,62 [2,2; 3,3]	<23,66
АТ III, %	97,95 [92,25; 104,0]	111,26 [97,49; 126,62]	<11,96
Плазминоген /Plasminogen, %	90,5 [86,5; 98,5]	108,35 [87,93; 127,74]	<16,47
Протеин С / Protein C, %	79,5 [70,75; 83,75]	111,38 [91,33; 122,96]	<28,62
АЧТВ, с /APPT, sec	32,0 [29,5; 33,15]	34,86 [31,51; 38,8]	<8,2
ПВ, с /PT, sec	14,2 [11,3; 15,12]	12,55 [11,42; 13,18]	>13,15
ТВ, с /TT, sec	52,7 [49,3; 55,88]	19,09 [16,85; 20,69]	>63,78

Примечание: \* см. наименование показателя НПТЭГ в табл. 1 / Note: \* see the name of the LFPTEG technique index in Tab.1.

Таблица 3 / Table 3

*Сравнение показателей гемостаза крыс-самцов линии Wistar с человеком тестом Манна-Уитни и тестом пермутации с генерацией 10000 псевдодыборок / Comparison of Wistar line male rats hemostasis indicators with human ones by the Mann-Whitney test and the permutation test with the generation of 10,000 pseudo-samples*

Показатель**/ Test**	P <sub>1</sub>	P <sub>2</sub>	P <sub>3</sub>	P <sub>4</sub>
ИКК*, о.е. / CCI*, г.у.	2,2e-16	2,2e-16	1,68e-15	9,36e-16
T <sub>1</sub> *, мин / T <sub>1</sub> *, min	1,2e-06	2,2e-16	5,39e-06	9,36e-16
T <sub>2</sub> *, мин / T <sub>2</sub> *, min	3e-16	2,2e-16	2,09e-15	9,36e-16
КТА*, о.е. / TAC*, г.у.	2,2e-16	2,2e-16	1,68e-15	9,36e-16
ИКД*, о.е. / CDI*, г.у.	2,2e-16	2,2e-16	1,68e-15	9,36e-16
T <sub>3</sub> *, мин / T <sub>3</sub> *, min	2,2e-16	2,2e-16	1,68e-15	9,36e-16
T <sub>5</sub> *, мин / T <sub>5</sub> *, min	1,12e-09	2,2e-16	6,11e-09	9,36e-16
МА*, о.е. / MA*, г.у.	5,44e-15	2,2e-16	3,47e-14	9,36e-16
ИПС*, о.е. / CPI*, г.у.	2,2e-16	2,2e-16	1,68e-15	9,36e-16
ИТС*, о.е. / TBCI*, г.у.	0,0069	2,2e-16	0,03	9,36e-16
ИРЛС / ILCR, %	0,039	0,0174	0,15	0,067
КСПА*, о.е/ ТААС*, г.у.	2,2e-16	2,2e-16	1,68e-15	9,36e-16
Тромбоциты*, *10 <sup>9</sup> /л / Platelets*, *10 <sup>9</sup> /L	2,2e-16	2,2e-16	1,68e-15	9,36e-16
Гематокрит/Hematocrit, %	0,23	0,27	0,84	0,98
Фибриноген*, г/л / Fibrinogen*,g/L	2,2e-16	2,2e-16	1,68e-15	9,36e-16
АТ III*, %	1,19e-14	2,2e-16	7,02e-14	9,36e-16
Плазминоген* /Plasminogen*, %	2,34e-09	2,2e-16	1,12e-08	9,36e-16
Протеин С* / Protein C*, %	2,2e-16	2,2e-16	1,68e-15	9,36e-16
АЧТВ*, с /APPT*, sec	2,68e-14	2,2e-16	1,47e-13	9,36e-16
ПВ*, с /PT*, sec	0,027	3e-04	0,11	0,001
ТВ*, с /TT*, sec	2,2e-16	2,2e-16	1,68e-15	9,36e-16

Примечание: \* p < 0,05 / Note: \* p < 0,05; \*\* см. Наименование показателя НПТЭГ в табл.1 / Note: \*\* see the name of the LFPTEG technique index in Tab. 1. p<sub>1</sub> – уровень значимости для теста Манна-Уитни, p<sub>2</sub> – уровень значимости для теста пермутации, p<sub>3</sub> и p<sub>4</sub> – уровни значимости для теста Манна-Уитни и теста пермутации, скорректированные на множественные сравнения по методу Беньямини-Йекутили / p<sub>1</sub> – significance level for the Mann-Whitney test, p<sub>2</sub> – significance level for the permutation test, p<sub>3</sub> and p<sub>4</sub> – significance levels for the Mann-Whitney test and the permutation test adjusted for multiple comparisons by the Benjamin-Yekutieli method

и количество фибриногена оказались приближенные к аналогичным уровням в венозной крови [13].

Кроме того, забор венозной крови без консерванта за 8-10 секунд у мелкого лабораторного животного (крыса или мышь) для выполнения НПТЭГ мало возможен без искажения показателей, в виду необходимости изъятия большого объема крови за короткий промежуток времени, от 0,5-1 мл, и склонности к более раннему началу свертывания у грызунов [14]. По данным литературы получены схожие результаты методикой тромбоэластографии (ТЭГ) у крысы человека при исследовании артериальных образцов с цитратом натрия из бедренной артерии [14]. Исследование и сравнение функции тромбоцитов импедансной агрегатометрией и показателей ротационной тромбоэластометрии (РОТЭМ) в венозной и артериальной крови у человека показали отсутствие клинически значимых отличий, не смотря на их статистическую значимость [15]. Сходные результаты получены методикой ТЭГ,

когда отмечалась тенденция в артериальной крови к более быстрому и сильному свертыванию, без отличий по лизису сгустка [16].

Как видно из таблицы 2 медиана показателя ТВ (Me=52,7 и 19,09 с) на 64% больше у крысы. По данным Lewis J.H. и соавт., это результат присутствия в плазме крыс особого ингибитора тромбина [17], и как было показано другими авторами сильно зависит от вида используемого тромбина и типа коагулометра [18, 19]. Полученные значения тромбинового времени могут не отличаться от человеческих или быть в разной степени больше его [13, 17, 18, 19]. Таким образом, НПТЭГ вносит определенную ясность в это противоречие, рассматривая этап преобразования фибриногена в фибрин и его полимеризацию в цельной крови без использования стимулятора и ингибиторов свертывания, таких как тромбин и цитрат натрия.

Перечисленные выше особенности следует учитывать при планировании и проведении эксперимента

с использованием в качестве лабораторных животных крыс линии Wistar. Например, гипотетическое исследование, направленное на проверку нового гемостатического агента, в котором моделируется травма паренхиматозного органа (печени, селезенки), может закончиться ложноположительными результатами в виду того, что кровотечение у крыс склонно останавливаться самостоятельно в течение первых 6 минут [6] за счет повышенного тромбогенного потенциала. С другой стороны, по тем же причинам может быть облегчено моделирование контролируемого геморрагического [7], травматического шока с посттравматической коагулопатией и их исходом в полиорганную недостаточность [1, 2, 3, 5].

Использование современных инструментов для оценки системы гемостаза, таких как НПТЭГ, наряду со стандартными клоттинговыми тестами позволяет учесть особенности этой системы у экспериментального животного и детально охарактеризовать каждый этап свертывания в норме и при патологии, а также экстраполировать полученные результаты на человека.

### Заключение

Система гемостаза лабораторных крыс линии Wistar, изученная с помощью низкочастотной пьезотромбоэластографии, стандартных клоттинговых тестов и основных компонентов антикоагулянтной и фибринолитической системы, в целом не отличается

от системы гемостаза у человека, за исключением значительного усиления I-II фаз свертывания, протеолитического этапа III фазы и такого же значительного ослабления ее полимеризационного этапа, возможно, за счет увеличения активности системы плазмينا, антикоагулянтной активности крови на этом этапе и снижения уровня фибриногена. Эволюционно, учитывая необходимость постоянно бороться в популяции за пищу и возможность размножения, и тем самым неизбежно получать увечья, такие особенности можно считать оправданными, потому что лучше раньше образованный «плохой» тромб, чем позже «хороший». Полученные знания следует учитывать при планировании и проведении эксперимента для адекватной трактовки результатов.

### Дополнительная информация

#### Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

#### Прозрачность исследования

Исследование не имело спонсорской поддержки. Исследователи несут полную ответственность за предоставление окончательной версии рукописи в печать.

#### Декларация о финансовых и иных действиях

Все авторы принимали участие в разработке концепции и дизайне исследования и в написании рукописи. Окончательная версия рукописи была одобрена всеми авторами. Авторы не получали гонорар за исследование.

### Список литературы

1. Valparaiso AP, Vicente DA, Bograd BA, Elster EA, Davis TA. Modeling acute traumatic injury. *J Surg Res*. 2015; 194: 1: 220-32
2. Weckbach S, Perl M, Heiland T, Braumüller S, Stahel PF, Flierl MA, Ignatius A, Gebhard F, Huber-Lang M. A New Experimental polytrauma model in rats: molecular characterization of the early inflammatory response. *Hindawi Publishing Corporation. Mediators of Inflammation*. 2011; 2012: 1-9.
3. Darlington DN, Craig T, Gonzales MD, Schwacha MG, Cap AP, Dubick MA. Acute coagulopathy of trauma in the rat. *Shock*. 2013; 39: 5: 440-6.
4. Demirel AH, Basar OT, Ongoren AU, Bayram E, Kisakurek M. Effects of primary suture and fib sealant on hemostasis and liver regeneration in an experimental liver injury. *World J Gastroenterol*. 2008; 14: 1: 81-84.
5. Kilicoglu B, Eroglu E, Kilicoglu SS, Kismet K, Eroglu F. Effect of abdominal trauma on hemorrhagic shock-induced acute lung injury in rats. *World J Gastroenterol*. 2006; 12: 22: 3593-6.
6. Morgan CE, Prakash VS, Vercammen JM, Pritts T, Kibbe MR. Development and validation of 4 different rat models of uncontrolled hemorrhage. *JAMA Surg*. 2015; 150: 4: 316-24.
7. Rönn T, Lendemans S, de Groot H, Petrat F. A new model of severe hemorrhagic shock in rats. *Comp Med*. 2011; 61: 5: 419-26.
8. Кинзерский А.А., Долгих В.Т., Коржук М.С. Методика получения референтных значений низкочастотной пьезотромбоэластографии у крыс-самцов линии Wistar. *Сиб. мед. журн*. 2016; 142: 3: 25-28.
9. Свидетельство о государственной регистрации базы данных №2016620346/ 15.03.16. Бюл. №4. Кинзерский А.А., Долгих В.В., Коржук М.С. Нормальные значения низкочастотной пьезотромбоэластографии крыс-самцов Wistar, полученные под ксилазин+тилетамин-золазепам анестезией при заборе крови из сонной артерии. (in Russ.)
10. Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2017620486/ 02.05.17. Бюл. №5. Кинзерский А.А., Петрова Ю.А., Коржук М.С., Долгих В.Т. Нормальные значения общего, биохимического анализа крови и коагулограммы крыс-самцов линии Wistar. (in Russ.)

### References

1. Valparaiso AP, Vicente DA, Bograd BA, Elster EA, Davis TA. Modeling acute traumatic injury. *J Surg Res*. 2015; 194: 1: 220-32
2. Weckbach S, Perl M, Heiland T, Braumüller S, Stahel PF, Flierl MA, Ignatius A, Gebhard F, Huber-Lang M. A New Experimental polytrauma model in rats: molecular characterization of the early inflammatory response. *Hindawi Publishing Corporation. Mediators of Inflammation*. 2011; 2012: 1-9.
3. Darlington DN, Craig T, Gonzales MD, Schwacha MG, Cap AP, Dubick MA. Acute coagulopathy of trauma in the rat. *Shock*. 2013; 39: 5: 440-6.
4. Demirel AH, Basar OT, Ongoren AU, Bayram E, Kisakurek M. Effects of primary suture and fib sealant on hemostasis and liver regeneration in an experimental liver injury. *World J Gastroenterol*. 2008; 14: 1: 81-84.
5. Kilicoglu B, Eroglu E, Kilicoglu SS, Kismet K, Eroglu F. Effect of abdominal trauma on hemorrhagic shock-induced acute lung injury in rats. *World J Gastroenterol*. 2006; 12: 22: 3593-6.
6. Morgan CE, Prakash VS, Vercammen JM, Pritts T, Kibbe MR. Development and validation of 4 different rat models of uncontrolled hemorrhage. *JAMA Surg*. 2015; 150: 4: 316-24.
7. Rönn T, Lendemans S, de Groot H, Petrat F. A new model of severe hemorrhagic shock in rats. *Comp Med*. 2011; 61: 5: 419-26.
8. Kinzerskii AA, Dolgikh VT, Korzhuk MS. The Method of obtaining the reference values of the low frequency pleasurability from male rats of Wistar line. *Sib. med. zhurn*. 2016; 142: 3: 25-28. (in Russ.)
9. Svidetel'stvo o gosudarstvennoy registratsii bazy dannykh №2016620346/ 15.03.16. Biul. №4. Kinzerskii A.A., Dolgikh V.V., Korzhuk M.S. Normal'nye znacheniiia nizkochastotnoi p'ezotromboelastografii krys-samtsov Wistar, poluchennnye pod ksilazin+tiletamin-zolazepam anesteziei pri zabore krovii iz sonnoi arterii. (in Russ.)
10. Svidetel'stvo o gosudarstvennoy registratsii bazy dannykh № 2017620486/ 02.05.17. Biul. №5. Kinzerskii A.A., Petrova Iu.A., Korzhuk M.S., Dolgikh V.T. Normal'nye znacheniiia obshchego, biokhimeskogo analiza krovii i koagulogrammy krys-samtsov linii Wistar. (in Russ.)
11. Solov'ev MA, Tiutrin II, Udut VV, Klimentkova VF. Experience in diagnostics and monitoring of critical violations. *Med.-biol. i sots.*

11. Соловьев М.А., Тютрин И.И., Удут В.В., Клименкова В.Ф. Опыт диагностики и мониторинга критических нарушений. *Мед.-биол. и соц.-психол. пробл. безопасности в чрезв. ситуациях*. 2013; 4: 55-60.
12. Mangiatico SS. An R Companion for the handbook of biological statistics version 1.3.2. [Internet]. New Brunswick. NJ: *Rutgers Cooperative Extension*. 2015.
13. Николаев В.Ю., Шахматов И.И., Киселёв В.И., Вдовин В.М. Система гемостаза у крыс при различных режимах однократной гипертермической нагрузки. *Современные проблемы науки и образования*. 2014; 4.
14. Wohlauer MV, Moore EE, Harr J, Gonzalez E, Fragoso M, Silliman CC. A standardized technique for performing thromboelastography in rodents. *Shock*. 2011; 36: 55: 524–526.
15. Oswald E, Finsterwalder T, Innerhofer N, Haas T, Mittermayr M, Strohmaier S, Innerhofer P. Comparison of arterial versus venous parameters of rotational thromboelastometry and multiple platelet function analyzer: results of a pilot study. *Scand J Clin Lab Invest*. 2013; 73: 7: 538–45.
16. Manspeizer HE, Imai M, Frumento RJ, Parides MK, Mets B, Bennett-Guerrero E. Arterial and venous thrombelastograph variables differ during cardiac surgery. *Anesth Analg*. 2001; 93: 2: 277–81.
17. Lewis JH, Van Thiel DH, Hasiba U, Spero JA, Gavaler J. Comparative hematology and coagulation: studies on rodentia (rats). *Comp Biochem Physiol A Comp Physiol*. 1985; 82: 1: 211–5.
18. Романовская В.Н., Старосельская А.Н., Жаворонков Л.П. Состояние системы гемостаза у крыс Вистар при оксидативном стрессе различной природы. *БЭБиМ*. 2012; 153:3: 286–289.
19. García-Manzano A, González-Llaven J, Lemini C, Rubio-Póo C. Standardization of rat blood clotting tests with reagents used for humans. *Proc West Pharmacol Soc*. 2001; 44: 153–5.
20. *psikhol. probl. bezopasnosti v chrezv. situatsiyakh*. 2013; 4: 55-60. (in Russ.)
21. Mangiatico SS. An R Companion for the handbook of biological statistics version 1.3.2. [Internet]. New Brunswick. NJ: *Rutgers Cooperative Extension*. 2015.
22. Nikolaev VYu, Shakhmatov II, Kiselev VI, Vdovin VM. Hemostasis System in rats at different modes of a single hyperthermic load. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*. 2014; 4. (in Russ.)
23. Wohlauer MV, Moore EE, Harr J, Gonzalez E, Fragoso M, Silliman CC. A standardized technique for performing thromboelastography in rodents. *Shock*. 2011; 36: 55: 524–526.
24. Oswald E, Finsterwalder T, Innerhofer N, Haas T, Mittermayr M, Strohmaier S, Innerhofer P. Comparison of arterial versus venous parameters of rotational thromboelastometry and multiple platelet function analyzer: results of a pilot study. *Scand J Clin Lab Invest*. 2013; 73: 7: 538–45.
25. Manspeizer HE, Imai M, Frumento RJ, Parides MK, Mets B, Bennett-Guerrero E. Arterial and venous thrombelastograph variables differ during cardiac surgery. *Anesth Analg*. 2001; 93: 2: 277–81.
26. Lewis JH, Van Thiel DH, Hasiba U, Spero JA, Gavaler J. Comparative hematology and coagulation: studies on rodentia (rats). *Comp Biochem Physiol A Comp Physiol*. 1985; 82: 1: 211–5.
27. Романовская В.Н., Старосельская А.Н., Жаворонков Л.П. Состояние системы гемостаза у крыс Вистар при оксидативном стрессе различной природы. *БЭБиМ*. 2012; 153:3: 286–289. (in Russ.)
28. García-Manzano A, González-Llaven J, Lemini C, Rubio-Póo C. Standardization of rat blood clotting tests with reagents used for humans. *Proc West Pharmacol Soc*. 2001; 44: 153–5.

### Информация об авторах

1. Кинзерский Александр Анатольевич - аспирант кафедры общей хирургии, e-mail: kinzerskij@mail.ru
2. Долгих Владимир Терентьевич – д.м.н., профессор, заслуженный деятель науки РФ, заведующий кафедрой патофизиологии с курсом клинической патофизиологии, e-mail: prof\_dolgih@mail.ru
3. Коржук Михаил Сергеевич - д.м.н., профессор, заведующий кафедрой общей хирургии, e-mail: gensurg@mail.ru
4. Кинзерская Дарья Андреевна - врач стоматолог-терапевт, e-mail: k.dasha.doctor@gmail.com
5. Зайцева Валерия Евгеньевна – студентка 6 курса лечебного факультета, e-mail: zaiceva.valeriya94@icloud.com

### Information about the Authors

1. Alexander Alexandrovich Kinzerskij - postgraduate student of Department of the General surgery, e-mail: kinzerskij@mail.ru
2. Vladimir Terentieevich Dolgikh – M.D., Honoured Scientist of the Russian Federation, Head of Department of the Pathophysiology including Clinical Pathophysiology Course of Omsk State Medical University, e-mail: prof\_dolgih@mail.ru
3. Mikhail Sergeevich Korzhuk - M.D., Head of Department of the General surgery, e-mail: gensurg@mail.ru
4. Daria Andreevna Kinzerskaya - dentist-therapist, e-mail: k.dasha.doctor@gmail.com
5. Valeria Evgenievna Zaytseva – the 6th year undergraduate of the Medical Faculty, e-mail: zaiceva.valeriya94@icloud.com

### Цитировать:

Кинзерский А.А., Долгих В.Т., Коржук М.С., Кинзерская Д.А., Зайцева В.Е. Особенности системы гемостаза крысы линии Wistar, важные для экспериментальной хирургии. *Вестник экспериментальной и клинической хирургии* 2018; 11: 2: 126-133. DOI: 10.18499/2070-478X-2018-11-2-126-133.

### To cite this article:

Kinzersky A.A., Dolgikh V.T., Korzhuk M.S., Kinzerskaya D.A., Zaytseva V.E. The Wistar Rat Line Hemostatic System Characteristics to be Important for Experimental Surgery. *Journal of experimental and clinical surgery* 2018; 11: 2: 126-133. DOI: 10.18499/2070-478X-2018-11-2-126-133.