

Возможности оптимизации трансфузионной терапии в гастрохирургии

И.С.Симутис^{✉1}, Г.А.Бояринов², А.С.Мухин², Л.А.Отдельнов²

¹ГБУЗ НО Городская клиническая больница №40. 603083, Россия, Нижний Новгород, ул. Героя Юрия Смирнова, д. 71;

²ГБОУ ВПО Нижегородская государственная медицинская академия Минздрава России. 603005, Россия, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, д. 10/1

Цель исследования. Разработка методики предтрансфузионной реабилитации консервированных эритроцитов для больных с периперационной кровопотерей тяжелой степени.

Материалы и методы. Объектом исследования служила эритроцитарная масса крови человека различных сроков хранения, стабилизированная консервантом CPDA-1. Озонирование эритроцитарной массы осуществлялось посредством ее смешивания с озонированным раствором хлорида натрия 0,9% в эквивалентном объеме, содержащим различные концентрации озона, дискретно возрастающие до 20 мг/л. Через 30 мин экспозиции в суспензии полученной эритроцитарной взвеси определяли концентрации малонового диальдегида, аденозинтрифосфата (АТФ), 2,3-дифосфоглицерата (2,3-ДФГ), активность каталазы в эритроцитах и их электрофоретическую подвижность.

Результаты исследования. При воздействии разных соотношений озона и эритроцитов выявляется интервал концентраций озона 0,5–2 мг/л, вызывающих при эквивалентном смешивании восстановление уровня АТФ и 2,3-ДФГ в эритроцитах практически до нормальных значений при сроках хранения от 7 до 21 сут. При сроках хранения эритроцитарной массы 30 сут увеличение содержания 2,3-ДФГ в эритроцитах наблюдалось на фоне истощения пула АТФ в клетках. При этом активность внутриэритроцитарной каталазы в основной группе возрастает, приводя через 30 мин после обработки к существенному снижению малонового диальдегида без нарушения электрофоретической подвижности обрабатываемых эритроцитов.

Заключение. В работе продемонстрирован потенциал воздействия озона в малых концентрациях на такие ключевые факторы системы кислородного транспорта, как энергетический и метаболический статус эритроцитов, а также их морфофункциональные свойства (прежде всего деформабельность) при предтрансфузионной обработке.

Ключевые слова: консервированная эритроцитарная масса, озон, аденозинтрифосфат, 2,3-дифосфоглицерат, малоновый диальдегид.

✉simutis@mail.ru

Для цитирования: Симутис И.С., Бояринов Г.А., Мухин А.С., Отдельнов Л.А. Возможности оптимизации трансфузионной терапии в гастрохирургии. Consilium Medicum. 2016; 18 (8): 93–95.

Possibilities of optimization of transfusion therapy in gastrosurgery

I.S.Simutis^{✉1}, G.A.Boyarinov², A.S.Mukhin², L.A.Otdelnov²

¹City Clinical Hospital №40. 603083, Russian Federation, Nizhny Novgorod, ul. Geroia Yurii Smirnova, d. 71;

²Nizhny Novgorod State Medical Academy of the Ministry of Health of the Russian Federation. 603005, Russian Federation, Nizhny Novgorod, pl. Minina i Pozharskogo, d. 10/1

Objective. To develop techniques pretransfusion rehabilitation canned red blood cells in patients with perioperative blood loss, severe.

Materials and methods. The object of the study served as the red cells of various human blood storage time, stable preservative CPDA-1. Ozonation red blood cells was carried out by mixing it with ozonated solution NaCl 0.9% in an equivalent volume containing various concentrations of ozone, discrete increases of up to 20 mg/l. After 30 minutes of exposure to the slurry obtained erythrocyte suspension was determined concentration of malondialdehyde, adenosine triphosphate (ATP), 2,3-diphosphoglycerate (2,3-DPG), catalase activity in erythrocytes and their electrophoretic mobility.

Results of the study. Under the influence of different ratios of ozone and erythrocytes detected ozone concentration range of 0.5–2 mg/l, causing an equivalent mixing restoration of ATP levels and 2,3-DPG in red blood cells to near normal values during the shelf life of 7 to 21 days. In terms of storage of packed red blood cells to 30 days, an increase 2,3-DPG content in red blood cells was observed on the background of the depletion of ATP pools in the cells. Thus inside the erythrocytes catalase activity in the basic group increases, resulting in 30 minutes after treatment, a significant reduction of malondialdehyde, without disturbing the electrophoretic mobility of treated erythrocytes.

Conclusion. The work demonstrated the potential effects of ozone at low concentrations on key factors such as the system of oxygen transport and energy metabolic status of erythrocytes, as well as their morphological and functional properties (primarily deformability) at pretransfusion processing.

Key words: canned red cells, ozone, adenosine triphosphate, 2,3-diphosphoglycerate, malondialdehyde.

✉simutis@mail.ru

For citation: Simutis I.S., Boyarinov G.A., Mukhin A.S., Otdelnov L.A. Possibilities of optimization of transfusion therapy in gastrosurgery. Consilium Medicum. 2016; 18 (8): 93–95.

Введение

Кровотечения в периперационном периоде – частое осложнение у больных при операциях на верхнем отделе желудочно-кишечного тракта. Риск развития кровотечений и анемии обусловлен длительностью вмешательства, травматичностью операции, дилуцией плазменных факторов свертывания в процессе инфузионной терапии, степенью гипотермии, гемотрансфузионной терапией и т.д. [1]. Группу риска развития геморрагических осложнений составляют больные с множественной сопутствующей патологией, с длительно существующей оккультной кровопотерей, повторно оперируемые, а также пациенты, которым проводили терапию с применением антикоагулянтов, антиагрегантов, простагландинов, ингаляции оксида азота и других препаратов, снижающих функциональную активность тромбоцитов [2]. Диффузные, неконтролируемые кровотечения, сопровождающиеся выраженной анемией, значительно осложняют течение послеоперационного периода и увеличивают летальность, требуя своевременного и адекватного трансфузионного возмещения [3]. Вместе с тем переливание эритроцитарной массы, особенно значи-

тельных сроков хранения, приводит лишь к дополнительному сладжированию и тромбированию микроциркуляторного русла и ухудшению тем самым скомпенсированной основным патологическим процессом газотранспортной функции крови [4–6]. Кроме этого, остается недостаточно изученным вопрос о потенциале улучшения основной, газотранспортной функции переливаемых эритроцитов, методологии и возможностей ее реабилитации перед трансфузией. В качестве физико-химического фактора, способного эффективно влиять на морфофункциональные свойства эритроцитов *in vivo*, в данной работе нами был использован озонированный физиологический раствор.

Цель исследования – разработка методики предтрансфузионной реабилитации консервированных эритроцитов для кардиохирургических больных с кровопотерей тяжелой степени.

Материалы и методы

Объектом исследования служила эритроцитарная масса крови человека разных сроков хранения, приготовленная в

Концентрация озона, мг/л	Содержание АТФ в зависимости от сроков хранения эритроцитарной массы, мкмоль/мл			
	7 сут	14 сут	21 сут	30 сут
Исходные эритроциты	0,86±0,08	0,75±0,10	0,54±0,10	0,46±0,15
0,5–0,8	1,09±0,10*	0,60±0,14	0,52±0,12	0,33±0,14
1–2	1,12±0,09*	1,09±0,13*	1,05±0,10*	0,49±0,11
3–4	1,02±0,10*	1,13±0,12*	1,06±0,14*	0,21±0,16
5–6	0,99±0,08	1,08±0,11*	0,72±0,16	0,25±0,08
7–8	0,97±0,12	0,92±0,16*	0,89±0,13*	0,24±0,08
9–10	0,88±0,15	0,80±0,13	0,65±0,15	0,24±0,09
11–12	0,74±0,16	0,60±0,17	0,73±0,17	0,20±0,11

Примечание. 0,9–1,2 мкмоль/мл – норма концентрации АТФ в эритроците [7]. *статистически значимые различия с аналогичным показателем контрольной группы ($p < 0,05$).

Концентрация озона, мг/л	Содержание 2,3-ДФГ в зависимости от сроков хранения эритроцитарной массы, мкмоль/мл			
	7 сут	14 сут	21 сут	30 сут
Исходные эритроциты	2,07±0,16	2,17±0,4	1,73±0,15	1,69±0,18
0,5–0,8	3,41±0,17*	2,85±0,15*	1,87±0,12	1,83±0,16
1–2	3,54±0,11*	2,97±0,13*	2,06±0,16*	1,90±0,20
3–4	3,73±0,15*	2,86±0,12*	1,99±0,13*	1,53±0,22
5–6	3,40±0,14*	2,88±0,13*	1,89±0,16*	1,58±0,17
7–8	2,39±0,17	2,59±0,15*	1,83±0,16	1,65±0,16
9–10	2,16±0,16	2,18±0,6	1,51±0,26	1,70±0,19
11–12	1,72±0,18	2,32±0,12	1,71±0,14	1,63±0,19

Примечание. 3,6–5,0 мкмоль/мл – норма концентрации 2,3-ДФГ в эритроците [7]. *статистически значимые различия с аналогичным показателем контрольной группы ($p < 0,05$).

ГБУЗ НО «Нижегородский областной центр крови им. Н.Я.Климовой» в соответствии с общепринятыми стандартами и стабилизированная консервантом CPDA-1. Озонирование эритроцитарной массы осуществлялось посредством ее смешивания с озонированным раствором NaCl 0,9% в эквивалентном объеме, содержащим различные концентрации озона, дискретно возрастающие до 20 мг/л. Озонирование физиологического раствора, а также оценку концентрации озона производили на озонаторной установке УОТА-60-01-Медозон. Через 30 мин экспозиции в суспензии полученной эритроцитарной взвеси определяли концентрации малонового диальдегида (МДА), аденозинтрифосфата (АТФ), 2,3-дифосфоглицерата (2,3-ДФГ), активность каталазы в эритроцитах и электрофоретическую подвижность эритроцитов (ЭФПЭ). Измерение ЭФПЭ производили методом микроэлектрофореза, регистрируя время прохождения эритроцитами расстояния 10 мкм в трис-НСI-буфере с рН 7,4 при силе тока 10 мА. Концентрацию МДА определяли по реакции с тиобарбитуровой кислотой. Содержание 2,3-ДФГ и АТФ в суспензии отмытых эритроцитов исследовали неэнзиматическим методом, определяя неорганический фосфор в гидролизатах эритроцитов. Полученные данные были обработаны с помощью пакетов прикладных программ Statistica 6.0 и Microsoft Excel с использованием методов одномерной статистики. Достоверность различий средних определяли по t-критерию Стьюдента. Различия считали достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты исследования

В ходе исследования установлено, что обработка озоном консервированных эритроцитов разных сроков хранения приводила к различному изменению концентрации АТФ и 2,3-ДФГ в эритроцитах (табл. 1).

При воздействии разных соотношений озона и эритроцитов выявляются две оптимальные концентрации озона,

вызывающие при эквивалентном смешивании восстановление АТФ в эритроцитах практически до нормальных значений при сроках хранения от 7 до 21 сут. Такими свойствами данный процесс начинает обладать в концентрационных интервалах 2–4 мг/л и 5–8 мг/л. При этом стимулирующее действие концентрации озона 2–4 мг/л проявлялось при сроках хранения эритроцитарной массы 7–21 сут, выраженность эффектов в диапазоне концентраций 6–10 мг/л была значительно уже и проявлялась значимым повышением концентрации макроэргов лишь на 14-е сутки хранения. Следует отметить, что наиболее выраженное действие на содержание АТФ в эритроцитах озон оказывал на эритроцитарную массу сроком хранения 7 и 14 сут, тогда как использование данной технологии с эритроцитарной массой сроком хранения 30 сут не вызывало достоверных изменений содержания АТФ в эритроцитах. Малые концентрации озона активируют метаболические процессы, что проявляется увеличением содержания 2,3-ДФГ (при концентрации озона 0,5–2 мг/л) и ростом АТФ (при концентрации озона 2–3 мг/л) в эритроцитах со сроком хранения до 21 сут (табл. 2).

Увеличение концентрации 2,3-ДФГ наблюдается при концентрации озона выше 5 мг/л, однако диапазон воздействующих доз озона зависит от сроков хранения эритроцитарной массы и не всегда сочетается с изменением концентрации АТФ в клетках: при малых сроках хранения эритроцитарной массы (7 сут) наблюдается более выраженное увеличение АТФ на фоне менее значительного накопления 2,3-ДФГ, тогда как с увеличением сроков хранения эритроцитарной массы (14–21 сут) в большей степени идет выработка 2,3-ДФГ и менее значительное накопление АТФ. Рост концентрации 2,3-ДФГ в эритроцитах со сроком хранения 30 сут идет с истощением пула АТФ. Дозы озона от 0,5 до 2 мг/л стимулировали увеличение концентрации 2,3-ДФГ в эритроцитах всех сроков хранения. Озон в концентрациях выше 5 мг/л также вызывал рост со-

Таблица 3. Внутриклеточная концентрация МДА, активность каталазы и ЭФПЭ после обработки эритроцитарной массы озоном в концентрации 2 мг/л

Время после трансфузии	МДА, нмоль/мл		Каталаза, ед./гНв мин		ЭФПЭ, мкмхсмхВ-1хс-1	
	Контрольная группа	Основная группа	Контрольная группа	Основная группа	Контрольная группа	Основная группа
До обработки (контроль)	0,87±0,08	0,93±0,08	59,54±4,66	61,94±3,84	1,18±0,05	1,16±0,04
После озонирования 30 мин	1,16±0,26	1,02±0,08	32,33±1,02*	43,51±2,15*	1,08±0,06*	1,31±0,08*

*Статистически значимые различия со значениями контрольной группы, $p < 0,05$; уровень физиологической нормы концентрации МДА – $1,09 \pm 0,08$ нмоль/мл, активности каталазы – $57,41 \pm 2,70$ ед./гНв мин, ЭФПЭ – $1,28 \pm 0,04$ мкмхсмхВ-1хс-1.

держания 2,3-ДФГ в эритроцитах, однако указанные изменения регистрировались в узком временном диапазоне хранения от 14 до 21 сут. При сроках хранения эритроцитарной массы 30 сут рост концентрации 2,3-ДФГ регистрировался практически при всех концентрациях озона за исключением 4, 8 и 10 мг/л. Следует отметить, что увеличение содержания 2,3-ДФГ в эритроцитах при хранении их 30 сут наблюдалось на фоне истощения пула АТФ в клетках. Сложный характер зависимости уровня АТФ и 2,3-ДФГ в эритроцитах от концентрации озона (наличие нескольких минимумов и максимумов) может быть обусловлен, по нашему мнению, его сложным и неоднозначным влиянием на мембраны, белки, липиды и другие компоненты клетки. Увеличение продукции 2,3-ДФГ в эритроцитах облегчает высвобождение кислорода в тканях и способствует поддержанию pO_2 в крови и тканях на достаточном уровне. АТФ служит донором фосфата для протеинкиназных реакций, осуществляющих фосфорилирование мембранных белков, что, в свою очередь, приводит к увеличению деформальности эритроцитов с увеличением площади поверхности и уменьшением их объема, также способствующему улучшению кислородтранспортной функции клеток. Наблюдаемые эффекты действия озона на содержание в эритроцитах АТФ и 2,3-ДФГ, вероятно, можно объяснить модифицирующим действием озона на метаболизм эритроцитов. При этом можно предположить, что дополнительно активируются ферменты гликолиза. В свою очередь, реализация такой активизации может быть обусловлена снижением уровня молекулярных продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и усилением антиоксидантной системы защиты, установленных при действии озона на кровь *in vitro*.

Результаты, приведенные в табл. 3, подтверждают данное положение. Видно, что при озонировании эритроцитарной массы в наиболее оптимальной по уровням макроэргов схеме – в эквивалентном соотношении с концентрацией озона 2 мг/л перед ее трансфузией пациентам активность антиоксидантного фермента каталазы в основной группе возрастает, приводя через 30 мин после обработки, в отличие от группы контроля, к существенному снижению одного из конечных продуктов ПОЛ – МДА.

Важные результаты, свидетельствующие об эффективности озонирования эритроцитарной массы при ее трансфузии, были получены при измерении ЭФПЭ. Как следует из табл. 3, ЭФПЭ у больных была сниженной как перед трансфузией, так и после нее. Исходя из установленных нами фактов, что снижение ЭФПЭ свидетельствует об идущем в организме в той или иной степени стрессе, можно полагать его полную реализацию у пациентов обеих групп. Вместе с тем при трансфузии озонированной крови установлено существенное повышение ЭФПЭ у пациентов основной группы через 30 мин после трансфузии, что характеризует не только повышение общего отрицательного за-

ряда эритроцитов и, соответственно, улучшение реологических свойств крови, но и снижение, хотя и непродолжительное, стрессового статуса организма.

Выводы

Таким образом, в работе продемонстрирован потенциал воздействия озона, особенно в малых концентрациях, на такие ключевые факторы системы кислородного транспорта, как энергетический и метаболический статус эритроцитов, а также их морфофункциональные свойства (прежде всего деформальность) при предтрансфузионной обработке. Наиболее оптимальной концентрацией, на наш взгляд, является доза озона 2 мг/л, при которой регистрируется рост обеих форм неорганического фосфата, происходит коррекция нарушений ПОЛ и антиоксидантной активности, а также восстановление ЭФПЭ в эритроците. Использование эритроцитарной массы сроком хранения более 30 сут как для озонирования, так и стандартной трансфузии не может быть рекомендовано в кардиохирургической клинике из-за скомпрометированных кислородно-транспортных свойств энергетически истощенных клеток.

Литература/References

1. Гостищев В.К., Евсеев М.А. Гастродуоденальные кровотечения язвенной этиологии. Руководство для врачей. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. / Gostishchev V.K., Evseev M.A. Gastroduodenal'nye krvotocheniiia iazvennoi etiologii. Rukovodstvo dlia vrachei. M.: GEOTAR-Media, 2008. [in Russian]
2. Малков И.С., Халикова Г.Р., Хамзин И.И. Об эффективности современных методов лечения больных с острыми кровотечениями из верхних отделов желудочно-кишечного тракта. Казанский мед. журн. 2010; 91 (3): 362–6. / Malkov I.S., Khalikova G.R., Khamzin I.I. Ob effektivnosti sovremennykh metodov lecheniia bol'nykh s ostrymi krvotocheniiami iz verkhnikh otdelov zheludochno-kishechnogo trakta. Kazanskii med. zhurn. 2010; 91 (3): 362–6. [in Russian]
3. Лобачева Г.В. Факторы риска развития ранних осложнений и их коррекция у больных после операции на открытом сердце. Дис. ... д-ра мед. наук. М., 2000. / Lobacheva G.V. Faktory riska razvitiia rannikh oslozhenii i ikh korrektsiia u bol'nykh posle operatsii na otkrytom serdtse. Dis. ... d-ra med. nauk. M., 2000. [in Russian]
4. Мороз В.В., Кирсанова А.К., Новодержкина И.С. и др. Изменения ультраструктуры поверхности мембран эритроцитов после кровопотери и их коррекция лазерным облучением. Общая реаниматология. 2010; VI (2): 5–9. / Moroz V.V., Kirsanova A.K., Novoderzhkina I.S. i dr. Izmeneniia ul'trastruktury poverkhnosti membran eritrotsitov posle krvopoteri i ikh korrektsiia lazernym oblucheniem. Obshchaia reanimatologiya. 2010; VI (2): 5–9. [in Russian]
5. d'Almeida MS, Jagger J, Duggan M et al. A comparison of biochemical and functional alterations of rat and human erythrocytes stored in CPDA-1 for 29 days: implications for animal models of transfusion. *Transfus Med* 2000; 10: 291–303.
6. Timmouth A, Fergusson D, Yee IC, Hebert PC. Clinical consequences of red cell storage in the critically ill. *Transfusion* 2006; 46: 2014–27.
7. Виноградова И.Л., Багрянцева С.Ю., Дервиз Г.В. Метод одновременного определения 2,3-ДФГ и АТФ в эритроцитах. Лаб. дело. 1980; 7: 424–6. / Vinogradova I.L., Bagriantseva S.Iu., Derviz G.V. Metod odnovernennogo opredeleniia 2,3-DFG i ATF v eritrotsitakh. Lab. delo. 1980; 7: 424–6. [in Russian]

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Симутис Ионас Стасис – канд. мед. наук, зав. отд-нием реанимации и интенсивной терапии ГБУЗ НО ГКБ №40. E-mail: simutis@mail.ru

Бояринов Геннадий Андреевич – д-р мед. наук, проф., зав. каф. анестезиологии и реаниматологии ФПКВ ГБОУ ВПО НижГМА

Мухин Алексей Станиславович – д-р мед. наук, проф., зав. каф. хирургии ФПКВ ГБОУ ВПО НижГМА. E-mail: prof.mukhin@mail.ru

Отдельнов Леонид Александрович – ассистент каф. хирургии ФПКВ ГБОУ ВПО НижГМА. E-mail: leonotdelnov@yandex.ru