

УДК: 612.115:619:636.5.033

DOI:10.52419/issn2072-2419.2023.4.327

ЗАВИСИМОСТЬ КОАГУЛЯЦИОННОЙ АКТИВНОСТИ КРОВИ КУР IN VITRO ОТ ТЕМПЕРАТУРЫ

Фомина Л.Л. – канд. биол. наук, доц.; Березина Д.И. – канд. биол. наук, доц.; Кулакова Т.С. – канд. с-х. наук, доц.; Моданова К.Э. – студ.

ФГБОУ ВО «Вологодская государственная молочнохозяйственная академия им. Н.В. Верещагина»

*fomina.l.l@2.molochnoe.ru

Ключевые слова: куры, гемостаз, коагулограмма, гипертермия, гипотермия
Key words: hens, hemostasis, coagulogram, hyperthermia, hypothermia

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда № 23-26-00115, <https://rscf.ru/project/23-26-00115/>.

Поступила: 15.04.2023

Принята к публикации: 17.11.2023

Опубликована онлайн: 08.12.2023



РЕФЕРАТ

В работе представлены результаты исследования влияния температуры инкубации плазмы крови на показатели гемостаза кур. Целью данной работы стало изучение коагуляционных показателей крови кур при гипотермии, нормо- и гипертермии in vitro, а также оценка возможности применения коагулометра для характеристики активности гемостаза и использования гемостатических реакций кур в качестве моделей для медицины человека. Исследование проведено в Вологодской области. Анализировали следующие параметры коагулограммы: тромбиновое время (ТВ), протромбиновое время (ПВ), активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ), активность фибриногена и антитромбина III (АТ-III). Установлено, что при 46°C происходит активация свертывания крови, в клоттинговых методах проявляющаяся как ускорение ТВ на 29% (13 сек), ПВ на 72% (111 сек), снижение активности Антитромбина III на 6% (1,5 сек) по сравнению с нормотермией. В то же время на гипотермию (18°C) показатели вторичного гемостаза отвечали также гиперкоагуляцией – ускорение ПВ на 81% (125 сек), повышение активности фибриногена на 77% (84 сек) и снижение активности АТ-III на 55% (14 сек), за исключением тромбинового времени, которое удлинилось на 70% (104 сек). Достоверных изменений АЧТВ при разных температурах не отмечалось. Корреляционно-регрессионный и однофакторный дисперсионный анализ выявили высокую зависимость от температуры ТВ и активности фибриногена, коэффициент детерминации которых составил 71% и 39% соответственно. Измерения активности плазменного гемостаза, проведенные на коагулометре (при 37 °C), не имели достоверных отличий от показателей, измеренных при 43°C, за исключением протромбинового времени, значение которого на 71,51 сек (47 %) было короче измеренного при 43°C.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Племенная работа селекционно-генетических компаний в отрасли птицеводства России в настоящее время направлена на активное восстановление отечественного племенного птицеводства и улучшение продуктивных качеств домашней птицы [1, 2], что невозможно без изменения системного метаболизма, включая гемостаз [3].

Нарушения гемостаза – распространенная патология в птицеводстве, проявляющаяся кровотечением, которое чаще всего возникает в мышцах, внутримышечном жире, соединительной ткани и внутренних органах. Так называемый «геморрагический синдром», наблюдаемый у растущих цыплят, характеризуется подкожными кровоизлияниями, иногда анемией и бледностью костного мозга. Этиология синдрома не получила удовлетворительного объяснения. Некоторые ранние полевые случаи, вероятно, были результатом дефицита витамина К или неразумного использования кокцидиостатических сульфаниламидов, таких как сульфаиноксалин [4]. Диссеминированное внутрисосудистое свертывание (ДВС) развивающееся вследствие патологической активации свертывающей системы крови в результате инфекций, вызванных эндотоксинами, экспрессируемыми грамотрицательными и грамположительными бактериями, вирусами, простейшими и паразитами, приводит к образованию внутрисосудистых тромбов, в том числе и у птиц [5].

Физиологические механизмы гемостаза у птиц остаются малоизученными, однако считается, что свертывание крови регулируется внешним тканевым фактор-зависимым путем, при этом часть остаточного внутреннего пути выполняет вспомогательную функцию, поскольку у птиц отсутствуют контактные факторы каскада свертывания XI и XII [3].

Активация протромбина и антитромбина (основного серпинового ингибитора свертывания крови) у птиц происходит аналогично млекопитающим [6], но существующие различия в белках свертываю-

щей системы исследователи связывают с генетическим отбором домашней птицы [7] и использованием для диагностики невидоспецифичных реагентов [8]. Помимо видоспецифичности реагентов проблемой диагностики нарушения гемостаза у животных и птиц является использование в ветеринарной медицине методик, пришедших из гуманной медицины (человека) и рассчитанных на температуру протекания биохимических процессов в организме человека без учета различных термобιологических статусов позвоночных, которых зачастую используют в качестве моделей для гемостазиологических реакций [9,10,11].

Исследование влияния температурного фактора на коагуляционную активность крови у кур актуально по нескольким причинам: во-первых, в целях адаптации существующих скрининговых тестов, созданных в гуманной медицине; во-вторых, с целью уточнения знаний о лабильности коагуляционного ответа кур в ответ на гипо- и гипертермию.

В связи с этим, цель нашей работы – анализ реакции плазменного гемостаза кур на крайне низкие и высокие температуры инкубации плазмы и сравнение показателей гемостаза кур, полученных при 37 °С (температуре, при которой проводятся исследования клоттинговыми методами) и при температуре «сердцевины» тела, свойственной курам (43°С) с оценкой возможности использования данных позвоночных в качестве гемостатических моделей.

Научная новизна – получены новые знания о функционировании плазменного гемостаза кур в условиях высоких и низких температур, показана необходимость применения ветеринарного коагулометра для оценки их коагулологических реакций.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIAL AND METHODS

В исследовании использовали кровь 19 здоровых особей домашней курицы (*Gallus gallus* Linnaeus, 1758), породы Род-Айленд красная, кросс Хайсекс Браун, принадлежащих СХПК «Племптица-Можайское». Возраст кур-несушек составил 2 года, вес – 1900г. Птица содержа-

лась в четырехъярусных клетках, производства компании «VALLI». Кормление осуществлялось сухими полнорационными комбикормами ПК-1.

Отбор проб крови проводился в стеклянные пробирки, содержащие 3,8% раствор цитрата натрия в соотношении 1:9 у птиц пункцией подкрыльцовой вены. Объектом исследования являлась бедная тромбоцитами плазма, полученная в результате центрифугирования крови при 3000 оборотов в минуту в течение 20 мин.

Для оценки состояния плазменно-коагуляционного гемостаза определяли следующие показатели: АЧТВ (активированное частичное тромбoplastиновое время), ПВ (протромбиновое время), ТВ (тромбиновое время), анализ активности фибриногена при температуре 37°C на коагулометре «Thrombostat» производства Behnk Elektronik (Германия) и вручную с использованием термостата медицинского водяного, серии TW: TW-2 (ELMI TW-2) при температурах 18°C, 43°C, 46°C.

Антикоагулянтные свойства крови оценивали по активности Антитромбина III, которую тестировали по скорости инактивации тромбина в плазме крови, подвергнутой тепловому дефибринированию. Исследование проводили при температурах 18°C, 37°C, 43°C, 46°C. Поскольку эксперимент проводился *in vitro*, это позволило значительно понизить температуру для модели гипотермии и повысить в модели гипертермии для более яркой клоттинговой реакции, которую можно определить мануальным способом. Были использованы медицинские наборы: «Тромбо-тест», «Техпластин-тест», «АПТВ-тест», «Хромотех-Антитромбин» (ООО Технология-Стандарт, Россия) и для измерения активности фибриногена (НПО РЕНАМ, Россия). Все исследования проводились в соответствии с инструкциями к реагентам.

Данные представлены в виде среднего и стандартной ошибки среднего ($M \pm m$). Нормальность распределения оценивали при помощи критерия Шапиро-Уилка.

Для оценки достоверности различий параметров при разных температурах в парных зависимых выборках использовали критерий Вилкоксона. Проверка статистической значимости коэффициентов корреляции осуществлялась с помощью статистического критерия Фишера (F-критерий) (однофакторный дисперсионный анализ, One-way ANOVA).

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда № 23-26-00115, <https://rscf.ru/project/23-26-00115/>.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

В результате изменения температуры инкубации плазмы были получены показатели активности свертывающего и противосвертывающего звена гемостаза кур представленные в таблице 1.

При гипертермии (46°C) по сравнению с нормотермией для кур (43°C) на 29% сократилось тромбиновое время (ТВ), на 72% протромбиновое время (ПВ), на 6% снизилась активность противосвертывающей системы и более чем в три раза снизилась активность фибриногена.

При гипотермии (18 °C) изменение активности свертывающего звена системы гемостаза происходило в противоположном направлении: удлинение ТВ на 104 сек (70%) и повышение активности фибриногена на 84 сек (77%), но в то же время активность антитромбина и протромбиновое время менялись аналогично показателям, измеренным при высокой температуре инкубации плазмы – снизилась активность антитромбина на 14 сек (55%), протромбиновое время сократилось на 125,31 сек (81%) по сравнению с нормотермией. Характеризуя активность внутреннего (плазменного) пути свертывания крови, можно отметить отсутствие достоверных изменений АЧТВ при разных температурах.

Измерения активности плазменного гемостаза, проведенные на коагулометре (при 37 °C), не имели достоверных отличий от показателей, измеренных при 43°C, за исключением протромбинового времени, значение которого на 71,51 сек (47 %) было короче измеренного при 43°C.

Таблица 1 – Сравнительный анализ показателей гемостаза кур при разных температурах

Показатель (n=19)	Температура, °C			
	18	37	43	46
ТВ, с	149,97±11,32 ^{cd}	46,39±1,74 ^a	45,52±1,64 ^a	32,43±3,65 ^a
ПВ, с	29,33±6,37 ^{cd}	83,13±15,36 ^{ad}	154,64±41,71 ^{ac}	43,71±13,99 ^{cd}
АЧТВ, с	84,72±15,23	64,56±7,67	78,82±12,41	86,86±17,56
Фибриноген, с	25,35±4,99 ^{cd}	93,88±9,75 ^{af}	109,15±11,27 ^{af}	395,60±32,99 ^{acd}
Антитромбин, с	11,81±2,62 ^{cd}	30,70±2,48 ^a	26,02±1,70 ^a	24,46±2,08 ^a

Примечание. ^aРазличия с аналогичным параметром при 18°C достоверны ($p \leq 0,05$)

^cРазличия с аналогичным параметром при 37°C достоверны ($p \leq 0,05$)

^dРазличия с аналогичным параметром при 43°C достоверны ($p \leq 0,05$)

^fРазличия с аналогичным параметром при 46°C достоверны ($p \leq 0,05$)

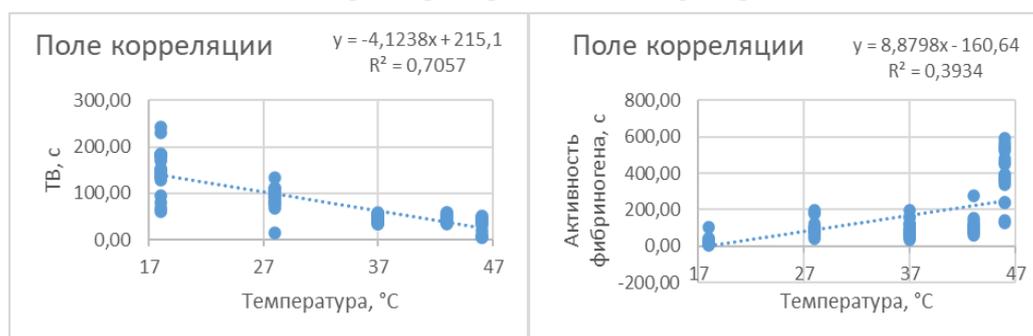


Рисунок 1 – Корреляционно-регрессионная зависимость ТВ и активности фибриногена плазмы кур от температуры инкубации

Таблица 2 – Коэффициенты выявленных корреляций и параметры дисперсионного анализа данных зависимости плазменного гемостаза кур от температуры

Факторная переменная X	Зависимая переменная Y	R	F	Значимость F
Температура, °C	ТВ, с	-0,8	59,58312	$p < 0,01$
	ПВ, с	-0,1	5,817481	$p < 0,01$
	АЧТВ, с	-0,2	10,81306	$p < 0,01$
	Фибриноген, с	0,8	66,58329	$p < 0,01$
	АТ-III, с	0,2	18,57262	$p < 0,01$

Примечание: R - индекс корреляции; F - расчетное значение F-критерия

Корреляционно-регрессионный и однофакторный дисперсионный анализ (One-way ANOVA) выявили высокую зависимость от температуры ТВ и активности фибриногена, коэффициент детерминации которых составил 71% и 39% соответственно (рис. 1).

В соответствии со шкалой Чеддока корреляционную связь между показателями гемостаза и температурным фактором можно охарактеризовать как отрицательную высокую (ТВ) и положительную высокую (фибриноген) (табл.2).

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

В литературе существуют противоположные точки зрения на активность системы гемостаза у птиц. Иванов А.А. с соавторами (2022) считают, что у птиц отмечается повышенная свертываемость крови, обусловленная каскадным процессом изменения физико-химических свойств белка плазмы фибриногена, а иностранные авторы заключают, что кровь у большинства птиц свертывается медленно и отмечают продолжительные ПВ, ТВ и АЧТВ [13]. Наше исследование подтверждает низкую активность свертывающего звена гемостаза кур по сравнению с млекопитающими [13,14], но в то же время при повышении температуры инкубации плазмы коагуляционный гемостаз ускоряется по показателям, характеризующим внешний и общий путь свертывания, что подтверждается высокой степенью корреляции тромбинового времени с температурой и требует учета температурного фактора [15]. Таким образом, показатели, полученные исследователями при использовании медицинских наборов и коагулометров (37°C) не совсем точно отражают гемостатические процессы, происходящие в организме кур.

Активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ), показатель характеризующий активность внутреннего (плазменного) пути свертывания крови, выявляющий исключительно плазменные дефекты активации X-фактора у млекопитающих [16], у кур является более продолжительным, так как у птиц отсутствуют контактные факторы каскада

свертывания XI и XII [3]. В нашем исследовании АЧТВ достоверно не зависел от температуры инкубации плазмы, что делает внутренний путь активации гемостаза кур подходящим для использования в качестве модельного.

Реакция активности фибриногена и антитромбина у кур на гипо- и гипертермию сильно отличается от происходящего в организме млекопитающих, у которых при гипотермии происходит активация противосвертывающей системы и ингибирование фибриногена [17,18].

В нашем исследовании в системе гемостаза у кур происходили обратные процессы – при гипотермии активировался фибриноген и снижалась активность антитромбина, при гипертермии происходило ингибирование активности фибриногена, что, возможно, является компенсаторными процессами на реакцию общего пути свертывания, характеризуемого ТВ.

Анализируя полученные результаты можно заключить, что большая часть показателей, характеризующих плазменный гемостаз кур, ярко реагирует на изменение температуры инкубации, особенно на гипотермию, поэтому оптимизация диагностических процедур и определение референтных значений показателей свертываемости крови у птиц при температуре, свойственной этим позвоночным, могут улучшить диагностику нарушений гемостаза. Мы согласны с М. Buzala с соавторами (2017), что процессы свертывания крови глубоко заложены в геноме современной домашней птицы, и поэтому признание механизмов гемостаза и улучшение диагностических процедур могут стать очень мощным инструментом генетического отбора.

DEPENDENCE OF BLOOD COAGULATION ACTIVITY ON TEMPERATURE IN HENS IN VITRO

Fomina L.L. – candidate of Science (Biology), associate professor; **Berezina D.I.** – candidate of Science (Biology), associate professor; **Kulakova T.S.** – Candidate of Science (Agriculture), Associate Professor; **Modanova K.E.** – student

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Vologda State Dairy Farming Academy named after N.V. Vereshchagin»

*fomina.l.l@2.molochnoe.ru

The research was financially supported by the Russian Science Foundation (Grant No. 23-26-00115), <https://rscf.ru/project/23-26-00115/>

ABSTRACT

The paper presents the results of examine the relationship between blood plasma incubation temperature and the hemostasis parameters in chickens. The purpose of this research was to study of the blood coagulation parameters in chickens during hypo-, normo- and hyperthermia in vitro. In addition, to assess the possibility of using a coagulometer to identify hemostasis activity and the use of hemostatic reactions in chickens as models for human medicine. The Vologda region was where the study was conducted. The coagulogram was examined for the following parameters: thrombin time (TT), prothrombin time (PT), activated partial thromboplastin time (APTT), fibrinogen activity, and antithrombin III activity (AT-III). It was found that at 46° C activation of blood clotting occurs, manifested as an acceleration of the TT by 29% (13 seconds), PT by 72% (111 seconds), and decrease in the antithrombin III activity by 6% (1.5 seconds) compared to normothermia. The parameters of secondary hemostasis also responded to hypothermia (18 °C) with hypercoagulation. It was an acceleration of PT of 81% (125 sec), an increase in fibrinogen activity by 77% (84 sec) and a decrease in AT-III activity by 55% (14 sec), with the exception of thrombin time, which was extended by 70% (104 seconds). There were no significant changes in the APTT at different temperatures. The correlation-regression and one-factor analysis of variance revealed a significant correlation between the temperature and the TT and the fibrinogen activity, where the coefficients of determination for which were 71% and 39%, respectively. Plasma hemostasis activity measured on a coagulometer (at 37 °C) showed no significant differences

from those measured at 43 °C, except for prothrombin time, which was 71.51 seconds (47%) less than that measured at 43 °C.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Федорова Е.С., Станишевская О.И., Дементьева Н.Ю. Современное состояние и проблемы племенного птицеводства в России (обзор) // *Аграрная наука Евро-Северо-Востока*. 2020;21(3):217-232. DOI <https://doi.org/10.30766/2072-9081.2020.21.3.217-232>
2. Уколов П.И., Шараськина О.Г., Чиглинская П.Ю. Особенности репродукции кур в мелких фермерских хозяйствах Северо-Запада России // *Нормативно-правовое регулирование в ветеринарии*. 2021;(4):126-128. DOI <https://doi.org/10.52419/issn2072-6023.2021.4.126>
3. Buzala M. et al. The mechanism of blood coagulation, its disorders and measurement in poultry // *Livestock Science*. 2017. Т. 195. С. 1-8. DOI <http://dx.doi.org/10.1016/j.livsci.2016.11.009>
4. *Avian Physiology*. P. D. Sturkie. 1986. P. 516. DOI <https://doi.org/10.1007/978-1-4612-4862-0>
5. Asakura H. [Classifying types of DIC: clinical features and animal models]. *Rinsho Ketsueki*. 2016 Apr;57(4):397-404. Japanese. DOI: 10.11406/rinketsu.57.397. PMID: 27169441.
6. Gentry, P.A. Comparative aspects of blood coagulation // *The Veterinary Journal*. V. 168. I. 3. 2004. P. 238-251. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2003.09.013>.
7. Frost CL, Naudé RJ, Muramoto K. Ostrich antithrombin III: kinetics and mechanism of inhibition of ostrich thrombin. *Int J Biochem Cell Biol*. 2002 Sep;34(9):1164-71. DOI: 10.1016/s1357-2725(02)00037-7. PMID: 12009311.
8. Tentoni, J., Polini, N.N. & Casanave, E.B. Comparative vertebrate fibrinolysis. *Comp Clin Pathol* 19, 225–234 (2010). DOI: <https://doi.org/10.1007/s00580-010-0988-3>
9. Кузник Б.И. и др. Возрастные особенности системы гемостаза у кур// *Тромбоз, гемостаз и реология*. №1 (21). 2005. С. 32-36
10. Данилишин Ю.Б. Возрастные особен-

ности иммунитета и гемостаза при гипопитарной недостаточности // Автореф. дис. канд. мед. наук: 14.00.53 - СПб., 2005. -22 с.

11. Кузник Б.И и др. Влияние гипопитарэктомии на показатели иммунитета, эритропоэза, свертывания крови и фибринолиза у цыплят и старых кур // Медицинская иммунология. 2004. Т. 6. № 3-5. С. 235-236.

12. Lewis J. H. Comparative hemostasis in vertebrates. Springer Science & Business Media. 2013. P 426.

13. Гнездилова Л.А. Динамика показателей коагуляционного гемостаза коров в разные физиологические периоды в условиях экстенсивного и интенсивного ведения животноводства// Международный вестник ветеринарии. №2. 2022. С. 128-134 DOI: 10.52419/issn2072-2419.2022.2.128,

14. Баруздина Е.С Информативность показателей системы гемостаза у собак при хирургических операциях// Международный вестник ветеринарии. №3. 2016. С. 107-110

15. Takahira, R.K., Thomazini, C.M., Trentin, T.C., Sartori, J.R. Comparison of homologous and heterologous thromboplastin in avian prothrombin time in two different temperatures // Proceedings of the 63rd Annual Meeting of the American College of Veterinary Pathologists and the 47th Annual Meeting of the American Society of Veterinary Clinical Pathology, December 1-5, Seattle, Washington. 2012.

16. Bruchim Y., Kelmer E., Cohen A., Codner C., Segev G., Aroch I. Hemostatic abnormalities in dogs with naturally occurring heatstroke // J Vet Emerg Crit Care (San Antonio). 2017. V.27(3) P.315-324. DOI: 10.1111/vec.12590

17. Xu S, Miao H, Gong L, Feng L, Hou X, Zhou M, Shen H, Chen W. Effects of Different Hypothermia on the Results of Cardiopulmonary Resuscitation in a Cardiac Arrest Rat Model // Dis Markers. 2022. Vol. 1-2. P. 1-11. DOI: 10.1155/2022/2005616

18. Wu J., Yuan W., Li J. et al. Effects of Mild Hypothermia on Cerebral Large and Small Microvessels Blood Flow in a Porcine

Model of Cardiac Arrest // Neurocrit Care. 2017. Vol. 27. P. 297-303. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12028-017-0395-6>

REFERENCE

1. Fedorova E.S., Stanishevskaya O.I., Dementieva N.Yu. The current state and problems of breeding poultry farming in Russia (review) // Agrarian science of the Euro-North-East. 2020;21(3):217-232. DOI <https://doi.org/10.30766/2072-9081.2020.21.3.217-232>

2. Ukolov P.I., Sharaskina O.G., Chigilinskaya P.Yu. Features of reproduction of chickens in small farms of the North-West of Russia // Regulatory and legal regulation in veterinary medicine. 2021;(4):126-128. DOI <https://doi.org/10.52419/issn2072-6023.2021.4.126>

3. Buzala M. et al. The mechanism of blood coagulation, its disorders and measurement in poultry // Livestock Science. 2017. Vol. 195. pp. 1-8. DOI <http://dx.doi.org/10.1016/j.livsci.2016.11.009>

4. Avian Physiology. P. D. Sturkie. 1986. P. 516. DOI <https://doi.org/10.1007/978-1-4612-4862-0>

5. Asakura H. [Classifying types of DIC: clinical features and animal models]. Rinsho Ketsueki. 2016 Apr;57(4):397-404. Japanese. DOI: 10.11406/rinketsu.57.397. PMID: 27169441.

6. Gentry, P.A. Comparative aspects of blood coagulation //The Veterinary Journal. V. 168. I. 3. 2004. P. 238-251. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2003.09.013>.

7. Frost CL, Naudé RJ, Muramoto K. Ostrich antithrombin III: kinetics and mechanism of inhibition of ostrich thrombin. Int J Biochem Cell Biol. 2002 Sep;34(9):1164-71. DOI: 10.1016/s1357-2725(02)00037-7. PMID: 12009311.

8. Tentoni, J., Polini, N.N. & Casanave, E.B. Comparative vertebrate fibrinolysis. Comp Clin Pathol 19, 225-234 (2010). DOI: <https://doi.org/10.1007/s00580-010-0988-3>

9. Kuznik B.I. et al. Age-related features of the hemostasis system in chickens// Thrombosis, hemostasis and rheology. No. 1 (21). 2005. pp. 32-36

10. Danilishin Yu.B. Age-related features of

- immunity and hemostasis in pituitary insufficiency // Abstract of the dissertation of the Candidate of Medical Sciences: 14.00.53 - St. Petersburg, 2005. -22 p.
11. Kuznik B. And et al. The effect of hypophysectomy on immunity, erythropoiesis, blood clotting and fibrinolysis in chickens and old chickens // *Medical Immunology*. 2004. Vol. 6. No. 3-5. pp. 235-236.
12. Lewis J. H. Comparative hemostasis in vertebrates. Springer Science & Business Media. 2013. P 426.
13. Gnezdilova L.A. Dynamics of indicators of coagulation hemostasis of cows in different physiological periods in conditions of extensive and intensive animal husbandry// *International Bulletin of Veterinary Medicine*. No.2. 2022. pp. 128-134 DOI: 10.52419/issn2072-2419.2022.2.128,
14. Baruzdina E.S. Informative value of indicators of the hemostasis system in dogs during surgical operations// *International Bulletin of Veterinary Medicine*. No.3. 2016. pp. 107-110
15. Takahira, R.K., Thomazini, C.M., Trentin, T.C., Sartori, J.R. Comparison of homologous and heterologous thromboplastin in avian prothrombin time in two different temperatures // *Proceedings of the 63rd Annual Meeting of the American College of Veterinary Pathologists and the 47th Annual Meeting of the American Society of Veterinary Clinical Pathology*, December 1-5, Seattle, Washington. 2012.
16. Bruchim Y., Kelmer E., Cohen A., Codner C., Segev G., Aroch I. Hemostatic abnormalities in dogs with naturally occurring heatstroke // *J Vet Emerg Crit Care (San Antonio)*. 2017. V.27(3) P.315-324. DOI: 10.1111/vec.12590
17. Xu S, Miao H, Gong L, Feng L, Hou X, Zhou M, Shen H, Chen W. Effects of Different Hypothermia on the Results of Cardiopulmonary Resuscitation in a Cardiac Arrest Rat Model // *Dis Markers*. 2022. Vol. 1-2. P. 1-11. DOI: 10.1155/2022/2005616
18. Wu J., Yuan W., Li J. et al. Effects of Mild Hypothermia on Cerebral Large and Small Microvessels Blood Flow in a Porcine Model of Cardiac Arrest // *Neurocrit Care*. 2017. Vol. 27. p. 297-303. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12028-017-0395-6>