

VÝZNAM INTRAVASKULÁRNÍ HEMOKOAGULACE V PATOGENEZI ŠOKU I. TURNIKETOVÝ ŠOK U NEOZÁŘENÝCH A OZÁŘENÝCH PSŮ

Plukovník doc. MUDr. Jaroslav MAZÁK, CSc., MUDr. Čestmír REČEK, CSc.,
MUDr. František LANGR
Vojenský lékařský výzkumný a doškolovací ústav JEP a Lékařská fakulta KU
v Hradci Králové

Úvod

Význam intravaskulární hemokoagulace a fibrinolýzy v patogenezi různých druhů šoku je předmětem rostoucího zájmu (1, 2; 4, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 20, 21, 22). Někteří autoři (2, 7, 8, 9, 10, 13) pokládají vytváření trombů v arteriolách, kapilárách a venulách za důle-

žitý činitel při vzniku nezvratné fáze šoku, jiní pouze za průvodní, ne vždycky s jistotou prokazatelný nález (1, 18). Různé druhy šoku, včetně hemorrhagického, mohou být provázeny následnou krvácivou diatézou. Nechybějí doklady o primární intravaskulární koagulaci s následnou fibrinolýzou (kozumpční koagulopatie, Verbrauchskoagulopathie, defibrinační syndrom, se-

kundární fibrinolytický stav) [7, 8, 9]. Podle jiných autorů [8] je častějším mechanismem šokové poruchy hemostázy iniciální patologicky aktivovaná fibrinolýza (primární fibrinolytický stav, Lysekoagulopathie). Zásadní odlišnost těchto dvou pochodů stejně jako možnost jejich dynamické závislosti v průběhu šoku klade úkol laboratorně je rozpoznat a vhodným způsobem léčit. K praktickému použití jsou anti-koagulancia, fibrinolytika i antifibrinolytika. Nové léčebné oprávnění nebo relativní kontraindikace získávají z tohoto hlediska i náhradní koloidní roztoky.

Intravaskulární koagulace při šoku není jistě jedinou příčinou jeho nezvratnosti. Možná, že vůbec nemá příčinný význam. Farmakologická účinnost uvedených léčebných prostředků i riziko spojené s jejich použitím v nesprávné době nebo na nesprávném místě učinily však z této další patogenetické hypotézy šoku velmi aktuální problém.

Tato naše práce obsahuje nálezy hemokoagulačních a histologických změn v průběhu turniketového šoku u neozářených a ozářených psů.

Metodika

V pokusu bylo 24 psů obojího pohlaví o průměrné váze 19,7 kg (13,0–30,0 kg), rozdělených na 4 skupiny po 6:

- I. skupina — šokovaní, neozáření,
- II. — „ — — kontrolní, neozáření,
- III. — „ — — šokovaní, ozáření,
- IV. — „ — — kontrolní, ozáření.

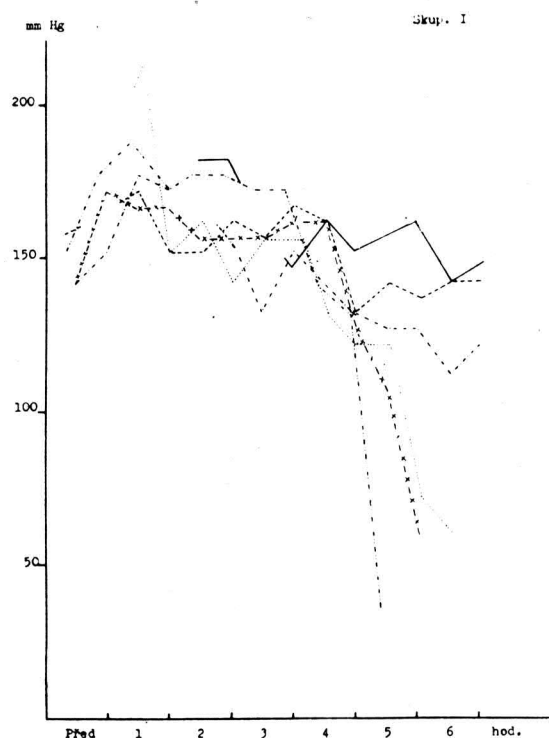
Pokus byl uspořádán párově tak, že současně byli vyšetřováni za stejných podmínek vždy dva psi, tj. 1 pes ze skupiny I. a 1 pes ze skupiny II., později obdobně vždy 1 pes ze skupiny III. a 1 pes ze skupiny IV. Po celou dobu pokusu byla zvířata v thiopentalové narkóze.

Šok byl vyvolán stažením pravé zadní končetiny gumovou hadicí a jejím uvolněním po 3 hodinách. Do průběhu šoku jsme léčebně nezahovali.

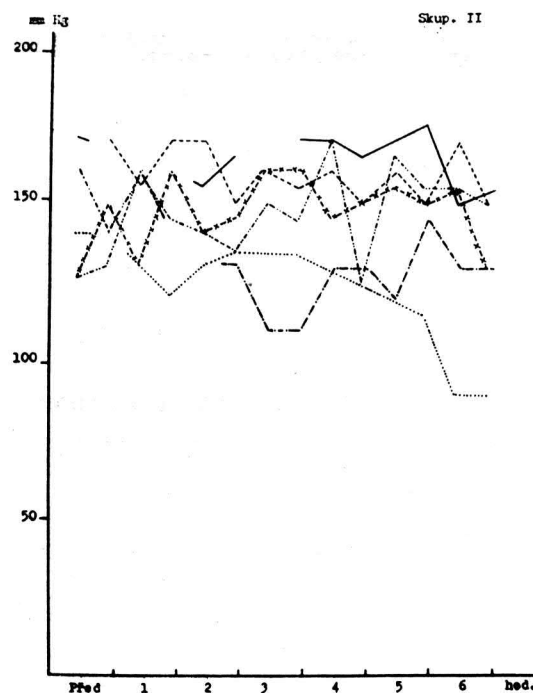
Vyšetření byla prováděna těsně před přiložením turniketu (1), těsně před jeho sejmutím (2) a potom za 1 hodinu po sejmutí (3), dále za 2 hodiny (4) a naposledy za 3 hodiny po sejmutí turniketu (5). Na závěr pokusu byly za živa odebrány vzorky orgánů (ledvina, slezina, játra, plíce, pankreas, střevo, nadledvinka a srdce) na histologické vyšetření a zvířata byla utracena injekcí thiopentalu, pokud neuhynula během odběru. Orgány byly fixovány Backerovým roztokem. Barvení bylo prováděno hematoxylin-eozinem a Maloryho metodou na fibrin.

Ve skupině neozářených jeden ze šokovaných psů uhynul v průběhu pokusu a poslední dva plánované odběry krve a odběr histol. vzorků odpadly. Další šokovaný neozářený pes uhynul 45 minut před ukončením pokusu a poslední odběr byl proveden před plánovaným termínem těsně před exitem.

Graf 1
Průběžné křivky arteriálního tlaku 6 šokovaných neozářených psů

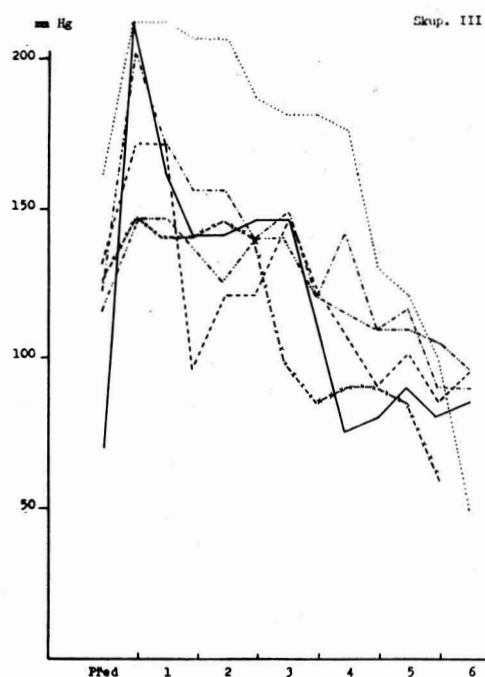


Graf 2
Průběžné křivky arteriálního tlaku 6 kontrolních neozářených psů

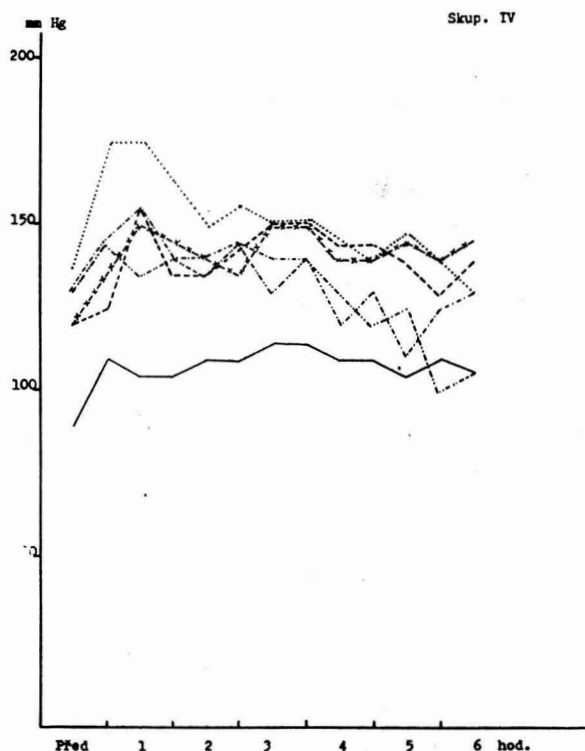


Ve skupině ozářených jeden ze šokovaných psů uhynul 15 minut před ukončením pokusu a poslední krevní odběr byl těsně před exitem. Žádný z ozářených psů neuhynul v 1. týdnu po ozáření; tj. před vlastním pokusem.

Graf 3
Průběžné křivky arteriálního tlaku 6 šokovaných ozářených psů



Graf 4
Průběžné křivky arteriálního tlaku 6 kontrolních ozářených psů



Ozáření bylo prováděno radioaktivním kobaltem vždy 7 dní před pokusem celotělovou dávkou 400 r (33 min., 40 vteřin) při ohniskové vzdálenosti 1 m 50 cm. Během ozáření byli psi v thiopentalové narkóze.

Krevní vzorky byly odebírány ze stehenní arterie levé zadní končetiny pomocí permanentního katetru přímo do zkumavek z nesmáčivé plastické hmoty po vypuštění několika ml krve a v průběhu pokusného dne postupně zpracovány. Průchodnost katetrů byla udržována malým množstvím ACD roztoku. Byla prováděna tato vyšetření: rekalcifikační doba plazmy, Quickův test, trombinový čas, gravimetrické stanovení fibrinogenu, čas euglobulinové lýzy, trombelastogram, kapilární krvácivost a počet trombocytů. Podrobnější popis použitých koagulačních testů, včetně rozptylů jejich normálních hodnot u psů jsme uvedli již dříve [16, 17].

Ve stanovených časových intervalech jsme dále vyšetřovali: počet erytrocytů, hematokrit, hemoglobin, počet leukocytů, diferenciální obraz a reakci krve. Každých 30 minut v průběhu pokusu byl sledován přímou metodou tepenný a žilní tlak, počet tepů, dechy a kožní teplota současně na pěti standardních místech tělesného povrchu.

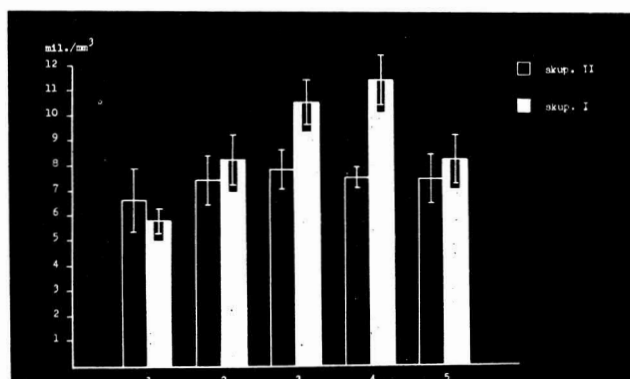
Početní zpracování výsledků bylo provedeno na přístroji Epos. Ke statistickému zhodnocení bylo použito nepárového a párového t-testu.

Výsledky

Na grafech 1–4 jsou uvedeny průběžné křivky tepenného tlaku u jednotlivých pokusných skupin. Jsou z nich patrné rozdíly hodnot tepenného tlaku u jednotlivých psů, častý přechodný vzestup tlaku na počátku pokusu po zavedení thiopentalové narkózy a narůstající hypotenze u šokovaných, zejména u současně ozářených psů. Po sejmutí turniketu rychle narůstala tachykardie, tachypnoe a docházelo k výraznému poklesu kožní teploty na čenichu. Všechny tyto příznaky svědčily o účinném vyvolání šoku. Ve vývoji šoku nebyly patrné výrazné rozdíly mezi skupinou neozařenou a ozářenou. Po sejmutí turniketu docházelo u neozařených i ozářených psů k významnému vzestupu počtu erytrocytů, hemoglobinu a hematokritu (grafy 5 a 6).

Graf 5

Erytrocyty u šokovaných neozařených (skupina I) a kontrolních neozařených psů (skupina II). Na ose x pořadí krevních odběrů (viz text).



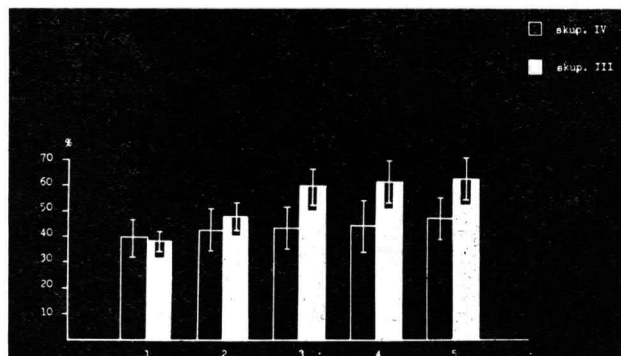
U ozářených zvířat se během týdne od ozáření do pokusu červený krevní obraz významně nezměnil a byla u nich pouze lehká anémie ve srovnání s neozářenými. Zůstala zřejmá i v průběhu šokových změn (graf 7).

Leukocyty v obou skupinách neozářených psů vykazovaly přes značné individuální kolísání vzestup po zahájení pokusu (graf 8 a 9). Z těchto grafů je patrna také výrazná postiradiační leukopenie u kontrolní i šokované skupiny. Zůstala šokem zcela neovlivněna. Všechny tyto nálezy svědčí o účinném ozáření a o účinném vyvolání turniketového šoku.

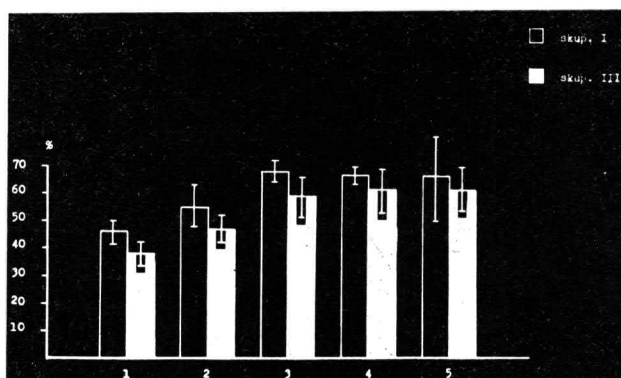
Předmětem našeho zájmu však byly změny hemokoagulační. Šlo nám za prvé o to, vzniknou-li vůbec nějaké změny, a za druhé o možné rozlišení primární fibrinolýzy od konzumpční koagulopatie s případnou sekundární fibrinolýzou. Za důležitý rozlišovací znak je obvykle označován počet trombocytů. U intravaskulární koagulace počet trombocytů klesá, primární fibrinolýza naproti tomu počet trombocytů nesnižuje. Na grafech 10–13 jsou uvedeny průběžné křivky změn počtu trombocytů. Jsou patrné značné rozdíly u jednotlivých psů, avšak pokles v průběhu šoku je zřejmý u neozářené i ozářené skupiny. Směr změn je tak výrazný, že je možno považovat je za důsledek intravaskulární koagulace vzdor tomu, že nepárový t-test neposkytl statistický průkaz.

Velmi přesvědčivé výsledky poskytl trombelastogram rekalcifikované krve. Typické křivky jsou uvedeny na obr. 1 a 2. V prvním případě jde o pokusný pár neozářených, ve druhém případě ozářených psů. Křivka s větší „ma“ značí kontrolního psa, křivka s malou „ma“ psa ve fázi rozvinutého šoku (4. odběr). Je nápadné zmenšení „ma“ TEG u šokovaných psů, svědčící o vážné koagulační poruše. Na této změně se může podílet trombocytopenie. Hlavní příčinou však je zřejmě pokles fibrinogenu, případně i dalších koagulačních faktorů. Postiradiační trombocytopenie tak výrazné snížení „ma“ nevyvolala. Pokles fibrinogenu může být důsledkem intravaskulární koagulace i následné fibrinolýzy. Tomuto výkladu odpovídá prodloužení trombinového času u šokovaných psů (graf 14). Gravimetrickou metodou se nám nepodařilo prokázat fibrinogenopenii. Přítomnost antikoagulačně aktivních štěpných produktů fibrinolýzy je zřejmě příčinou zkreslení výsledků této orientační metody. Jejich imunoelktroforetický průkaz jsme však z technických důvodů neprováděli. Quickův test poskytl významně prodloužené časy šokovaných psů neozářené i ozářené skupiny. Příčinou tohoto nálezu je patrně opět pokles fibrinogenu a snad i faktorů protrombinového komplexu. Výsledky rekalcifikační doby plazmy kolísaly tak značně, že nebylo možno je hodnotit. Totéž platí o euglobulinové lýze. Výsledky kapilární krvácivosti se ukázaly u šokovaných nehodnotitelné v důsledku značné periferní vazokonstrikce.

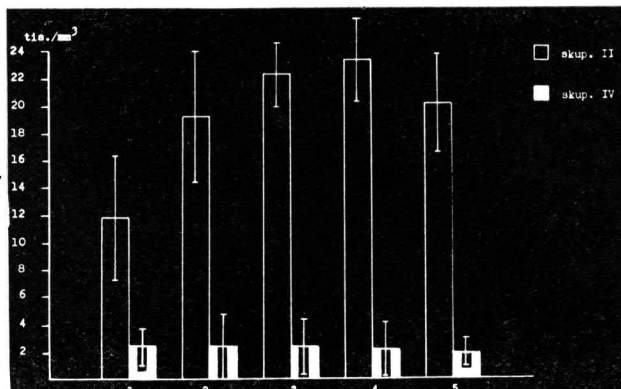
Graf 6
Hematokrit u šokovaných ozářených (skupina III)
a kontrolních ozářených psů (skupina IV)



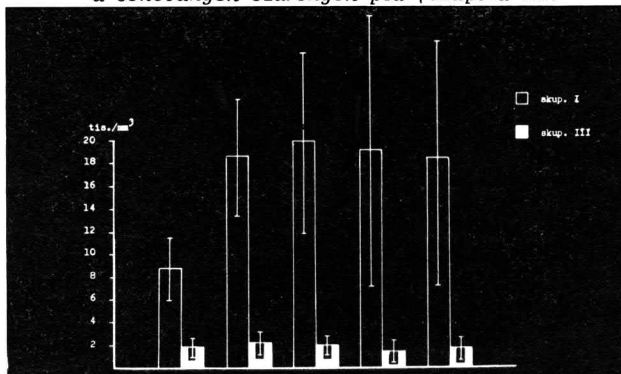
Graf 7
Hematokrit u šokovaných neozářených (skupina I)
a šokovaných ozářených psů (skupina III)



Graf 8
Leukocyty u kontrolních neozářených (skupina II)
a kontrolních ozářených psů (skupina IV)

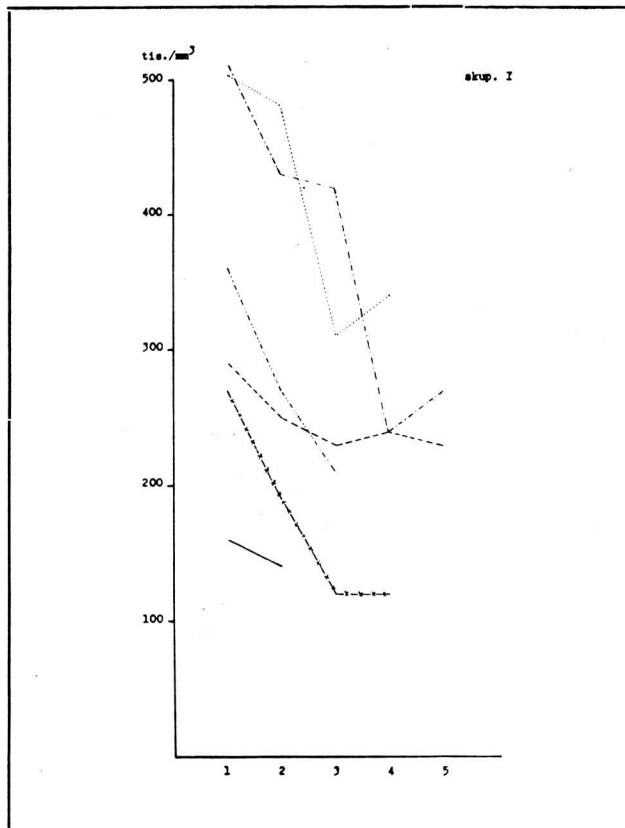


Graf 9
Leukocyty u šokovaných neozářených (skupina I)
a šokovaných ozářených psů (skupina III)



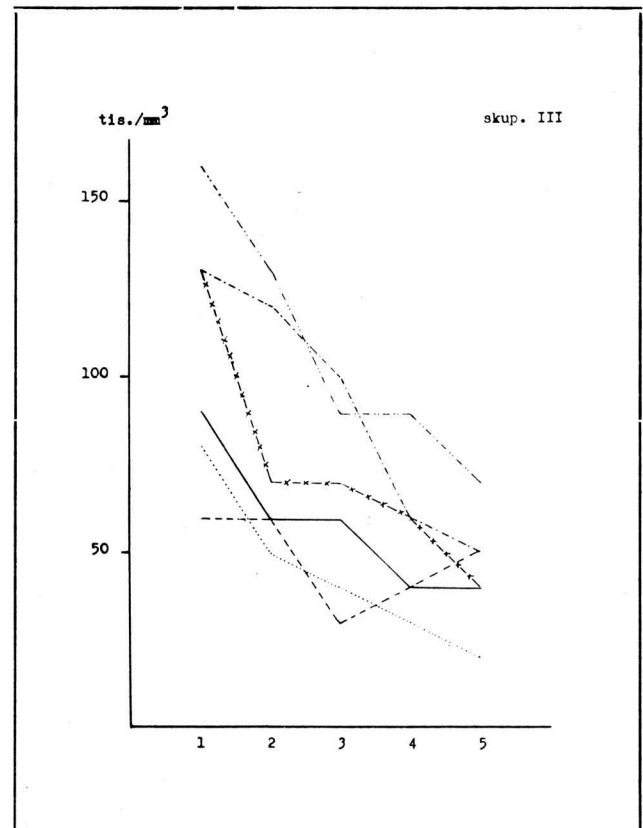
Graf 10

Průběžné křivky trombocytů 6 šokovaných neozářených psů (skupina I)
(jedna křivka neúplná)



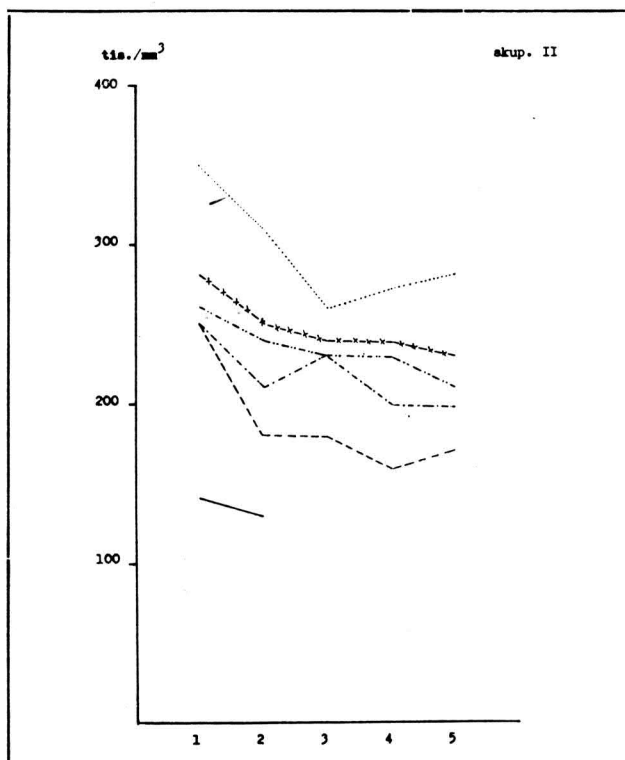
Graf 12

Průběžné křivky trombocytů 6 šokovaných ozářených psů (skupina III)



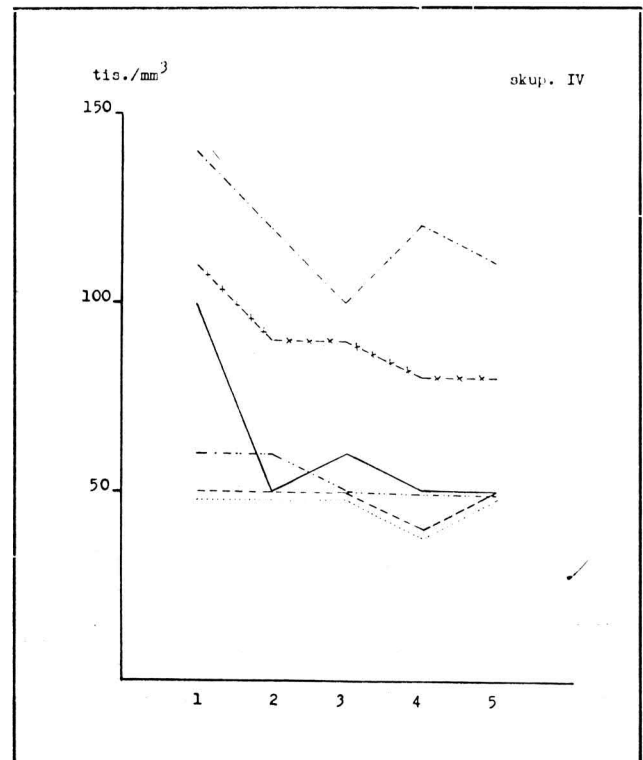
Graf 11

Průběžné křivky trombocytů 6 kontrolních neozářených psů (skupina II)
(jedna křivka z technických důvodů neúplná)



Graf 13

Průběžné křivky trombocytů 6 kontrolních ozářených psů (skupina IV)



Histologická vyšetření ukázala typické šokové změny u obou skupin (neozářených i ozářených): Venostáza v ledvinných glomerulech, vakuolizace buněk tubulů, v lumínech tubulů bílkovinné hmoty.

V koře nadledvinek byla rovněž ložiska vakuolární degenerace.

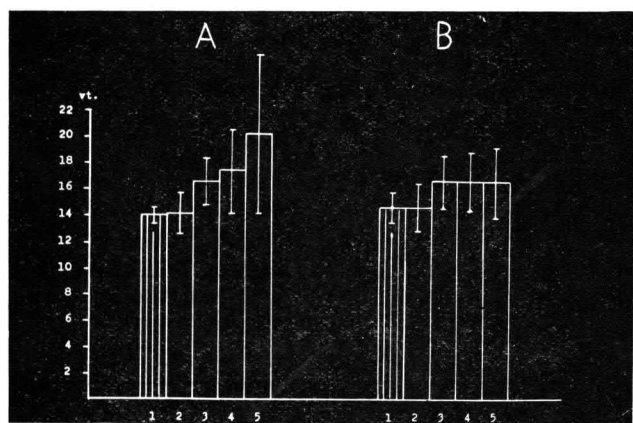
Drobná ložiska krvácení byla ojediněle v plicích, ve slezině a pod pouzdrém jater.

U ozářených psů bylo ložiskové krvácení poněkud častější. Šokové změny v ledvinách byly výraznější.

Intravaskulární trombus, obsahující destičkové shluky, byl nalezen pouze jednou v játrech.

Graf 14

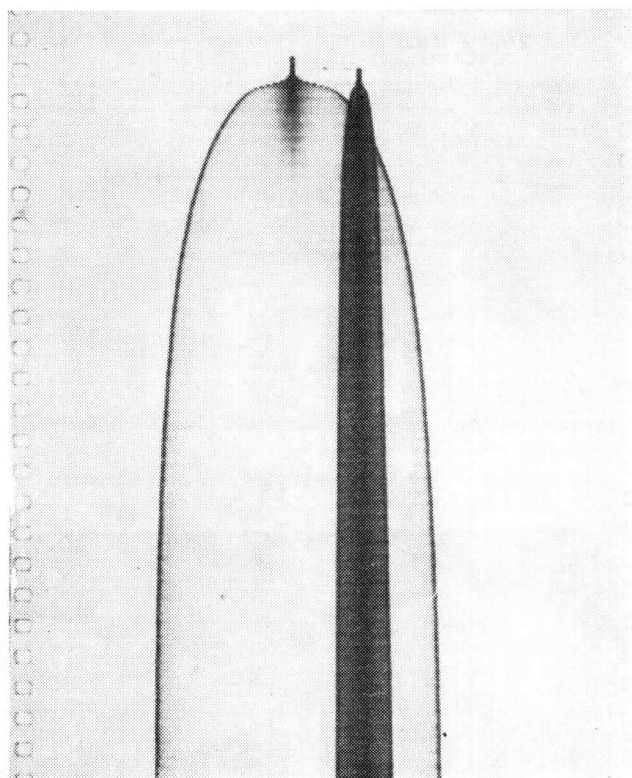
Trombinový čas



Část A značí skupinu šokovaných neozářených (skup. I),
část B značí skupinu šokovaných ozářených (skup. III)
Párový t-test

Rozprava

O intravaskulární koagulaci a fibrinolýze při šoku jsou k dispozici experimentální i klinické zprávy. Experimentálně bylo použito endotoxinu (6, 9, 14), trombinu (9, 15), plodové vody (9), inkompatibilní a hemolytické krve (9), autoprothrombinu C (21), řízené krevní ztráty (2, 7, 22), popálení i vazopresorických látek. Vliv na fluído-koagulační rovnováhu některých těchto činitelů byl navíc podporován bloádou RES thorotrastem (21) nebo současným parenterálním podáním tuku (14). Klinické zprávy popisují intravaskulární koagulaci u hemorrahického a septického šoku, u akutní pankreatitidy, popáleninové nemoci, abrupci placenty a po různých chirurgických a gynekologických operacích (1, 7, 8, 11). Metodicky bylo k průkazu změn použito různě širokých souborů hemokoagulačních testů, běžných histologických i elektronmikroskopických vyšetření (11, 15). Obtížnost laboratorního průkazu hyperkoagulačního stavu i morfologického zachycení mikrotrombů způsobuje, že ani závěry a léčebná doporučení

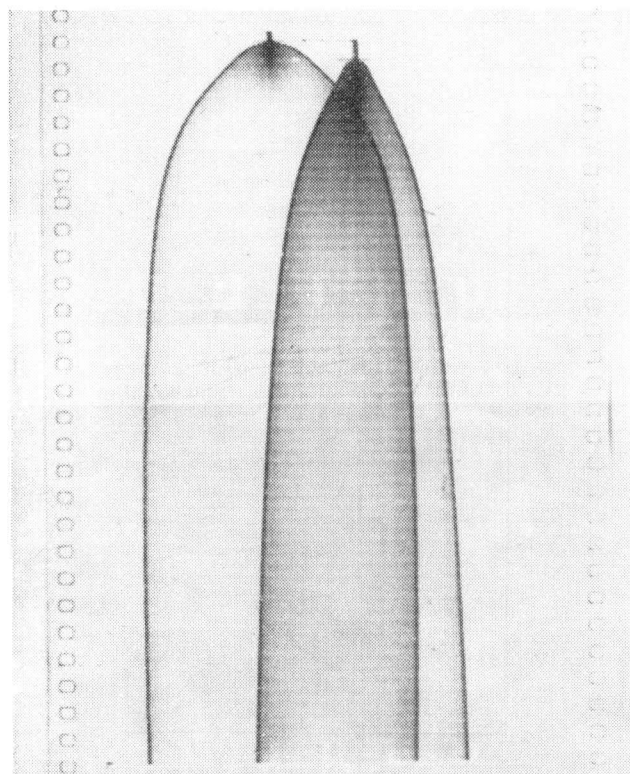


Obr. 1

Trombelastogram neozářeného páru psů. Křivka s menší „ma“ značí šokovaného psa (4. odběr)

Obr. 2

Trombelastogram ozářeného páru psů. Křivka s nápadně malou „ma“ značí šokovaného psa (4. odběr)



předních pracovníků na tomto úseku [Lasch, Hardaway] nejsou obecně přijaty.

V dostupném písemnictví jsme nenalezli žádnou práci o komplexním hemokoagulačním výzkumu u turniketového šoku ani u jiných druhů experimentálního šoku kombinovaných celotělovým ozářením. Zvolili jsme pro první část šířeji plánovaných pokusů turniketový šok proto, že jej pokládáme z hlediska objasnění klinického významu intravaskulární koagulace za vhodnější než parenterální podávání různých koagulačně aktivních látek, někdy v neúměrně vysokých dávkách. Kombinace šoku s ozářením jsme použili pro možnost hlubšího poznání hemokoagulační interakce obou patogenních činitelů. Bez ohledu na to, uznáme-li nebo neuznáme-li význam intravaskulární koagulace v patogenezi ireverzibility šoku, zajímá nás i nebezpečí druhotných krvácivých komplikací šoku, tím spíše v kombinaci s ozářením. Zvláštní problém přináší použití antifibrinolytik v léčbě nemoci z ozáření, doporučované v poslední době některými autory s cílem blokovat postiradiační vzestup aktivity proteolytických enzymů [3].

Výsledky, jichž jsme zatím dosáhli, svědčí s určitostí o významných koagulačních změnách u psů v turniketovém šoku. Pokles trombocytů, snížení „ma“ TEG, prodloužení trombinového a protrombinového času jsou důkazem hypokoagulačního stavu typu konzumpční koagulopatie. U neozařených i ozářených psů měly tyto nálezy kvalitativně shodný charakter. Jejich podrobný rozbor ponecháváme zatím na později, až budeme mít k dispozici výsledky s dalšími druhy experimentálního šoku.

Poměrně chudé histologické nálezy u našich šokovaných psů nebyly překvapením. Obtížnost morfologického průkazu intravaskulárních mikrotrombů je v literatuře stále předmětem diskuse [7, 11, 15,]. Předpokládaná agrese trombocytů je různá podle druhu pokusného zvířete i podle typu šoku. U hemorrahického šoku je méně výrazná než u šoku traumatického. Podíl zpo- malení cirkulace na jejím vzniku není bezpečně prokázán. U endotoxinového a anafylaktického šoku se uplatňují na jejím vzniku i imunologické vlivy. Počáteční, krátce trvající shluky destiček mohou být pouze někdy počáteční fází vzniku koagulačního trombu. Teprve disseminovaná intravaskulární koagulace může vést ke spotřebě koagulačních faktorů a k trvalejší blokádě drobných cév. Intravitální odběrem orgánových vzorků jsme se snažili předejít posmrtné fibrinolýze mikrotrombů. Účinek intravitální sekundární trombolýzy však není vyloučen.

Ve výzkumu intravaskulární hemokoagulace v průběhu šoku dále pokračujeme.

Souhrn

V první fázi šířeji plánovaného výzkumu hemokoagulačních změn u různých typů šoku byly provedeny pokusy s turniketovým šokem u psů. 24 psi byli rozděleni po 6 na 4 skupiny (I. skupina — šokovaní, neozaření, II. skupina — kontrolní, neozaření, III. skupina — šokovaní, ozáření, IV. skupina — kontrolní, ozáření). U neozařených i ozářených zvířat v šoku byly nalezeny kvalitativně shodné koagulační změny: pokles trombocytů, snížení „ma“ TEG, prodloužení trombinového a protrombinového času. Zjištěné změny mají charakter koagulopatie vykládané v literatuře jako následek spotřeby koagulačních faktorů při disseminované trombóze v drobných cévách. Histologické vyšetření intravitálně odebraných orgánových vzorků však tuto mikrotrombotizaci nepotvrdilo.

Autoři pokračují ve výzkumu otázky u dalších typů experimentálního šoku.

Literatura

- Attar, S., Mansberger, A. R. a spol.: Coagulation Changes in Clinical Shock. *Annals of Surgery* 164, 1966:34—50.
- Crowell, J. W.: In Vivo Coagulation — a Probable Cause of Irreversible Shock. *Am. J. Physiol.* 183, 1955:565.
- Danysz, A., Kocmierska-Grodzka, D., Niewarowski, St., Prokopowicz, J.: Untersuchungen über den Mechanismus der Strahlenschutzwirkung der proteolytischen Enzyme. *Folia haemat.* 87, 1967, 1, 2:128—134.
- Dintenfass, L.: Some Reological Factors in the Pathogenesis of Thrombosis. *Lancet* 1965, 7408:370.
- Donner, L., Neuwirtová, R., Oufedník, A., Doležal, V.: Vliv krátkodobé hypoxie na srážení krve. *Vnitř. lék.* 8, 1962:315—323.
- Gans, H., Krivit, W.: Effect of Endotoxin Shock on the Clotting Mechanism of Dogs. *Annals of Surgery* 152, 1960:69—76.
- Genese und Therapie des hämorrhagischen Schocks. Stuttgart, G. Thieme Verlag 1966.
- Graeff, H., Kuhn, W., Bleyl, M.: Verbrauchskoagulopathie und Lysekoagulopathie bei menschlichen Äquivalenten des Sanarelli-Schwartzman-Phänomens (generalisiertes Schwartzman-Phänomen). *Thromb. Diath. Haemorrhag.* 17, 1967, 1, 2:144—155.
- Hardaway, R. M.: The Role of Intravascular Clotting in the Etiology of Shock. *Annals of Surgery* 155, 1962, 3:325—338.
- Hardaway, R. M.: Disseminated Intravascular Coagulation with Special Reference to Shock and its Treatment. *Milit. Med.* 130, 1965, 5:452—460.
- Hardaway, R. M., Chun, B., Rutherford, R. B.: Histologic Evidence of Disseminated Intravascular Coagulation in Clinical Shock. *Vasc. Diseases* 2, 1965, 5:254—265.
- Hardaway, R. M., Chun, B., Rutherford, R. B.: Coagulation in Shock in Various Species Including Man. *Acta Chir. Scand.* 130, 1965:157—164.
- Hardaway, R. M., Johnson, D. G.: A New Theory of Shock. *Milit. Med.* 128, 1963:198—208.
- Huth, K., Schoenborn, W., Knorpp, Kl.: Experimentelle Verbrauchskoagulopathie nach intravenöser Zufuhr von Fett und Endotoxin. *Thromb. Diath. Haemorrhag.* 17, 1967, 1, 2:129—143.
- Margaretten, W., Csavossy, I., Mc Kay, D. G.: An Electron microscopic Study of Thrombin — Induced Disseminated Intravascular Coagulation. *Blood* 29, 1967, 2:169—181.
- Mazák, J., Vaňásek, J., Matěja, F.: Changes in Blood Clotting and the Effect of Dextran. *Acta chir. plast.* 7, 1965, 4:257—264.
- Mazák, J., Vaňásek, J., Matěja, F.: Étude de la coagulation du sang au cours des brûlures expérimentales. *Proceedings of the X Congress of the European Society of Haematology, Strasbourg 1965.* Karger, Basel—New York, 1967, II. Part:1393—1399.
- Morel: La microcirculation au cours du choc traumatique. *Revue des corps de santé* 6, 1965, 6:757—767.
- Pories, W. J., Harris, P. D., Hinshaw, J. R., Davis, Th. P., Schwartz, S. I.: Blood Sludging: An Experimental Critique of its Occurrence and its Supposed Effects. *Annals of Surgery* 155, 1962, 1:33—41.
- Rachmilewitz, E. A., Schenker, J., Kropatkin, M. L.: Defibrination Syndrome Followed by Hypercoagulable State. *Thromb. Diath. Haemorrhag.* 17, 1967, 1, 2:120—128.
- Rodriguez, F. — Erdmann, Naimi, S.: Studies on the Pathogenesis of the Generalized Schwartzman Reaction. *Thromb. Diath. Haemorrhag.* 17, 1967, 1, 2:156—164.
- Turpini, R., Stefanini, M.: The Nature and Mechanism of the Hemostatic Breakdown in the Course of Experimental Hemorrhagic Shock. *J. Clin. Invest.* 38, 1959:53—65.