

В. В. Мороз, Ф. И. Атауллаханов, С. М. Радаев, Д. А. Остапченко, И. Л. Лисовская, Ю. М. Розенберг

**ВЛИЯНИЕ ПЕРФТОРАНА НА МОРФОЛОГИЮ И РЕОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ЭРИТРОЦИТОВ У БОЛЬНЫХ С ТЯЖЕЛОЙ ТРАВМОЙ И КРОВОПОТЕРЕЙ***НИИ общей реаниматологии РАМН; Гематологический научный центр РАМН, Москва***EFFECT OF PERFLUORANE ON ERYTHROCYTE MORPHOLOGY AND RHEOLOGY IN PATIENTS WITH SEVERE TRAUMA AND BLOOD LOSS**

V. V. Moroz, F. I. Ataullakhanov, S. M. Radaev, D. A. Ostapchenko, I. L. Lisovskaya, Yu. M. Rozenberg

*Erythrocyte morphology and function, plasma viscosity, central hemodynamics and oxygen status were studied in patients with severe injury and blood loss. The percentage of morphologically changed erythrocytes (mainly stomatocytes) increased, their filterability changed negligibly. Changes in these parameters were studied during intravenous infusion of perfluorane. Perfluorane therapy during the acute period of severe injury decreased total peripheral and pulmonary vascular resistance and reduced the entry of an extra amount of structurally changed erythrocytes from peripheral tissues into the blood stream.*

Возмещение кровопотери у больных с тяжелыми травматическими повреждениями предусматривает нормализацию гемодинамики путем компонентного восстановления объема циркулирующей крови и оптимизацию кислородного бюджета [13, 20]. Однако, несмотря на достижения современной трансфузиологии, традиционная заместительная терапия кровопотери не всегда оказывается эффективной; кроме того, использование больших количеств консервированной крови опасно из-за развития многочисленных осложнений [2, 26].

Улучшение газообмена при дизоксии возможно за счет улучшения условий переноса кислорода от эритроцитов к тканям и снижения вязкости крови [9, 12]. Нарушение реологических свойств крови является важным фактором в патогенезе постреанимационной болезни и ее осложнений. Большое значение имеют микрореологические свойства крови, которые определяют состояние ее текучести на уровне микрососудов и во многом зависят от структурно-функциональных свойств эритроцитов, в том числе от их формы, деформируемости и состояния поверхностной мембраны. Гетерогенность популяции циркулирующих эритроцитов, существующая в норме [21], резко возрастает в условиях шока и гипоксии различного генеза. Увеличивается доля измененных эритроцитов (в норме дискоциты составляют 95–97,5% общего пула эритроцитов, а у больных с травмой и кровопотерей, по данным литературы, их количество уменьшается до 70–75%) [1, 4]. Измененные формы эритроцитов при этом представлены переходными формами клеток типа "тутовой ягоды", дискоцитами (с множественными выростами и куполообразные), непременными формами — сфероцитами, в том числе с выростами, клетками в виде "спущенного мяча" и дегенеративно измененными клетками [5]. Существует мнение, что у всех клеток с измененной формой способность к деформации при прохождении через узкие капилляры снижена настолько, что это ведет к нарушению микроциркуляции [15, 16, 24]. Она определяется взаимодействием ряда параметров: соотношением объема клетки и площади ее поверхности, вязкостью внутриклеточного содержимого и механическими свойствами мембраны клетки. В медицинских исследованиях деформируемость эритроцитов измеряется методом фильтрации [19, 22, 23]. В основе данного метода лежит определение зависимости скорости фильтрации суспензии эритроцитов при постоянном давлении через поры фильтра, диаметр которых близок к диаметру капилляров микроциркуляции (3–5 мкм). Чем выше деформируемость эритроцитов, тем быстрее они проходят через поры.

Препараты на основе эмульсий перфторуглеродов обладают газотранспортными, реологическими и мембранопротекторными свойствами [8, 10]. В эксперименте на

собаках они устраняют адгезию седиментированных сфероцитов к эндотелию, улучшают их проходимость через микропоры, увеличивают поверхностный заряд эритроцитов, уменьшают ригидность их мембран [3, 6, 7]. Кроме того, соотношение диаметра частиц перфторуглеродов и сечения капилляров таково, что могут обеспечиваться ламинарность потока и низкое сопротивление сосудов [3].

Это позволяет предположить, что дальнейшее изучение воздействия различных программ инфузионной терапии на реологические свойства крови, структурно-функциональные свойства эритроцитов и, в конечном счете, на параметры кислородного бюджета у реаниматологических больных позволит объяснить полученные в клинической практике результаты и обосновать рациональные методы лечения этих больных.

В связи с этим целью работы явилось изучение изменений морфофункциональных свойств эритроцитов и реологических свойств крови у больных с тяжелой травмой и кровопотерей, а также влияния лечения перфтораном на выявленные изменения.

**Материалы и методы.** Обследовали 24 больных с кровопотерей и комбинированной травмой, в структуру которой входила тяжелая тупая травма груди и не входила тяжелая черепно-мозговая травма. Тяжесть их состояния была оценена от 20 до 26 баллов по шкале APACHE II. Общая кровопотеря составила 20–40 мл/кг и оценивалась как сумма учтенной кровопотери и вычисленной по номограммам. Исследование начинали в 1-е сутки после травмы. У всех больных отмечалась выраженная дыхательная недостаточность, связанная со снижением оксигенирующей функции легких и требующая проведения ИВЛ в управляемом режиме. С помощью катетера Swan—Ganz оценивали показатели давлений в правом предсердии, легочной артерии, давления заклинивания легочных капилляров. Сердечный выброс измеряли методом термодилуции. Одновременно регистрировали ЧСС и измеряли АД неинвазивным способом. Гемодинамические показатели регистрировали в реальном масштабе времени в течение 1–2 сут после травмы с помощью монитора "Space Labs". Показатели потребления кислорода были получены с использованием метаболического монитора "Puritan-Bennett" 7250. Газовый состав крови измеряли с помощью газоанализатора "ABL Radiometer". После подбора режимов ИВЛ [11] параметры проводимой терапии во время исследования не изменяли. Больные были разделены на 2 группы, которые достоверно не различались по всем исходным параметрам. В 1-й группе (8 мужчин, 5 женщин, средний возраст  $35 \pm 6$  лет) больные получали перфторан (ПТ) в дозе 6–8 мл/кг, во 2-й группе (контрольной) — 7 мужчин, 4 женщины, средний возраст  $37 \pm 5$  лет — кристаллоиды в той же дозировке.

Долю измененных клеток в образце крови подсчитывали на этапах исследования гемодинамики, затем ежедневно методом световой микроскопии. В момент сбора производилась фиксация 100 мкл крови в растворе 0,01% глутарового альдегида.

Исследования деформируемости эритроцитов проводились в крови, взятой из центральной вены вне инфузии препаратов крови или плазмы. После определения гематокрита в образце крови, непосредственно перед измерением, клетки ресуспендировали в изотоническом буфере с рН 7,4 до гематокрита, равного 6%. Измерение скорости фильтрации проводили с помощью кинетического фильтрометра, разработанного в лаборатории физической биохимии крови Гематологического научного центра и никелевых фильтров (рис. 1), внутренний диаметр пор которого составлял 3,1 мкм при 25°C и давлении 150 Па. По кривым изменения объема протекшей суспензии от времени вычисляли зависимость скорости фильтрации эритроцитов в суспензии по времени и относительно скорости протекания буфера.

На основании полученных данных рассчитывали скорость фильтрации основной массы клеток (т. е. способных к прохождению через узкие поры — функциональная характеристика) и процент клеток, не проходящих через поры фильтра. Процент эритроцитов, не проходящих через поры фильтра, вычислялся как разность между процентом клеток, не проходящих поры фильтра, и процентом лейкоцитов в крови, определяемого по результатам автоматизированного общего анализа крови. Вязкость плазмы больных рассчитывалась как величина, обратная скорости ее фильтрации, относительно скорости протекания буфера.

Полученные данные обрабатывали параметрическими и непараметрическими методами статистики.

**Результаты исследований и их обсуждение.** В результате проведенных исследований кардиогемодинамики и кислородного бюджета (см. таблицу) обнаружено, что сразу после введения ПТ достоверно ( $p < 0,05$ ) уменьшается общее периферическое сопротивление (ОПС) и легочное сосудистое сопротивление (ЛСС) с  $1754 \pm 160$  до  $1483 \pm 161$  и с  $281 \pm 35$  до  $228 \pm 43$  дин·см·с<sup>-5</sup> соответственно.

Через 2 ч после введения ПТ отмечали достоверное ( $p < 0,05$ ) уменьшение ОПС, что сопровождалось увеличением коэффициента экстракции кислорода и индекса его потребления. При этом сердечный индекс (СИ) и индекс транспорта кислорода (ИТО<sub>2</sub>) достоверно не изменились. Из полученных данных следует, что введение ПТ у больных в 1-е сутки после тяжелой политравмы приводит к кратковременному уменьшению периферического и легочного сосудистого сопротивления, а также к увеличению потребления кислорода за счет повышения степени его экстракции. Это соответствует данным литературы [8, 10, 14] и свидетельствует о повышении под влиянием ПТ доступности кислорода тканям в условиях нарушения их перфузии.

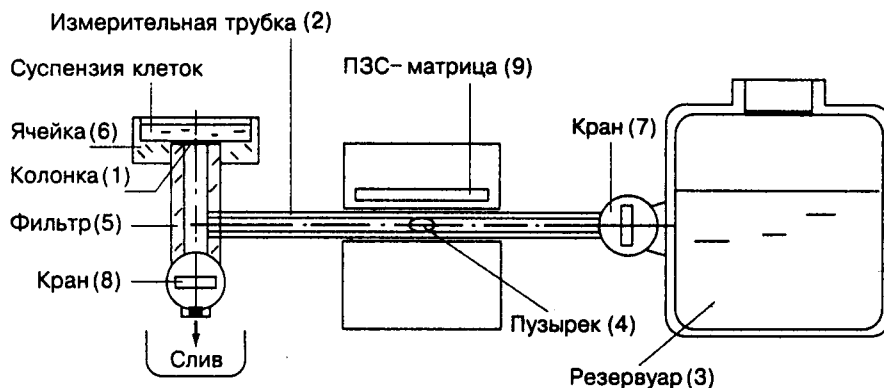


Рис. 1. Схема устройства кинетического фильтрометра.

Перед началом измерения заполнили буфером последовательно соединенные друг с другом колонку (1), измерительную трубку (2) и бак (3). В измерительную трубку (2) помещали пузырек воздуха (4), который полностью перекрывал ее просвет. На колонку сверху устанавливали фильтр (5), который фиксировали с помощью ячейки (6). Перепад давления на фильтре в процессе фильтрации обеспечивался разностью уровней жидкости в ячейке и баке и составлял  $150 \pm 5$  Па. Суспензию наливали в ячейку и поворотом крана (7) запускали фильтрацию. При этом пузырек перемещался. Измерение зависимости объема протекшей через фильтр жидкости от времени осуществляли методом оптического сканирования положения пузырька в измерительной трубке при помощи ПЗС-матрицы (9).

В ходе исследования выявлено, что у больных 2-й группы с первых суток после травмы достоверно ( $p < 0,05$ ) увеличивается доля эритроцитов измененной формы, преимущественно стоматоцитов, до 8—24% (при 2,5—5% в норме) и количество их сохраняется примерно на одном уровне в течение первых 10—14 дней после травмы (рис. 2). Доля измененных эритроцитов у больных 1-й группы в образцах крови, взятых через 8 ч после введения ПТ, составляла 68—84%, а через 24 ч — от 34 до 40% и достоверно ( $p < 0,01$ ) была больше, чем у больных 2-й группы (см. рис. 2 и 3). Через 48 ч после начала исследования доля измененных клеток в крови больных 1-й и 2-й групп не различалась (см. рис. 2).

В эксперименте *in vitro* внесение различных объемов эмульсии перфторуглеродов в пробирки, содержащие образцы крови, не вызывало столь активного образования стоматоцитов. Обращает на себя внимание тот факт, что наблюдаемое у больных 1-й группы резкое увеличение доли измененных клеток происходит вслед за снижением ОПС (см. рис. 3).

Данные согласуются с результатами, полученными нами ранее у больных с аналогичными повреждениями после стабилизации параметров кардиогемодинамики в остром периоде травмы [14].

Можно предположить, что после введения ПТ и улучшения микроциркуляции измененные эритроциты (преимущественно стоматоциты) поступают в основную кровоток из капилляров периферических тканей, где они испытывали на себе воздействие ряда неблагоприятных факторов вследствие гипоксии и ацидоза [17, 18, 25], и

Показатели кардиогемодинамики и кислородного бюджета у больных 1-й группы

Показатель	Исходные значения	После введения ПТ	2 ч после введения ПТ	6 ч после введения ПТ	12 ч после введения ПТ	24 ч после введения ПТ	48 ч после введения ПТ
ДЛА <sub>ср</sub> , мм рт. ст.	18,8 ± 2,2	18,4 ± 1,9	20,6 ± 1,8	21,5 ± 2,2	20,0 ± 0,8	19,8 ± 3,1	21,0 ± 0,8
ДЗЛК, мм рт. ст.	9,3 ± 1,6	9,4 ± 1,8	10,4 ± 1,7	10,5 ± 2,5	9,5 ± 0,6	13 ± 2,0	10,8 ± 1,5
ЦВД, мм рт. ст.	7,8 ± 1,5	7,6 ± 0,8	8,0 ± 0,8	7,3 ± 1,2	9 ± 2,3	8,8 ± 0,9	7,3 ± 1,2
АД <sub>ср</sub> , мм рт. ст.	86,1 ± 4,2	77,5 ± 5,2	68,2 ± 3,3	82,0 ± 6,0	83,0 ± 4,0	77,3 ± 3,4	84,5 ± 4,5
ЧСС в 1 мин	111,9 ± 8,1	126,9 ± 6,4	120,0 ± 10,4	112,3 ± 10,9	103,7 ± 7,8	109,0 ± 6,0	102,0 ± 7,7
ЛСС, дин·см·с <sup>-5</sup>	281 ± 35	228 ± 43*	269 ± 46	277 ± 16	285 ± 35	224 ± 33	230 ± 45
ОПС, дин·см·с <sup>-5</sup>	1754 ± 160	1483 ± 161*	1593 ± 220*	1723 ± 243	1993 ± 182	1679 ± 133	1699 ± 146
СИ, л/мин/м <sup>2</sup>	3,7 ± 0,4	3,8 ± 0,5	3,6 ± 0,4	3,9 ± 0,4	3,5 ± 0,2	3,4 ± 0,4	3,8 ± 0,3
ИТО <sub>2</sub> , мл/мин/м <sup>2</sup>	690 ± 58	698 ± 97	645 ± 71	641 ± 83	756 ± 56	631 ± 51	727 ± 85
КЭО <sub>2</sub> , %	30 ± 3	31 ± 4	35 ± 4*	28 ± 3	29 ± 4	27 ± 2	26 ± 2
ИПО <sub>2</sub> , мл/мин/м <sup>2</sup>	224 ± 18	234 ± 21	251 ± 21*	208 ± 14	219 ± 18	204 ± 8	207 ± 14

\* $p < 0,05$  в сравнении с исходными значениями.

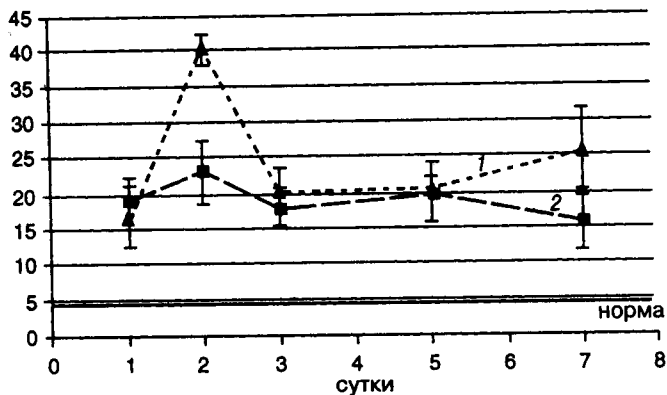


Рис. 2. Количество морфологически измененных клеток у больных 1-й и 2-й групп.

Кривая 1 — 1-я группа, 2 — 2-я группа — здесь и на рис. 5.

определяются в образцах крови при микроскопии. Стоматоциты относятся к обратимо измененным клеткам [5], что объясняет уменьшение их доли в образцах крови с течением времени.

При этом в первые 3 сут после травмы у больных обеих групп отмечалось достоверное ( $p < 0,05$ ) снижение скорости фильтрации основной массы клеток в суспензии эритроцитов на 15–20%, а количество не проходящих через поры фильтра клеток увеличивалось до 0,8–2% (при 0,1–0,3% у доноров) без определенных различий между группами (рис. 4).

В ходе лечения фильтруемость эритроцитов у большинства больных оставалась на нижней границе нормы. Вязкость плазмы больных (величина, обратная скорости ее фильтрации) на 1-е сутки после травмы была снижена на 12–15% по сравнению с нормальными значениями (доноры). Затем в ходе лечения вязкость плазмы постепенно повышалась и к 10–14-м суткам становилась на 5–6% выше нормальных значений (рис. 5).

Таким образом, несмотря на присутствие в крови достаточного большого количества морфологически измененных клеток у больных обеих групп в раннем посттравматическом периоде процент клеток, не проходящих через поры фильтра, хотя и повышался, но в гораздо меньшей степени (до 2%). Присутствие в крови измененных эритроцитов сопровождалось только небольшим снижением скорости фильтрации основной массы клеток, т. е. изменение морфологических свойств эритроцитов не сопро-

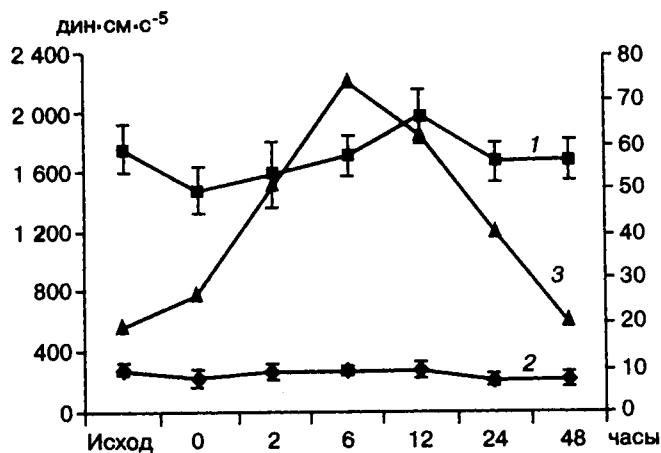


Рис. 3. Процент морфологически измененных эритроцитов и показатели ОПС и ЛСС у больных 1-й группы.

Кривая 1 — ОПС, 2 — измененные эритроциты, 3 — ЛСС.

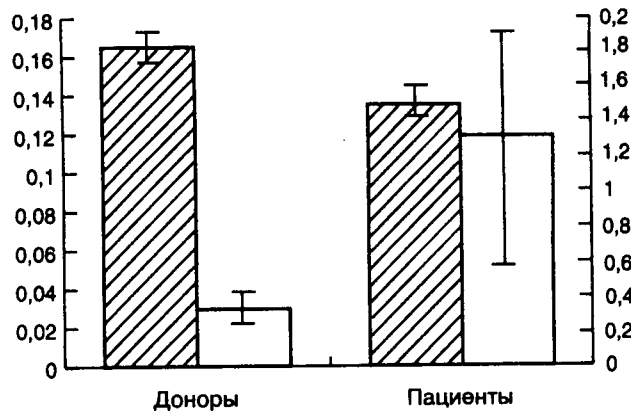


Рис. 4. Скорость фильтрации клеток и процент нефилтрующихся эритроцитов в крови здоровых доноров и больных с политравмой.

Столбец со штриховкой — скорость фильтрации, светлый — нефилтрующиеся клетки.

вождается выраженным снижением скорости их фильтрации, при этом сама способность измененных клеток к фильтрации сохранена. На основании полученных данных можно утверждать, что эритроциты с измененной структурой сохраняют способность к деформации и прохождению через капилляры микроциркуляторного русла. Применение ПТ в комплексе инфузионно-корректирующей терапии улучшает микроциркуляцию в тканях с нарушенной перфузией.

## ВЫВОДЫ

1. Через 2 ч после введения перфторана в дозе 6–8 мл/кг у больных с тяжелой политравмой повышается потребление кислорода, при этом доставка кислорода не увеличивается.

2. В крови больных с тяжелой травмой и кровопотерей в течение первых 2 сут появляется от 20 до 80% морфологически измененных эритроцитов (главным образом стоматоцитов).

3. Скорость фильтрации основной массы эритроцитов и доля клеток, не проходящих через поры фильтра у больных в раннем посттравматическом периоде, изменяются незначительно.

4. Применение перфторана в остром периоде тяжелой травмы приводит к снижению общего периферического и легочного сосудистого сопротивления и поступлению из периферических тканей в кровоток дополнительного количества структурно измененных эритроцитов.

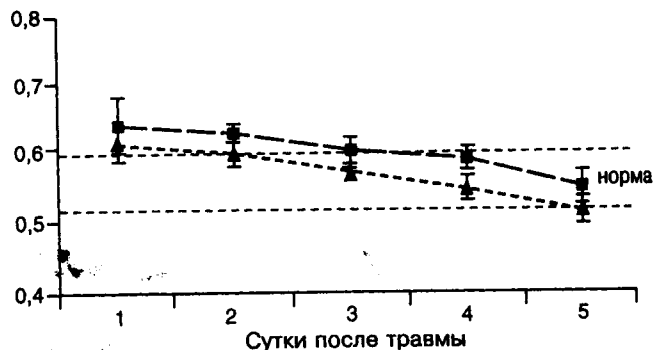


Рис. 5. Изменение скорости фильтрации плазмы у больных 1-й и 2-й групп.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Березина Т. Л. Нарушения реологических свойств крови, поверхностной архитектоники и электрофоретической подвижности эритроцитов у больных с тяжелой травмой и кровопотерей: Дис. ... канд. мед. наук. — М., 1989.
2. Виньон Д. // Анестезиол. и реаниматол. — 1999. — Прил.: Альтернативы переливанию крови в хирургии. — С. 108—116.
3. Иваницкий Г. Р., Воробьев С. И. // Перфторуглеродные активные среды для медицины и биологии. — Пушино, 1993. — С. 5—33.
4. Козинец Г. И., Ряполова И. В., Шишканова З. Г. // Пробл. гематол. — 1977. — № 7. — С. 19—21.
5. Козинец Г. И., Симоварт Ю. А. Поверхностная архитектура клеток периферической крови. — Таллин, 1984.
6. Кузнецова И. Н., Гербут К. А. // Гематол. и трансфузиол. — 1987. — № 7. — С. 36—40.
7. Кузнецова И. Н. // Физиологически активные вещества на основе перфторуглеродов в экспериментальной и клинической медицине. — СПб., 1999. — С. 45—47.
8. Маевский Е. И., Брустовецкий Н. Н., Гришина Е. В. и др. // Перфторорганические соединения в биологии и медицине. — Пушино, 1999. — С. 243—253.
9. Малышев В. Д., Плесков А. П. // Вестн. интенсив. тер. — 1994. — № 1. — С. 17—22.
10. Мороз В. В., Крылов Н. Л., Иваницкий Г. Р. и др. // Анестезиол. и реаниматол. — 1995. — № 6. — С. 12—17.
11. Неверин В. К., Власенко А. В., Остапченко Д. А. и др. // Там же. — 1999. — № 1. — С. 18—23.
12. Рябов Г. А. Гипоксия критических состояний. — М., 1988.
13. Усенко Л. В., Шифрин Г. А. Интенсивная терапия при кровопотере. — Киев, 1995.
14. Шишкина Е. В., Мороз В. В., Остапченко Д. А., Радаев С. М. // Анестезиол. и реаниматол. — 2000. — № 6. — С. 25—29.
15. Bessis M., Mochandas N. // Blood Cells. — 1975. — Vol. 1. — P. 315—321.
16. Chabanel A., Reinhart W., Chien S. // Blood. — 1987. — Vol. 69. — P. 739—743.
17. Gedde M., Yang E., Huestis W. // Biochim. Biophys. Acta. — 1999. — Vol. 1417. — P. 246—253.
18. Gros M., Vrhovec S., Brumen M. et al. // Gen. Physiol. Biophys. — 1996. — Vol. 15. — P. 145—163.
19. Hanss M. // Biorheology. — 1983. — Vol. 20. — P. 199—211.
20. Hayes M. A., Timmins A. C., Yau E. H. S. et al. // N. Engl. J. Med. — 1994. — Vol. 330. — P. 1717—1722.
21. Lew V. L., Raftos J. E., Sorette M. et al. // Blood. — 1995. — Vol. 86. — P. 334—341.
22. Lisovskaya I. L. et al. // Biorheology. — 1998. — Vol. 32. — P. 141—153.
23. Nakamura T., Hasegawa S., Shio H., Uyesaka N. // Blood Cells. — 1994. — Vol. 20. — P. 118—127.
24. Pfafferoth C., Wenby R., Meiselman H. J. // Ibid. — 1982. — Vol. 8. — P. 65—78.
25. Rasia M., Bollini A. // Biochim. Biophys. Acta. — 1998. — Vol. 1372. — P. 198—204.
26. Seidl S., Kuhn P. // Wld J. Surg. — 1987. — Vol. 11. — P. 30—35.