

Ю.В. Струк¹, Н.А. Замятина², О.А. Якушева¹, Н.Н. Чайкина¹
МИКРОРЕОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ЭРИТРОЦИТОВ
ПОСЛЕ АППАРАТНОЙ ОБРАБОТКИ

¹ГБОУ ВПО ВГМУ им. Н.Н. Бурденко Минздрава России, каф. факультетской терапии;

²БУЗ ВО «ВОКБ №1»

Резюме. Массивное маточное кровотечение является грозным осложнением в оперативном акушерстве. Для восполнения кровопотери широкое применение получила реинфузия собственных отмытых эритроцитов. Однако, аппаратная обработка изменяет реологические свойства аутокрови, что негативно сказывается на процессе доставки кислорода в ткани. Нами исследовано состояние аутоэритроцитов после обработки аппаратом Cell-Saver 5. В результате отмечено значимое изменение деформируемости эритроцитов при сохранении их морфологических индексов и показателя гетерогенности. Данное обстоятельство обеспечивает оптимальные условия для доставки кислорода в ткани.

Ключевые слова: кислородтранспортная функция крови, деформируемость эритроцитов, реинфузия аутокрови.

Актуальность. В настоящее время массивная кровопотеря вследствие маточного кровотечения занимает ведущее место в структуре материнской смертности в акушерской практике. В мире ежегодно умирают более 140 000 женщин вследствие послеродового кровотечения, причем более половины всех случаев материнской смертности приходится на первые 24 часа от момента родов. Массивные акушерские кровотечения возникают в 4% случаев при самостоятельных родах, 6-7% при оперативном родоразрешении [11].

Особенностью кровотечений в акушерстве является внезапность, массивность, возникновение непосредственной угрозы для жизни матери и плода. Ранее в лечении кровотечений важное место отводилось гемотрансфузии, объем восполнения соотносился со степенью анемии [2]. Однако, несмотря на развитие трансфузиологии, совершенствования методов переработки, хранения крови и ее компонентов, аллогенные гемотрансфузии остаются опасными для здоровья и сопряжены с возможностью развития инфекционных, метаболических и иммунологических осложнений.

Инфекционные осложнения включают передачу вирусных, бактериальных, паразитарных инфекций. Иммунологические осложнения обусловлены сенсibilизацией реципиента донорскими лейкоцитами, эритроцитами, белками плазмы и включают гемолитические и негемолитические реакции. Метаболические осложнения характеризуются развитием ацидоза, цитратной интоксикации. Помимо этого, трансфузии аллогенных эритроцитов тормозят регенераторную активность костного мозга, а железо, содержащееся в эритроцитах, поглощается макрофагами и остается в тканях в форме гемосидерина, не расходуясь на восстановление эритрона.

В патогенезе острой кровопотере одним из важных факторов является изменение реологических свойств крови и состояния эритроцитов. Кровь является средой, обладающую внутренней структурой, и представляет собой суспензию

форменных элементов в растворе-плазме. Свыше 90% форменных элементов крови составляют эритроциты [3, 14].

Важнейшей характеристикой, которая формирует кислородтранспортную функцию крови и реагирует на любые метаболические изменения эритроцитов является их деформируемость [6, 12]. При выраженном снижении деформируемости и повышение агрегации эритроцитов манифестирует локальная гипоперфузия тканей [7, 13].

Основными последствиями микрореологических нарушений являются: снижение доступности кислорода тканям, нарушения в системе гемостаза, стимуляция системного воспалительного ответа, что в конечном итоге приводит к развитию гипоксии, от выраженности и длительности которой зависит вероятность возникновения гнойно-септических, тромботических осложнений, полиорганной недостаточности, рефрактерного шока и летальность в послеоперационном периоде [1].

В настоящее время все более широкое применение в хирургической практике находят методы сбережения собственной крови пациента и другие альтернативы донорской гемотрансфузии. Эффективными методами являются предоперационная и интраоперационная заготовка аутокрови до операции и во время вмешательства, интраоперационная и послеоперационная реинфузия аспирированной из операционной раны крови, с предварительной обработкой (отмыванием эритроцитов с использованием аппаратов для реинфузии) [5, 8].

Основной проблемой применения трансфузии аутокрови в акушерстве является проникновение содержащихся в амниотической жидкости тромбопластина, гистамина, серотонина, простагландинов E1, E2 и другие биологически активных веществ в кровеносное русло. Эти агенты ответственны за запуск процесса гиперкоагуляции, ДВС-синдрома, системного воспалительного ответа организма [3, 9]. Именно поэтому основной целью аппаратной обработки аутокрови является отмывание эритроцитов в достаточном количестве физраствора.

Проведенные исследования отмывтых эритроцитов на наличие антикоагулянтной активности, электронно-микроскопические исследования, ультрацитохимическое определение АМФ-азы и АТФ-азы в суспензии эритроцитов свидетельствуют об отсутствии нарушений системы гемостаза и их морфофункциональных характеристик.

Цель работы: исследовать морфологию и функциональное состояние эритроцитов после обработки аппаратом Cell-Saver.

Материал и методы исследования. В исследование включены 15 пациенток в возрасте от 28 до 41 лет, которым проведено оперативное родоразрешение, сопровождающееся кровопотерей в объеме от 900 до 6000 мл. Критериями исключения считались: заболевания системы крови и ранее существовавшие (до беременности) нарушения гемостаза. Всем пациенткам выполнена реинфузия аутоэритроцитов при помощи аппарата Cell-Saver 5 (Haemonetics). При этом раневая кровь собирается с помощью аспиратора, после смешивания с антикоагулянтом

фильтруется и отмывается. Отделение эритроцитов от тромбопластических субстанций, плазмы, частиц тканей осуществляется в центрифуге и основано на различии плотности частиц. На дне центрифуги оседают эритроциты и ретикулоциты, обладающие наибольшей относительной плотностью. Надосадочная жидкость, содержащая антикоагулянт, тромбоциты и свободный гемоглобин, удаляется после центрифугирования. Полученная эритроцитарная взвесь реинфузируется.

Методики исследования эритроцитов включили в себя микроскопическое исследование мазков крови, эритроцитарные индексы: средний объем эритроцита (MCV), среднее содержание гемоглобина в эритроците (MCH), средняя концентрация гемоглобина в эритроците (MCHC), показатель гетерогенности эритроцитов (RDW). Исследования проводились на автоматическом гемоанализаторе фирмы ERMA INC. MODEL PCE-210.

Для оценки деформируемости эритроцитов был использован фильтрационный метод, разработанный Р. Teitel с соавт., в модификации А.П. Васильева (1991), дополненный способом-прототипом по А.В. Закутскому (2001) [10]. Агрегацию эритроцитов изучали при помощи светового микроскопа путем подсчета в камере Горяева агрегированных и не агрегированных эритроцитов с вычислением среднего размера агрегата.

Статистический анализ данных производился с помощью персонального компьютера на базе процессора Intel Pentium CPU J2900.и пакета прикладных программ Statistica 7,0. Выполнен однофакторный параметрический анализ ANOVA. Для апостериорного сравнения групп использовался критерий Шеффе. Межгрупповые различия считались значимыми при уровне $p < 0,05$.

Полученные результаты и их обсуждение. В ходе исследования сформированы 3 группы сравнения. В первой группе исследованы микрореологические свойства эритроцитов у пациенток до операции кесарева сечения. Во второй группе изучались эритроциты у тех же пациенток на пике кровотечения после аппаратной обработки. В третьей группе представлены аналогичные показатели у тех же пациенток в первые сутки после реинфузии отмывтых эритроцитов (см. табл.).

Таблица.

Сравнительная характеристика структурно-функциональных свойств эритроцитов обследованных пациенток.

Показатели	1 группа (до операции)	2 группа (Cell-Saver)	3 группа (1 сутки после реинфузии)
Гемоглобин (г/л)	116±4,2	152±5,7	92±4,6
Гематокрит (%)	0,29±0,3	0,43±0,1	0,24±0,2
Эритроциты *10 ⁹ /ml	4,2±1,8	5,4±1,2	3,2±1,2
MCV (fl)	78,5±1,8	77,2±2,5	76,2±2,1
MCH (pg)	27,9±0,8	28,3±0,6	28,2±0,7
MCHC (g/dl)	36,2±0,4	36,8±1,2	37,2±0,8
RDW (%)	16,3±0,6	17,8±0,7	16,3±0,6
Деформируемость эритроцитов (ДЭ)	33,7±0,8	38,1±0,9*	37,8±0,7*

*примечание: $p < 0,05$

Отмечено статистически значимое повышение концентрации гемоглобина, количества эритроцитов и гематокрита во второй группе. Данное обстоятельство обусловлено методикой аппаратной обработки, представляющей центрифугирование аспирированной из раны крови. Таким образом после удаления плазмы и прочих форменных элементов основную фракцию составляют именно эритроциты. После трансфузии аутокрови исследуемые показатели в 3 группе приблизились к исходным значениям.

Показатели среднего объема эритроцита, среднего содержания гемоглобина в эритроците, средней концентрации гемоглобина в эритроците и гетерогенности эритроцитов при однофакторном параметрическом анализе ANOVA во всех трех группах сравнения не имели статистически значимых различий ($p=1,111111$). Полученные данные согласуются с результатами предыдущих исследований [4]. Этот факт свидетельствует об отсутствии негативного влияния отмывания эритроцитов физиологическим раствором с помощью аппарата Cell-Saver. В этом процессе минимизированы набухание и гемолиз, эритроциты содержат достаточное для транспорта кислорода количество гемоглобина.

При исследовании показателя деформируемости эритроцитов выявлены статистически значимые различия между группами. Деформируемость эритроцитов во 2 группе увеличилась на 13,1% по сравнению с 1 группой ($p=0,004112$). Полученные результаты свидетельствуют об улучшении реологических свойств отмытых эритроцитов, их способности изменять конфигурацию и, следовательно, эффективности перемещения в микроциркуляторном русле. Так же выявлено снижение на 0,79% показателя деформируемости в 3 группе по сравнению с 2 группой ($p=0,004129$). Это обусловлено, по-видимому, различиями в объемах кровопотери (900-6000 мл) и, соответственно, трансфузии аутокрови. При этом результаты в случае меньшего объема потери крови несколько нивелируют показатели при массивной кровопотере. Следует отметить, что данное предположение требует дальнейшего изучения.

Выводы. Использование обработки аутоэритроцитов аппаратом Cell-Saver достоверно повышает их деформируемость. При этом не происходит значимых изменений эритроцитарных индексов. Сочетание этих эффектов способствует оптимальному функционированию системы транспорта кислорода в ткани после восполнения кровопотери в оперативном акушерстве.

Литература.

1. Белошевский В.А. Анемии / В.А. Белошевский, Э.В. Минаков. – Воронеж, 2003. – 346 с.
2. Бодяжина В.И. Акушерство / В.И. Бодяжина, И.Б. Семенченко. – Москва : Медицина, 2009. – 477 с.
3. Долина О.А. Анестезиология и реаниматология / О.А. Долина. – Москва, 2002. – 456 с.
4. Замятина Н.А. Функциональное состояние эритроцитов после обработки аппаратом Cell-Saver / Н.А. Замятина, Ю.В. Струк, О.А. Якушева // Вестник современной науки – 2016. – Т.13, № 1. – С. 135-139.
5. Зильбер А.П. Этюды критической медицины. Кн. 1 : Медицина критических состояний. Общие проблемы / А.П. Зильбер. – Петрозаводск, 1995. – 359 с.

6. Зинчук В.В. Деформируемость эритроцитов: физиологические аспекты / В.В. Зинчук // Успехи физиологических наук. – 2001. – Т. 32, № 3. – С. 66-78.
7. Изменение реологических свойств крови при острых экспериментальных нарушениях мозгового кровообращения и их коррекции / И.А. Соколова [и др.] // Гемореология в микро- и макроциркуляции : материалы междунар. конф. – Ярославль, 2005. – С. 38.
8. Интраоперационная аппаратная реинфузия эритроцитарной массы как метод кровесбережения / Е.С. Горобец [и др.] // Российский журнал анестезиологии и интенсивной терапии. - 1999. - № 2. - С. 71-81.
9. Клиническая анестезиология / под ред. Б.Дж. Полларда. – Москва, 2006. – 805 с.
10. Патент 2197726 Российская Федерация. Способ дифференциальной оценки и выбора тактики коррекции деформируемости эритроцитов / А.В. Закутский, В.В. Ильин ; заявитель А.В. Закутский В.В. Ильин ; патентообладатель А.В. Закутский. - № 2000128833 ; заявл. 17.11.00 ; опубл. 27.01.03, Бюл. - № 3. - 2 с.
11. ACOG Practice Bulletin: Clinical Management Guidelines for Obstetrician-Gynecologists Number 76, October 2006: postpartum hemorrhage. American College of Obstetricians and Gynecologists // Obstet. Gynecol. – 2006. – Vol. 108, № 4. – P. 1039-1047.
12. Effect of erythrocyte deformability on in vivo red cell transit time and hematocrit and their correlation with in vitro filterability / H.H. Lipowsky [et al.] // Microvasc. Res. – 1993. – Vol. 46. – P. 43-64.
13. Handbook of hemorheology and hemodynamics / O.K. Baskurt [et al.]. - IOS Press, 2007. – 455 p.

Abstract.

U.V. Struk, N.A. Zamjatina, O.A. Yakusheva, N.N. Chaikina
MICRORHEOLOGICAL PROPERTIES OF ERYTHROCYTES
AFTER HARDWARE PROCESSING

*Voronezh State Medical University, Department of Anesthesiology and Resuscitation of the
Institute of Additional Professional Education;
Voronezh regional clinical hospital №1.*

Abnormal uterine bleeding is a severe complication in operative obstetrics. Reinfusion proper scour erythrocytes has found wide application for blood replacement. However, the processing hardware modifies proper red-blood cells characteristics. This fact has a negative influence on oxygen delivery process to the tissues. We investigated auto erythrocytes condition after the processing hardware by Cell-saver 5. Significant variation of erythrocytes deformability have been registered. While morphological indexes and heterogeneity of red-blood cells are kept previous. Given case supports optimal conditions for oxygen delivery to the tissues.

Keywords: oxygen transport function of blood, erythrocytes deformability, reinfusion of autoblood.

References:

1. Beloshevskiy V.A., Minakov Ed.V. Anemia – Voronezh, 2003. – 346 p.
2. Bodyazhina V.I., Semenchenko I.B. Obstetrics – Moscow : Medicina, 2009. – 477 p.
3. Dolina O.A. Anesthesiology and intensive care. – Moscow, 2002. – 456 p.
4. Zamjatina N.A., Struk U.V., Yakusheva O.A. The functional state of erythrocytes after hardware processing in Cell-Saver // Bulletin of modern science – 2016. –Vol. 1(13). – P. 135-139.
5. Zilber A.P. Studies of critical medicine. Book 1 : Critical care medicine. Common problems – Petrozavodsk, 1995. – 359 p.
6. Zinchuk V.V. Erythrocyte deformability: physiological aspects // Uspekhi fiziologicheskikh nauk. – 2001. – Vol. 3(32). – P. 66-78.
7. The change of rheological properties of blood in experimental acute cerebrovascular disorders and their correction / I.A. Sokolova [et al.] // Hemorheology in micro - and macro-circulation: proceedings of international conf. – Yaroslavl, 2005. – P. 38.
8. Intraoperative hardware reinfusion of packed red blood cells as a method of blood saving / E.S. Gorobets [et al.] // Russian journal of anesthesiology and intensive care. - 1999. – Vol. 2. - P. 71-81.
9. Clinical anesthesiology / ed. by B.J. Pollard – Moscow, 2006. – 805 p.
10. Patent 2197726 Russian Federation. The method of differential assessment and selection strategy for the correction of erythrocyte deformability / A.V. Zakutskiy, V.V. Ilyin ; applicant A.V.

Zakutskiy, V.V. Ilyin ; patent holder A.V. Zakutskiy. - № 2000128833 ; appl. 17.11.00 ; publ. 27.01.03, bull. - № 3. - 2 p.

11. ACOG Practice Bulletin: Clinical Management Guidelines for Obstetrician-Gynecologists Number 76, October 2006: postpartum hemorrhage. American College of Obstetricians and Gynecologists // *Obstet. Gynecol.* – 2006. – Vol. 108, № 4. – P. 1039-1047.

12. Effect of erythrocyte deformability on in vivo red cell transit time and hematocrit and their correlation with in vitro filterability / Н.Н. Lipowsky [et al.] // *Microvasc. Res.* – 1993. – Vol. 46. – P. 43-64.

13. Handbook of hemorheology and hemodynamics / О.К. Baskurt [et al.]. - IOS Press, 2007. – 455 p.

Сведения об авторах: Струк Юрий Владимирович – д.м.н., профессор, зав. кафедрой анестезиологии и реаниматологии ИДПО ГБОУ ВПО ВГМУ им. Н.Н. Бурденко Минздрава России; Замятина Наталья Алексеевна – врач анестезиолог-реаниматолог БУЗ ВО ВОКБ №1; Якушева Ольга Алексеевна – к.м.н., доцент ГБОУ ВПО ВГМУ им. Н.Н. Бурденко Минздрава России, ou33@mail.ru; Чайкина Наталья Николаевна – к.м.н., доцент ГБОУ ВПО ВГМУ им. Н.Н. Бурденко Минздрава России