



*Conferința Științifică Națională, consacrată jubileului de  
95 ani din ziua nașterii academicianului Boris Melnic,  
Universitatea de Stat din Moldova, 13 februarie 2023.*

**CZU: 612.13:612.115:616-005.1**

**TERMOREGLAREA ÎN CONDIȚII DEOSEBITE ȘI  
MECANISMELE DE COAGULARE A SÂNGELUI**

**Liuba TURUTA, ORCID 0000-0000-7065-8698**

**Departamentul Biologie și Ecologie,  
Universitate de Stat din Moldova**

***Summery.** Extreme temperatures can lead to exceeding the capacities of the thermoregulation mechanism, wich imposes an overload of the circulatory system several times and implicitly to the high risk of dysfunctions in the hemostasis and blood coagulation system. Blood coagulation have an important role in limiting blood loss and repairing vascular damage. If the temperatures rises to the upper level the impact on body functions are very strong and becomes critical for survival. Hyperhermia lasting 6, 120, 180 min. leads to a visible change in the amount of fibrinogen and the number of*



*platelets, which is manifested by their increase. Growing the level of fibrinogen and the number of platelets in the blood under the action of hyperthermia of different duration leads to an increase in blood coagulability, by reducing the coagulation time.*

## INTRODUCERE

Temperaturile extreme pot conduce la depășirea capacității mecanismelor de termoreglare ceea ce impune o supraîncărcare a aparatului circulator de câteva ori și implicit la risc ridicat de disfuncții în sistemul de hemostază [8].

Coagularea sângelui joacă un rol important în limitarea pierderilor de sânge și în repararea leziunilor vasculare. Înțelegerea mecanismului coagulării a evoluat de-a lungul ultimului secol, iar îmbunătățirile tehnologice oferă posibilitatea monitorizării în diferitele ei faze. Nu există o definiție universal acceptată pentru hemostază. Ea reprezintă “controlul sangerării fără consecințe trombotice patologice” [6]. Coagularea este funcția hemostatică majoră reponsabilă de prevenirea și oprirea sângerării cauzată de o injurie [4]. Coagularea normală implică interacțiunea mai multor componente: endoteliu vascular, plachete și glicoproteine plasmatice. Ea este controlată strâns prin mecanisme de feed back pozitive și negative și contrabalansată de sistemul fibrinolitic. Endoteliul joacă un rol crucial în menținerea stării fluide a sângelui și în limitarea formării cheagurilor doar la nivel local. După producerea unei leziuni vasculare, celulele endoteliale exprimă factori procoagulanți de tipul factor tisular (FT), activatorul inhibitorului plasminogenului (PAI), factorul von Willebrand (FvW) și receptori activați de proteaza (PAR) iar în scopul inhibării formării cheagului, exprimă inhibitorul căii factorului tisular (tissue factor pathway inhibitor - TFPI), heparan sulfat (HS), trombomodulina, receptorul endotelial al proteinei C, activatorul tisular al plasminogenului (t-Pa), ecto ADP-aza, prostaciclina, oxid nitric și ADAMTS, o metalo-proteaza care are rolul de a limita activitatea procoagulantă a FvW [2,4,6,7]. Plachetele au mai multe roluri în timpul hemostazei: aderare, degranulare, agregare, fuziune și procoagulant [4,5]. Când endoteliul este lezat, este expusă matricea subendotelială, bogată în FvW și collagen, care favorizează aderarea plachetelor prin intermediul receptorilor glicoproteici

(GP) Ib/IX/V și Ia/IIa și inițierea activării (3). În cursul aderării sunt activați receptorii plachetari GP IIb/IIIa, care se pot lega de fibrinogen și FvW, rezultând agregarea plachetară. Plachetele activate eliberează în spațiul extracelular conținutul granulelor alfa și dense. Procesul degranulării este dependent de sinteza prostaglandinelor [1,3,]. În urma degranulării plachetele eliberează în spațiul extracelular material procoagulant ca: FvW, factorul V, beta-tromboglobulina, factorul 4 plachetar, fibrinogen, adenosin difosfat (ADP), serotonina, calciu etc. Substanțele eliberate, în special, ADP, facilitează o buclă de feedback pozitiv care accentuează eliberarea de ADP și tromboxan A<sub>2</sub>, rezultând agregarea secundară. Plachetele au rol procoagulant și prin furnizarea suprafeței membranare fosfolipidice (factorul 3 plachetar-F3P) pentru desfășurarea reacțiilor proteinelor coagulării. În modelul clasic al coagulării glicoproteinele plasmatică acționează în cascadă, pe două căi, intrinsecă și extrinsecă, care se întâlnesc la nivelul activării factorului X (calea comună), rezultând formarea trombinei care clivează fibrinogenul în monomeri de fibrina care sunt polimerizați și stabilizează cheagul plachetar [10]. Acest model în cascadă este util înțelegerii testelor de laborator, dar nu reflectă procesul coagulării in vivo, care este mai complex. Modelul actual al coagulării, este bazat doar pe o cale comună, în care interacțiunea dintre FT și factorul VII (FVII) are un rol esențial și se desfășoară în 3 faze care se întrepătrund: inițierea, amplificarea și propagarea [5].

În faza de inițiere, lezarea țesutului transformă endoteliul într-o suprafață activă, care favorizează coagularea localizată [6]. Factorul inițiator al hemostazei este FT, o glicoproteină membranară expusă la suprafața pericitelor și fibroblastilor subendoteliali [7]. Acesta se leagă (și activează) de FVII, o serin-protează care circulează normal liber în sânge și în forma activată în concentrații mici [2]. Complexul FT-FVIIa activează factorii X și IX. FXa (tot o serin-protează) transformă protrombina (factorul II) în trombina și factorul V în factorul Va. Trombina astfel generată este în cantități infime, dar suficiente pentru a iniția formarea cheagului și a activa plachetele [4].

În timpul amplificării cheagului, generarea de trombina este crescută prin bucle de feed-back pozitiv. Producerea FVIIa are efect de feed back pozitiv, rezultând o cantitate mai mare de complex FT-VIIa. Procesul se mută de la nivelul celulei purtătoare de FT la

nivelul plachetelor care vor juca un rol central. În cursul aderării ele sunt activate parțial.

Cantitățile mici de trombină, deja formate pe calea FT-FVIIa/FXa le pot activa complet prin intermediul receptorilor PAR-1 și PAR-4. Trombina activează și o serie de co-factori non-enzimatici, ca FV și FVIII care vor amplifica formarea protrombinei. În timpul activării, plachetele eliberează FV parțial activat care va fi complet activat de trombină și FXa. O parte din trombina formată inițial se leagă de receptori non-PAR și activează la suprafața plachetelor FVIII și FXI. FXIa (o serina-proteaza) mediază activarea FIX iar FVIIIa servește drept co-factor. Serin-proteaza FIXa activează FX iar FVa servește drept cofactor. În timpul propagării cheagului, proteazele active se combina cu cofactorii lor la suprafața plachetelor și generează cantitățile hemostatice de trombina.

Complexul FVIIIa-FIXa (tenaza) activează FX pe suprafața plachetelor cu o viteză de 50 de ori mai mare decât în cazul FT-VIIa iar FXa generat se complexează direct cu FVa (protrombinaza) pentru a converti cantități mari de protrombină în trombină [5]. Procesul necesită prezența F3P și a calciului. Trombina va conduce la formarea unui cheag stabil prin transformarea fibrinogenului în fibrină dar, și prin activarea factorului stabilizator al fibrinei (FXIII) care polimerizează monomerii de fibrina și, atunci când este în cantități mari, prin activarea inhibitorului fibrinolizei activabil prin trombina (TAFI). Teoria modernă a coagulării nu exclude activarea de contact, descrisă clasic.

Astfel, chirurgia cardiacă cu circulație extracorporeală (CEC) reprezintă un model de activare de contact care induce coagulopatie și inflamație [7].

Suprafața artificială activează FXII în prezența prekalikreinei (PK), care circulă în complex cu kininogenul cu greutate moleculară mare (KGMM). Eliberarea kalikreinei activează la randul ei FXII. Acest feed back pozitiv conduce la creșterea rapidă a celor 2 factori care vor amorsa coagularea și fibrinoliza. În plus, kalikreina activează complementul și neutrofilele care contribuie la declanșarea răspunsului inflamator sistemic. Mulți dintre factorii de coagulare sunt serin-proteaze, iar procesul de coagulare este reglat de inhibitori de serin proteaze, printre care proteinele C și S, TFPI și antitrombina.

Din multitudinea factorilor care exercită efecte patogene asupra mecanismelor sistemului de hemostază și coagulare a sângelui este și influența temperaturilor ridicate asupra animalelor, omului. În cazul când ea se ridică la nivele superioare impactul asupra funcțiilor corporale este foarte sever și devine critic pentru supraviețuire. [11,12].

Luând în considerație actualitatea temei date, scopul cercetării a fost studiul unor factori coagulanți (fibrinogenul, trombocite) și a timpului de coagulare (începutul și sfârșitul coagulării) la șobolanii de laborator, la acțiunea temperaturii înalte, cu diferită perioadă de acțiune.

### **MATERIAL ȘI METODE**

Pentru a determina acțiunea hipertermiei ( $t=38,5^{\circ}\text{C}$ ) asupra unor factori coagulanți a fost necesar de a studia cantitatea de fibrinogen, trombocite și timpul de coagulare la șobolanii martori, care reprezentau lotul animalelor intacte. În experiențe au fost folosiți 40 de șobolani. Probele de sânge, în volum de 0,7-1,0 ml s-a colectat după secționarea vârfului cozii, la o anestezie locală.

### **REZULTATE ȘI DISCUȚII**

În lotul animalelor martori au fost examinați șobolani la care s-a recoltat sânge și la care s-a determinat factorii coagulanți și timpul de coagulare. Cantitatea de fibrinogen la șobolanii martori constituie  $1.6 \pm 0.07 \text{ g/l}$ ; numărul de trombocite -  $495.3 \pm 11.81 \times 10^9 / \text{l}$ ;  $t_1 - 31 \pm 2.08 \text{ sec}$  și  $t_2 - 31.7 \pm 2.18 \text{ sec}$ . Un scop important al lucrării date a fost studierea unor factori coagulanți și timpul de coagulare la acțiunea hipertermiei de diferită durată (60 min, 120min, 180min).

La șobolanii care formau lotul II de experiență, supuși acțiunii temperaturii înalte timp de 60 min, a crescut față de șobolanii martori cantitatea de fibrinogen ( $2.03 \pm 0.17 \text{ g/l}$  față de  $1.6 \pm 0.07 \text{ g/l}$ ); numărul de trombocite  $604.01 \pm 5.9 \times 10^9 / \text{l}$  față de  $495.3 \pm 11.81 \times 10^9 / \text{l}$  și corespunzător timpul de coagulare numeric a scăzut  $t_1 - 22.3 \pm 2.67 \text{ sec}$ . față de  $31,0 \pm 2.08 \text{ sec}$ . și  $t_2 - 22.9 \pm 2.8 \text{ sec}$  față de  $31.7 \pm 2.18 \text{ sec}$ ) mărindu-se astfel coagulabilitatea sanguină.

Mărind durata acțiunii stresului termic asupra șobolanilor experimentali, până la 120 min, am constatat că hipertermia duce în continuare la modificări esențiale a indicilor cercetați.

Din datele obținute remarcăm că cantitatea de fibrinogen, la șobolanii care formau lotul III de experiență aproape că a rămas neschimbată față de lotul precedent ( $2.1 \pm 0.32$  g/l față de  $2.03 \pm 0.17$  g/l), dar comparând aceste rezultate cu nivelul proteinei plasmatice la animalele martori ( $2.1 \pm 0.32$  g/l față de  $1.6 \pm 0.07$  g/l) depistăm o creștere de circa 31%.

Schimbări mai evidente am obținut la numărarea trombocitelor, unde s-a manifestat o majorare vădită a numărului lor față de același indice la șobolanii lotului II ( $629.8 \pm 7.21 \times 10^9$  /l față de  $604.01 \pm 5.9 \times 10^9$  /l). Însă, analizând datele obținute în acest lot cu cele ale șobolanilor martori conchidem că numărul lor a crescut până  $629.4 \pm 7.21 \times 10^9$  /l față de  $495.3 \pm 11.81 \times 10^9$  /l ceea ce constituie o diferență de 15%.

La determinarea timpului de coagulare la acești șobolani am constatat pentru  $t_1$ - $22.8 \pm 1.48$  sec și  $t_2$ -  $23.3 \pm 1.54$  sec, date aproape constante față de cele ale lotului predecesor.

La influența hipertermiei cu o durată mai mare (180 min.) s-au depistat următoarele modificări: pentru fibrinogen –  $2.3 \pm 0.26$  g/l, trombocite  $650 \pm 5.77 \times 10^9$  /l, timpul de coagulare pentru  $t_1$ - $29.7 \pm 3.39$  sec și  $t_2$ -  $30.4 \pm 3.35$  sec.

Analizând datele primite în lotul 4 putem menționa că cantitatea de fibrinogen nu s-a schimbat față de loturile experimentale anterioare. Schimbări mai evidente s-au obținut la numărarea trombocitelor care și-au mărit numărul de la ( $466.6 \pm 5.77$  mii/ $10^9$  până la  $650.3 \pm 11.81$  mii/ $10^9$ ). Aceeași tendință spre majorare s-a manifestat și la determinarea timpului de coagulare care constituie pentru  $t_1$ -  $29.7 \pm 3.39$  sec și  $t_2$  -  $30.4 \pm 3.35$  sec față de  $t_1$ - $31 \pm 2.08$  sec și  $t_2$ -  $31.7 \pm 2.18$  sec, la șobolanii lotului II.

Din datele obținute am constatat că acțiunea stresului termic, timp de 60 min., 120 min și 180 min, asupra șobolanilor de laborator duce la început la o creștere vădită a cantității de fibrinogen și a numărului de trombocite. Ca urmare, mărirea în sânge a conținutului de fibrinogen, duce la intensificarea aglutinării plăcuțelor sanguine și ca rezultat crește coagulabilitatea sângelui, ceea ce ne denotă faptul că șobolanii sunt supuși unei stări stresorice – reacție de răspuns nespecifică a organismului la solicitarea acestuia.



După Selye (1936) la șobolani apare prima stadiu a sindromului general de adaptare- reacția de alarmă, caracterizată prin scăderea rezistenței generale a organismului sub cea medie. Permeabilitatea pereților capilarilor se mărește și pot surveni hemoragii multiple.

Pentru a preîntâmpina aceste modificări nefaste ale organismului, animalele supuse acțiunii stresului termic se adaptează greu la situația nou creată prin comportament excitabil și rezistență slabă.

Este știut faptul că în stare normală a organismului în circulația sanguină sunt antrenate doar 70% din numărul total de trombocite, 30% se conțin în splină, servind ca rezervuar al acestora în condiții extreme.

Trombocitele participă la reacțiile imuno-biologice ale organismului, datorită capacității lor de a fagocita corpurile străine, viruși și complexe imuni. Ele conțin o cantitate mare de serotonină și histamină, care au o acțiune asupra permeabilității vaselor sangvine mici, asigurând astfel o funcție de protecție, evitând hemoragiile posibile în organism. În cazul stresului termic au loc modificări esențiale în sistemul nervos simpatic, care duc la accelerarea coagulabilității sângelui.

Se poate crede că, la excitarea sistemului nervos se formează în organism niște substanțe, care accelerează coagularea sângelui. Se știe, de exemplu, că adrenalina, secreția căreia din glandele suprarenale este stimulată de sistemul nervos și se intensifică la stresul termic, mărește coagulabilitatea sanguină prin aceea că duce la contractarea splinei și eliberarea din ea a plăcuțelor sanguine, majorând numărul lor.

Totodată adrenalina îngustează arterele și arteriolele, contribuind astfel la micșorarea hemoragiei. Importanța adaptativă a acestor modificări este evidentă. La acțiunea stresului termic timp de 60 min se constată o mărire a coagulabilității sanguine, ceea ce ne vorbește despre dependența indirectă dintre numărul majorat de trombocite și scurtarea timpului de coagulare; adică cu cât trombocitele sunt mai multe cu atât timpul de coagulare numeric este mai mic și coagulabilitatea sângelui este mai mare.

1. Hipertermia cu durată de 60, 120, 180 min duce la modificări vădite în nivelul cantității de fibrinogen și a numărului de trombocite, care se manifestă prin creșterea acestora.



2. Majorarea nivelului de fibrinogen și a numărului de trombocite în sânge la acțiunea hipertermiei de diferită durată duce la creșterea coagulabilității sangvine, prin micșorarea timpului de coagulare.

În concluzie, coagularea sângelui joacă un rol important în limitarea pierderilor de sânge și în repararea leziunilor vasculare. Înțelegerea mecanismului coagulării a evoluat de-a lungul ultimului secol, iar îmbunătățirile tehnologice oferă posibilitatea monitorizării în diferitele ei faze. Monitorizarea pacientului va deveni mai importanta pe viitor, deoarece intervențiile hemostatice de tipul concentratelor de factori recombinanți sunt din ce în ce mai accesibile, pe langă derivații din plasmă convenționali.

### **BIBLIOGRAFIE**

1. Eirhon A. Anatomia și fiziologia patologică, ed. Lumina, Chișinău, 2003, p.75 – 99.
2. Lîsîi L. Biochimia medicală, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie Nicolae Testemițanu, Chișinău 2007, p. 96 – 107.
3. Popa M., Croitoru A. Anatomia, Fiziologia și Patologia Umană, București, ed. Lucman, 2003, p. 230 – 245.
4. Aitkenhead A.R., Smith G., Rowbotham D.J. Hematological disorders and blood transfusions. In: Textbook of Anesthesia, fifth edition. Churchill Livingstone-Elsevier 2007:431-443.
5. Hoffman M., Monroe DM. Coagulation 2006: a modern view of hemostasis. Hematol Oncol Clin North Am 2007;21:1–11.
6. Levy JH., Dutton RP., Hemphill JC, et al. Multidisciplinary approach to the challenge of hemostasis. Anesth Analg 2010; 110:354-364.
7. Tanaka KA., Key NS., Levy JH. Blood coagulation: hemostasis and thrombin regulation. Anesth Analg 2009;108:1433-1446.
8. Маркосян А. Влияние теплового и акклиматизационного статуса на показатели системы кровообращения и её реактивность. Автореферат диссертации, г. Ашхабад, 1978, с. 20-25.
9. Болдиров И. А. Функции иммунной системы при действии на организм высокой внешней температуры, Санкт-Петербург, изд-во Наука, 2003, с. 30- 39.
10. Горчаков, Э.В. Основы биологической химии. Горчаков





*Conferința Științifică Națională, consacrată jubileului de  
95 ani din ziua nașterii academicianului Boris Melnic,  
Universitatea de Stat din Moldova, 13 februarie 2023.*

Э.В., Багамаев Б.М., Федота Н.В., Оробец В.А. М.:Лань,  
2019.- 208 с.

11. Лютинский, С.И. Патологическая физиология животных:  
учебник. – 3-е изд. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2011. – 560 с.
12. Савинков, А.В. Патологическая физиология: учебное  
пособие. Савинков А.В., Мешков В.М. Кинель: РИО СГСХА,  
2018. 188 с.