

Байбеков И.М., Стрижков Н.А.

Влияние лазерного облучения крови во время искусственного кровообращения на форму эритроцитов

Baibekov I.M., Strizhkov N.A.

Effects of laser blood irradiation at erythrocyte forms during artificial circulation

Республиканский специализированный центр хирургии имени академика В. Вахидова МЗ Республики Узбекистан, г. Ташкент

Выявлено, что у всех пациентов с врожденными пороками сердца увеличено число патологических форм эритроцитов и уменьшено число дискоцитов. В процессе проведения искусственного кровообращения (ИК) при хирургической коррекции наблюдается травматическое повреждение эритроцитов, которое в зависимости от времени ИК и использования компонентов крови усугубляет состояние форм эритроцитов. Установлено, что лазерное облучение крови в контуре аппарата ИК способствует восстановлению соотношений числа нормальных и патологических форм. Лазерное воздействие на различных этапах проведения ИК в первые двое суток после операции способствует нормализации форм эритроцитов. *Ключевые слова:* эритроциты, лазерное облучение крови, искусственное кровообращение.

It has been found out that all patients with congenital heart defects have larger number of erythrocytes with pathological forms and decreased number of discocytes. During an artificial circulation (AC) and surgical correction one can see a traumatic injury in erythrocytes which, depending on AC exposure time and blood components, may worsen the state of erythrocyte forms. As it has been found out, laser blood irradiation in the contour of AC device promotes restoration of the ratio between normal and pathologic forms. Laser irradiation at various AC stages and during the first two postoperative days improves normalization of erythrocyte forms. *Key words:* erythrocytes, laser blood irradiation, artificial bloodflow.

Успехи современной хирургии в значительной мере обусловлены достижениями в области анестезиологии, реаниматологии и особенно искусственного кровообращения (ИК). Основой проведения успешного ИК является внедрение современных технологий. Для этого с целью предотвращения образования тромбов и попадания их в циркуляцию применяют микрофильтры, широко используют новые перфузионные среды для замены донорской крови, сочетание ИК с гипотермической перфузией и гемодилюцией, фармакохолодовой защитой миокарда, ультрафильтрацией перфузата, гемоконцентрацией и использованием аутокрови [5, 6, 10, 14]. Однако, несмотря на достижения современной перфузиологии, травмы клеток крови и тромбобразования во время вмешательств в условиях ИК окончательно избежать не удастся. Эти два фактора являются основными причинами развития осложнений, ухудшения транспорта кислорода и других субстратов жизнеобеспечения [11, 15].

Указанное определяет необходимость поиска и разработки новых возможностей уменьшения травматизации клеток крови и тромбообразования путем воздействия на эритроциты и, стало быть, улучшения результатов кардиохирургических операций.

Одними из первых эффективность лазерного облучения крови в экспериментальной и клинической кардиохирургии показали Мешалкин Е.Н. и Сергиевский В.С. [7], что послужило стимулом к дальнейшему изучению применения лазеротерапии в кардиохирургии и перфузиологии [1, 12].

Внутрисосудистое лазерное облучение крови (ВЛОК), при котором имеет место непосредственное воздействие низкоинтенсивного лазерного облучения (НИЛИ) крови на эритроциты, используется в комплексном лечении многих патологических состояний [2, 4, 8]. Одним из информативных методов оценки влияния НИЛИ на эритроциты является динамический кон-

троль изменения соотношения нормальных и патологических форм эритроцитов в ходе облучения, то есть мониторинг соотношения форм эритроцитов периферической крови [3, 9].

В этом аспекте разработка новых методик для объективной морфометрической оценки деформируемости эритроцитов с целью мониторинга соотношения форм эритроцитов в сосудистом русле на этапах ИК и всего периоперационного кардиохирургического периода предоставит возможность изучать их изменения в динамике и проводить соответствующую коррекцию.

Материал и методы

Исследованию подвергали пробы крови от 47 пациентов в возрасте от 7 до 17 лет, находившихся с января по июль 2010 г. в РСЦХ им. акад. В. Вахидова с диагнозом «врожденный порок сердца (ВПС) тетрады Фалло (ТФ)». Всем больным была проведена радикальная коррекция тетрады Фалло (РКТФ) в условиях ИК. Изучали состояние форм эритроцитов под влиянием лазерного облучения ($n = 23$), группой сравнения служили пробы крови пациентов, которым при проведении оперативного вмешательства лазерное облучение крови не проводили ($n = 24$). Капиллярную кровь пациентов изучали до и после операции. После прокола скарификатором подушечки безымянного пальца производили забор 2–3 капель крови или из контура аппарата ИК – 0,5 мл (12 стандартных капель) в стерильные пенициллиновые флаконы с 2 мл фиксирующего 2,5% раствора глутарового альдегида на фосфатном буфере ($pH = 7,4$). Во время ИК заборы крови производили по стандартной методике непосредственно из контура аппарата ИК.

Лазерное облучение притекающей крови, проводили с помощью лазерного терапевтического аппарата «Матрикс-ВЛОК» и лазерной излучающей головки «КЛ-ВЛОК-М» с излучателем красного (0,63 мкм) све-

Таблица 1

Состояние эритроцитов периферической крови при радикальной коррекции тетрады Фалло и ИК без лазерного облучения, %

	Исход перед ИК	30 мин ИК	60 мин ИК	120 мин ИК	20 часов после ИК	40 часов после ИК
Дискоциты	71 ± 1,5	59 ± 2,5*	51 ± 2,1**	50 ± 2,2**	55 ± 2,5***	63 ± 2,3***
Эхиноциты 1-го порядка	2 ± 0,7	16 ± 0,6*	18 ± 0,6**	18 ± 0,7**	15 ± 0,6***	12 ± 0,5***
Эхиноциты 2-го порядка	1 ± 0,4	8 ± 0,4*	8 ± 0,4**	9 ± 0,4**	8 ± 0,3	4 ± 0,3**
Эхиноциты 3-го порядка	0	2 ± 0,2*	4 ± 0,2**	3 ± 0,2**	3 ± 0,2	2 ± 0,2
Стоматоциты 1-го порядка	5 ± 0,4	3 ± 0,4*	3 ± 0,4**	4 ± 0,3**	4 ± 0,4***	2 ± 0,4***
Стоматоциты 2-го порядка	4 ± 0,2	1 ± 0,5*	1 ± 0,3**	1 ± 0,4**	1 ± 0,4***	1 ± 0,4***
Стоматоциты 3-го порядка	5 ± 0,2	0	0	0	0	0
С малым гребнем	3 ± 0,2	2 ± 0,3*	4 ± 0,3**	3 ± 0,3**	2 ± 0,3	2 ± 0,3
Сo средним гребнем	1 ± 0,2	2 ± 0,2*	2 ± 0,2**	3 ± 0,4	3 ± 0,3***	2 ± 0,3***
С большим гребнем	3 ± 0,2	0	0	0	0	1 ± 0,2
Дегенеративные формы	2 ± 0,7	4 ± 0,5	5 ± 0,5	5 ± 0,3	5 ± 0,4	6 ± 0,4
Лизированные	1 ± 0,4	2 ± 0,3	2 ± 0,3	2 ± 0,3	2 ± 0,3	3 ± 0,2
Эллипсоциты	2 ± 0,2	1 ± 0,2	2 ± 0,2	2 ± 0,2	2 ± 0,2	2 ± 0,2

Примечание. * Статистически достоверно ($p < 0,05$) по сравнению с контролем. ** Статистически достоверно по сравнению с предшествующим сроком. *** Статистически достоверно по сравнению с интраоперационным уровнем при РКТФ и ИК.

а

б

Рис. 2. Соотношение числа патологических и нормальных форм эритроцитов периферической крови у больных РКТФ в условиях ИК без лазеротерапии и после лазеротерапии: а – равные соотношения числа патологических и нормальных форм эритроцитов периферической крови через 120 мин ИК при РКТФ без лазеротерапии. ЭМТК 10 × 60; б – выраженность стоматоцитарных форм эритроцитов, встречаются эхиноциты периферической крови после лазерного облучения через 120 мин ИК при РКТФ. ЭМТК 10 × 60

лизированных эритроцитов характеризует состояние клеток крови без влияния лазерного облучения на этапах проведения ИК.

К 120-й мин ИК в картине периферической крови соотношения дискоцитов и патологических форм эритроцитов сохраняются, но выраженность деформаций и грубых изменений мембран усиливается (табл. 1). Увеличение гребневидных форм эритроцитов расценивалось нами как состояние с возможным переходом количественных характеристик в прогрессирующие качественные патологические изменения (рис. 2, а).

Изучение форм эритроцитов в первые и вторые сутки после РКТФ в группе без проведения лазерного облучения крови позволило выявить, что соотношение нормальных форм эритроцитов к патологическим через 20–24 ч составило 55 к 45%, а по истечении следующих суток это соотношение изменялось в сторону восстановления числа дискоцитов до 63% с уменьшением патологических форм до 37% (табл. 1). Важно отметить, что даже через двое суток после операции РКТФ у больных этой группы процентное содержание эхиноцитов остава-

лось достаточно высоким и составляло 16–20% популяции эритроцитов, несмотря на относительную стабильность соотношения остальных патологических форм. При этом явная тенденция к прогрессивному увеличению числа дегенеративных и лизированных эритроцитов сохранялась (рис. 3, а).

При сравнительном анализе в образцах крови на разных этапах проведения ИК и в первые двое суток после операции нами было отмечено положительное мягкое влияние НИЛИ на состояние форм эритроцитов.

При исследовании влияния лазерного облучения крови, проходящей в контуре аппарата ИК, на формы эритроцитов через 30 мин перфузии, так же как и в контрольной группе мы обнаруживали увеличение патологических форм эритроцитов, но эти проявления были не столь выражены. На фоне анизоцитоза и единичных каплевидных форм эритроцитов соотношение числа дискоцитов к патологическим формам составило 70 к 30% соответственно, что свидетельствует об эффективном влиянии лазерного облучения и сохранности клеток крови на 10% (табл. 2).

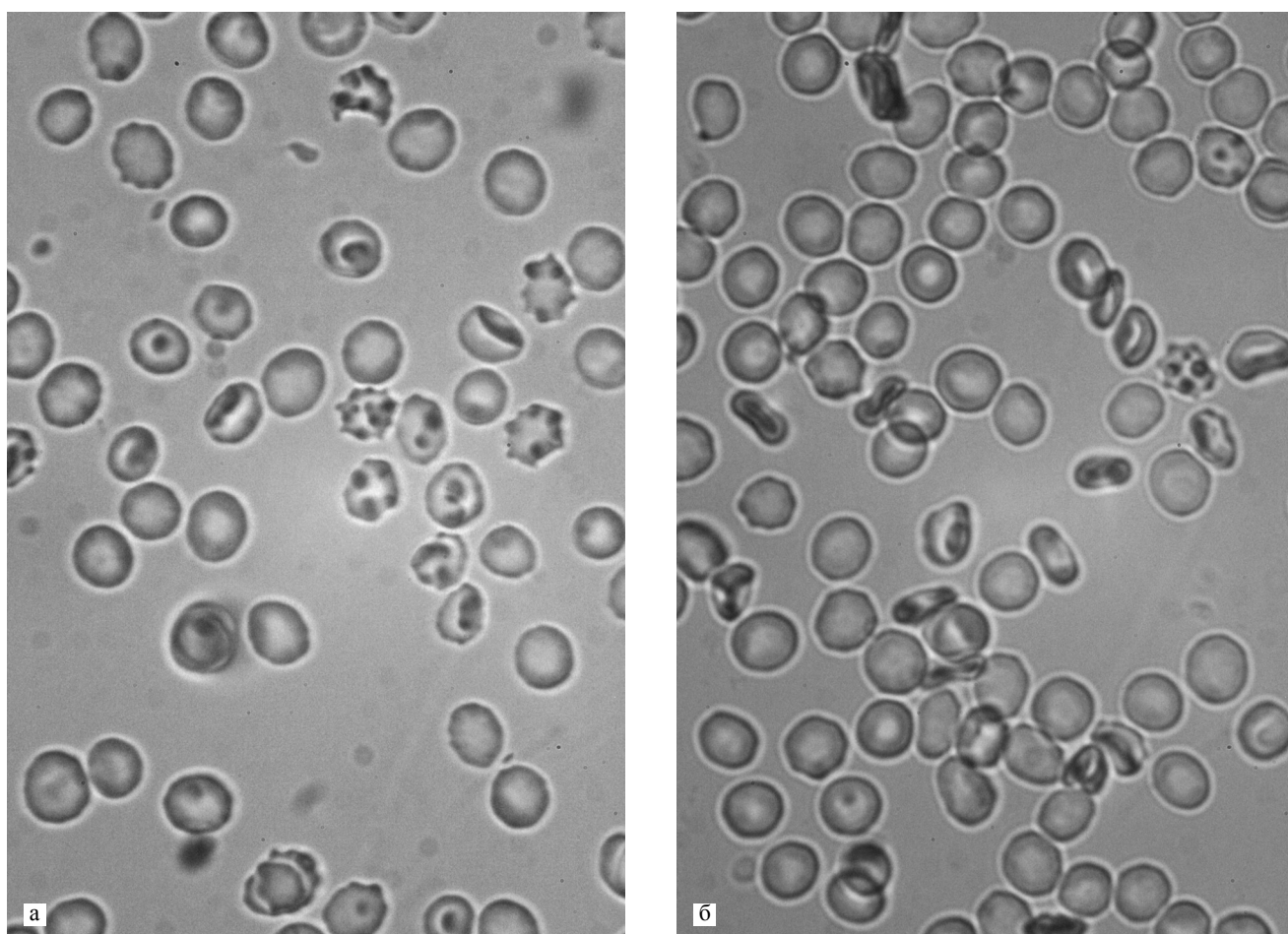


Рис. 3. Морфологические изменения форм периферической крови у больных РКТФ в условиях ИК без лазеротерапии и после лазеротерапии: а – выраженные грубые морфологические изменения форм периферической крови через сутки после РКТФ и ИК без лазеротерапии. ЭМТК 10×60 ; б – преобладание дискоцитов-нормоцитов в периферической крови после лазерного облучения крови в контуре ИК через сутки после РКТФ. ЭМТК 10×60

Таблица 2
Влияние лазерного облучения крови, проходящей в контуре аппарата ИК, на формы эритроцитов при радикальной коррекции тетрады Фалло, %

	Исход перед ИК	30 мин ИК	60 мин ИК	120 мин ИК	20 часов после ИК	40 часов после ИК
Дискоциты	$71 \pm 1,5$	$70 \pm 2,5^*$	$67 \pm 2,2^{**}$	$64 \pm 2,2^{**}$	$67 \pm 2^{***}$	$69 \pm 1,5^{***}$
Эхиноциты 1-го порядка	$2 \pm 0,7$	$5 \pm 0,6^*$	$5 \pm 0,6^{**}$	$6 \pm 0,7^{**}$	$2 \pm 0,6^{***}$	$2 \pm 0,6^{***}$
Эхиноциты 2-го порядка	$1 \pm 0,4$	$1 \pm 0,4^*$	$2 \pm 0,4^{**}$	$3 \pm 0,4^{**}$	$1 \pm 0,3$	$2 \pm 0,4^{**}$
Эхиноциты 3-го порядка	0	0	0	$2 \pm 0,2$	0	0
Стоматоциты 1-го порядка	$5 \pm 0,4$	$4 \pm 0,4^*$	$5 \pm 0,4^{**}$	$5 \pm 0,3^{**}$	$6 \pm 0,3^{***}$	$4 \pm 0,3^{***}$
Стоматоциты 2-го порядка	$4 \pm 0,2$	$2 \pm 0,5^*$	$3 \pm 0,5^{**}$	$3 \pm 0,4^{**}$	$5 \pm 0,3^{***}$	$4 \pm 0,3^{***}$
Стоматоциты 3-го порядка	$5 \pm 0,2$	$3 \pm 0,2$	$4 \pm 0,2$	$3 \pm 0,3$	$2 \pm 0,3$	$2 \pm 0,3$
С малым гребнем	$3 \pm 0,5$	$3 \pm 0,3^*$	$2 \pm 0,3^{**}$	$2 \pm 0,4^{**}$	$4 \pm 0,4$	$4 \pm 0,3$
Со средним гребнем	$1 \pm 0,2$	$2 \pm 0,2$	$2 \pm 0,2^{**}$	$1 \pm 0,2$	$3 \pm 0,3^{***}$	$3 \pm 0,3^{***}$
С большим гребнем	$3 \pm 0,2$	$4 \pm 0,3$	$3 \pm 0,3$	$1 \pm 0,3$	$2 \pm 0,2$	$3 \pm 0,2$
Дегенеративные формы	$2 \pm 0,7$	$2 \pm 0,5$	$3 \pm 0,5$	$6 \pm 0,4$	$4 \pm 0,5$	$4 \pm 0,4$
Лизированные	$1 \pm 0,4$	$2 \pm 0,3$	$2 \pm 0,3$	$2 \pm 0,5$	$1 \pm 0,4$	$1 \pm 0,4$
Эллипсоциты	$2 \pm 0,2$	$2 \pm 0,2$	$2 \pm 0,2$	$2 \pm 0,2$	$3 \pm 0,2$	$2 \pm 0,2$

Примечание. * Статистически достоверно ($p < 0,05$) по сравнению с контролем. ** Статистически достоверно по сравнению с предшествующим сроком. *** Статистически достоверно по сравнению с интраоперационным уровнем при РКТФ и ИК.

Мы также выявили признаки того, что эритроциты активно реагируют на лазерное облучение крови в начальных этапах проведения ИК изменением соотноше-

ния числа нормальных и патологических форм, применение лазерного облучения на «выходе» практически подавляет столь выраженные резкие изменения, что мы

объясняем быстрым влиянием спектра лазерного облучения на эритроциты по всей площади сечения трубки приносящей венозной магистрали.

Так, через 60 мин перфузии в группе лазерного облучения соотношение нормоцитов-дискоцитов составило 67%, при этом результат положительного влияния лазерного облучения красного света составил 15–16%. Несмотря на это, количество эхиноцитов 1-го и 2-го порядков суммарно оставалось высоким при отсутствии эхиноцитов 3-го порядка и других грубых изменений мембран клеток. Среди других патологических форм мы выявили 3-кратное суммарное преобладание стоматоцитов, а количество дегенеративных и лизированных эритроцитов в облучаемой лазером крови было на 2% меньше, чем в группе сравнения (табл. 2).

На этапах «стоп ИК», что соответствует в среднем 120 мин перфузии, соотношение нормальных к патологическим формам эритроцитов в группе с лазерным облучением составило $64 \pm 3\%$ к 36% (табл. 2). Доминирование эхиноцитарных трансформаций среди патологических форм мы наблюдали у пациентов обеих групп, но в группе без лазеротерапии суммарное количество эхиноцитов в 3 раза превышало величины эхиноцитов группы, в которой применяли лазерное облучение.

В противоположность этому исследование влияния лазерного облучения крови в контуре аппарата ИК выявило в 2 раза большее количество стоматоцитов относительно группы без лазеротерапии, причем выраженные стоматоцитарные изменения составили 3% стоматоцитов 3-го порядка в отличие от их отсутствия в группе сравнения. Соотношение эритроцитов с гребнями в облучаемой лазером группе характеризовалось меньшим количеством патологических форм, что было расценено нами как стадия стабильной компенсации (рис. 2, б).

Состояние эритроцитов в группе с лазерным облучением крови в течение первых и вторых суток после РКТФ отличалось стабильным восстановлением числа дискоцитов-нормоцитов. Так, по истечении первых суток соотношение числа дискоцитов к патологическим формам составило 67 к 33%, а еще через сутки 69 к 31% (рис. 3, б).

Разница между количественными и качественными соотношениями эритроцитов в исследуемых группах доказывает цитопротекторное и цитопластичное влияние лазерного облучения крови, притекающей по венозной магистрали контура ИК на начальных этапах перфузии во время РКТФ.

Выводы

1. Положительное влияние НИЛИ «Матрикс-ВЛОК» и лазерной излучающей головки «КЛ-ВЛОК-М» с излучателем красного (0,63 мкм) света на начальных

этапах перфузии, а также светодиодной головкой с излучателем УФ (0,365 мкм) света на заключительных этапах операции с экспозицией 10 мин на морфологию эритроцитов проявляется уменьшением количества патологических форм и увеличением числа дискоцитов.

2. Мониторинг изменений форм эритроцитов под влиянием тех или иных факторов, и в первую очередь ИК, предоставляет возможность объективной оценки проведения ИК в динамике с целью коррекции во время кардиохирургической агрессии.

Литература

1. Байбеков И.М., Мавлян-Ходжаев Р.Ш., Эрстекис А.Г., Москвин С.В. Эритроциты в норме, патологии и при лазерных воздействиях. Тверь: Триада, 2008. 255 с.
2. Гейниц А.В., Москвин С.В., Азизов Г.А. Внутривенное лазерное облучение крови. М.: Триада, 2006. 144 с.
3. Зинчук В.В. Деформируемость эритроцитов: физиологические аспекты // Усп. физиол. наук. 2001. Т. 30. № 3. С. 68–78.
4. Кожура В.Л., Таланцев К.В., Новодержкина И.С. и др. Механизмы органопротекторного действия низконтентивного лазерного излучения при массивной кровопотере и клинической смерти // Анастезиол. и реаниматол. 2000. № 6. С. 39–43.
5. Локишин Л.С., Лурье Г.О., Деметьева И.И. Искусственное и вспомогательное кровообращение в сердечно-сосудистой хирургии. М.: Пресса, 1998. 212 с.
6. Меньшиугин И.Н. Искусственное кровообращение у детей в условиях ганглионарной блокады и пульсирующего потока. СПб.: Специальная Литература, 1998. 127 с.
7. Мещалкин Е.Н., Сергиевский В.С. Применение прямого лазерного облучения в экспериментальной и клинической кардиохирургии // Науч. тр. Новосибирск: Наука, 1981. С. 172.
8. Москвин С.В., Буйлин В.А. Основы лазерной терапии. М., 2006. 256 с.
9. Новодержкина Ю.К., Шишканова З.Г., Козинец Г.И. Конфигурация и поверхность клеток крови в норме и патологии. М.: Триада-фарм, 2004. 152 с.
10. Шипулин В.М., Мерунко А.А. Ультрафильтрация крови в детской кардиохирургии. Томск: STT, 2002. 136 с.
11. Hoffman R., Benz E.J., Shattik S.J. et al. (Eds) Hematology Basic Principles and Practice. N.Y., Churchill Livingstone. 2001. P. 1970.
12. Itoh T., Murakami H.K., Orihashi K. et al. Low power laser protects human erythrocytes In an In vitro model of artificial heart-lung machines // Artif. Organs. 2000. Vol. 24. № 11. P. 870–873.
13. Kameneva M.V. et al. Decrease in blood cell deformability caused by hypothermia, hemodilution, and mechanical stress: factors related to cardiopulmonary bypass // ASAIO. J. 1999. Vol. 45. № 4. P. 307–310.
14. Miyaji K., Miyamoto T., Kohira S. et al. The influences of red blood cell transfusion on perioperative inflammatory responses using a miniaturized biocompatible bypass with an asanguineous prime // Int. Heart J. 2009. Sep. 50 (5) P. 581–589.
15. Mohandas N., Gallagher P.G. Red cell membrane: past, present, and future // Blood. 2008. 112: 3939.

Поступила в редакцию 14.03.2011 г.

Для контактов: Стрижков Николай Алексеевич.

E-mail: strizkov81@yandex.ru