

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЛЕГКИХ ПРИ ОСТРОМ ПОСТТРАНСФУЗИОННОМ ПОВРЕЖДЕНИИ

Маматова Калиман Койчубековна

соискатель кафедры патологической анатомии Кыргызско-Российского Славянского университета, Республика Кыргызстан, г. Бишкек

E-mail: kalima_m@mail.ru

MORPHOFUNCTIONAL CHANGES IN TRANSFUSION- RELATED ACUTE LUNG INJURY

Mamatova Kaliman

competitor of the Department of Pathological Anatomy of the Kyrgyz-Russian Slavic University, Republic of Kyrgyzstan, Bishkek

АННОТАЦИЯ

Цель работы изучить изменения гистологической структуры легких, биофизических и биохимических параметров их смывов при моделировании острого посттрансфузионного повреждения на собаках. Методы исследования включали определение поверхностной активности сурфактанта легких, продуктов перекисного окисления, свободного гемоглобина и электролитов в бронхоальвеолярном смыве. Показаны достоверные сдвиги изучаемых показателей, которые могут быть использованы в качестве маркеров острого посттрансфузионного повреждения легких.

ABSTRACT

Objective study changes histological structure, biophysical and biochemical parameters in the dog lung with model transfusion-related acute lung injury (TRALY). Methods of study included determination of the surface activity of surfactant lung lipid peroxidation products, free hemoglobin and electrolytes in bronchoalveolar lavage. Showing reliable shifts of the studied parameters, which can be used as markers of TRALY.

Ключевые слова: острое посттрансфузионное повреждение легких; сурфактант легких; калий; свободный гемоглобин.

Keywords: transfusion-related acute lung injury; lung surfactant; potassium; free hemoglobin.

Несмотря на двухсотлетний опыт гемотрансфузий, риски переливания крови сопоставимы с ожидаемыми преимуществами [3, 5]. Крайней степенью патологической реакции на кровь донора является гемотрансфузионный шок, нередко приводящий к летальным исходам. Правда, классический гемотрансфузионный шок теперь встречается редко, на первое место вышли, трансфузионные острые повреждения легких — transfusion-related acute lung injury (TRALI), патогенез которых требует дальнейшего изучения [4, 7]. При этом важно выделить основные патогенетические механизмы, количественные характеристики которых можно было бы использовать для диагностики данного синдрома на ранних этапах.

Цель исследования изучить изменения гистологической структуры легких, биофизических и биохимических параметров их смывов при моделировании острого посттрансфузионного повреждения на собаках.

Материал и методы исследования. Исследование проведено на 24 собаках в возрасте 1—2 года с соблюдением «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных». Синдром TRALI моделировался трансфузией чужеродной крови (IV группа человека) из расчета 10 мл на 1 кг массы тела животных. Собак умертвляли спустя 60 минут, 1 и 5 суток от момента гемотрансфузии. Из верхней доли левого легкого готовился бронхоальвеолярный смыв (БАС) из расчета 100 мл 0,5 % раствора глюкозы на 10 г ткани легкого, затем промытое легкое гомогенизировали, центрифугировали и из надосадочной жидкости готовили 10 % экстракт. Поверхностную активность (ПА) внеклеточного сурфактанта оценивали в БАС, ПА клеточного сурфактанта в экстракте после смыва (ЭПС). На автоматических поверхностных весах — тензиоспектрометре ТСМ-01 [1] измеряли минимальное (ПН мин) и максимальное поверхностное натяжение (ПН макс), на основе которых высчитывали индекс стабильности (ИС). Количество общих липидов, первичных и вторичных продуктов ПОЛ (конъюгированных гидроперекисей и диеновых кетонов) определяли на

спектрофотометре СФ-40 (в единицах оптической плотности) по методу В.Б. Гаврилова и М.К. Мишкорудной [2]. Окислительный индекс (ОИ) рассчитывали по отношению гидроперекисей к количеству общих липидов. Концентрацию калия и натрия в БАС, плазме крови определяли на пламенном фотометре. Концентрацию гемоглобина (Hb) крови определяли гемоглобинцианитным методом на фотокалориметре. Содержание свободного Hb (гемолиз) в плазме крови и БАС — постановкой бензидиновой пробы. Парафиновые срезы легких окрашивались гематоксилином и эозином.

Результаты и их обсуждение. Введение чужеродной крови собакам приводило к резким сдвигам гемодинамики, характерным для шока. Макроскопически легкие при этом были полнокровными, пестрыми, отечными, с множественными точечными и пятнистыми кровоизлияниями. Гистологически в легких через 60 минут выявлялся бронхоспазм, ткань легких с чередованием очагов эмфиземы и ателектаза, множественные точечные и местами сливные кровоизлияния. Сосуды микроциркуляторного русла резко полнокровны, местами в просвете выявлялся стаз, местами — гемолиз эритроцитов. Через 1 сутки после введения чужеродной крови морфологические изменения в легких были резко выраженными, наблюдались распространенные очаги ателектаза и кровоизлияний, во многих альвеолах обнаруживалась белковая жидкость, нарастал гемолиз эритроцитов в сосудах микроциркуляции. В просвете альвеол обнаруживались макрофаги с бурым пигментом — гемосидерином. На 5 сутки после гемотрансфузии наблюдается постепенное восстановление нормальной аэрации альвеол и кровенаполнения сосудистого русла. Однако кровоизлияния в легких остаются. В просвете альвеол много альвеолярных макрофагов, сидерофагов. В фокусах ателектаза белковая жидкость, некротизированные клетки.

При биофизических исследованиях обнаружены фазные изменения уровня внеклеточного и клеточного сурфактанта, взаимосвязанные с нарушениями структуры легких, зависящие от срока исследования после введения гетерогенной крови (табл. 1). Через 1 час от проведения гемотрансфузии резко

снижалась ПА обеих фракций сурфактанта: рост ПН мин в БАС составил 88 %. ИС БАС снизился на 33,2 %, а ИС ЭПАС — на 38,1 %. Сутки спустя все показатели ПА сурфактанта оставались резко измененными ($p < 0,05$). По всей видимости, кроме разбавления внеклеточного сурфактанта отечной жидкостью, произошло ингибирование ПА сурфактанта гемоглобином лизированных эритроцитов, что вполне соответствует литературным данным. На 5 сутки восстановительного периода показатели ПА внеклеточного сурфактанта приходили в норму, а ИС клеточного резервного сурфактанта оставался достоверно сниженным на 22 % ($p < 0,05$).

Таблица 1.

Изменение ПА внеклеточного и клеточного сурфактанта у взрослых собак при гемотрансфузионном шоке

Показатели	контроль	1 час	1 сутки	5 сутки
ПН мин БАС (мН/м)	13,3±0,6	25±1,3 *	27,2±0,9 *	12±1,3
ИС БАС	1,098 ±0,034	0,734 ±0,045 *	0,782 ±0,047 *	1,102 ±0,031
ПН мин ЭПС (мН/м)	27,6±0,6	31,2 ±0,9 *	30,8 ±0,9 *	27,5 ±1,1
ИС ЭПС	0,680 ±0,021	0,421 ±0,033 *	0,456 ±0,034 *	0,530 ±0,035 *

Примечание: * — критерий различий с контрольной группой $p < 0,05$

Мы впервые определили изменения электролитного баланса в БАС у собак при синдроме TRALY (табл. 2), промывая легкие собак 0,5 % раствором глюкозы.

Таблица 2.

Показатели электролитного баланса в плазме крови и бронхоальвеолярном смыве (БАС) собак при шоковом легком

Субстрат	Показатели	контроль	1 час	1 сутки
Плазма крови	K ⁺ (мг/дм ³)	17,75±0,08	40,6±0,15 *	33,3±0,07 *
	Na ⁺ (мг/дм ³)	327,5±0,06	278±0,45 *	296,4±0,05
	K/Na	0,06±0,02	0,14±0,02 *	0,08±0,03
БАС	K ⁺ (мг/дм ³)	6,0±0,1	14±0,03 *	15±0,09 *
	Na ⁺ (мг/дм ³)	14,5 ± 0,4	11,2± 0,04	15,35±0,23 *

	K/Na	0,41±0,05	1,25±0,03 *	0,98±0,04 *
--	------	-----------	-------------	-------------

Установлено, что синдром TRALY характеризуется повышением содержания калия в БАС, связанного, по всей видимости, во-первых со снижением энергетических ферментов мембраны альвеолоцитов (Na-АТФазы) и поломкой натрий/калиевого насоса, во-вторых с гемолизом эритроцитов и выходом внутриэритроцитарного калия в плазму, а затем в альвеолярное пространство.

Мы не встретили работ по определению свободного гемоглобина в бронхоальвеолярном смыве при шоковом легком, и приводим собственные данные без сравнения. В норме в бронхоальвеолярном смыве можно обнаружить свободный Hb, концентрация его в 5—8 раз меньше чем в сыворотке крови. При TRALI содержание свободного гемоглобина многократно повышается и в сыворотке крови и в бронхоальвеолярном смыве. Так спустя 1 час после переливания гетерогенной крови концентрация свободного Hb в сыворотке крови у взрослых собак выросла в 5,3 раза, в бронхоальвеолярном смыве концентрация свободного Hb выросла в 6,5 раза ($p < 0,001$). Спустя сутки свободный Hb в сыворотке крови уменьшился по сравнению с предыдущим сроком почти на половину, но оставался достоверно выше контрольного уровня. В бронхоальвеолярном смыве на первые сутки после переливания гетерогенной крови концентрация свободного Hb оказалась еще больше (в 7,8 раза выше контрольного уровня).

Синдром TRALI сопровождался резким повышением продуктов ПОЛ не только в плазме крови, но и в БАС. Оптическая плотность гидроперекисей через 1 час от гемотрансфузии возрастает более чем на 100 %, достоверно увеличивается окислительный индекс ($p < 0,001$). На 1 сутки постшокового периода сдвиг показателей остается резко выраженным ($p < 0,01$).

Заключение. Переливание гетерогенной крови собакам остается адекватной моделью синдрома TRALI. Гистологически уже спустя один час после гемотрансфузии обнаруживается картина «шокового легкого» или в

другой терминологии респираторного дисстресс-синдрома взрослых. Спустя сутки морфологические изменения не уменьшаются. Функциональными методами исследования в первые минуты отмечены изменения гемодинамики характерные для шока: падение АД, ЧСС, ОЦК, МОК, насыщение кислородом венозной крови, в дальнейшем сдвиги этих показателей уменьшаются, но остаются достоверно отличимыми от нормы до конца наблюдения в остром опыте (до 90 минуты).

Наши эксперименты подтверждают данные других авторов о биохимических сдвигах сыворотки крови: появлении свободного Нв, как проявление гемолиза эритроцитов, активации ПОЛ [8]. Исследование БАС показало достоверное снижение ПА сурфактанта, характерное для синдрома респираторных расстройств взрослых. Впервые при экспериментальном моделировании синдрома TRALI отмечены в БАС активация ПОЛ, достоверное повышение содержания свободного Нв, а также резкий рост концентрации K^+ и K/Na коэффициента. Снижение ПА сурфактанта, повышение перечисленных выше веществ, можно считать маркерами «шокового легкого», что подано к патентованию как изобретение.

Список литературы:

1. Белов Г.В. Арбузов А.А., Бримкулов Н.Н. Оценка состояния сурфактантной системы легких. Бишкек, 2005. — 104 с.
2. Гаврилов В.Б. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови / В.Б Гаврилов, М.И. Мишкорудная // Лаб. Дело. — 1983. — № 3. — С. 33—36.
3. Герасимова Н.Д. Риск посттрансфузионных осложнений / Герасимова Н.Д., Караваев А.В. // Вестник службы крови России. — 2010. — №2. — С. 6—12.
4. Люляева О.Д. Трансфузионные острые повреждения легких — главное смертельное осложнение / Люляева О.Д., Фёдоров Н.А., Павлов С.А. // Российские медицинские вести. — 2008. — № 4. — С. 31—35.

5. Koh M.B.C. Transfusion errors and management / M.B.C. Koh, R. Alcantara // ISBT Series. — 2009. — Vol. 4. — P. 216—220.
6. Popovsky M.A., Haley N.R. Further characterization of transfusion-related acute lung injury: demographics, clinical and laboratory features, and morbidity // *Immunohematology* 2000; 16:157—159.
7. Sittiman C.C., Boshkov L.K., Mehdizadehkashi Z. et al. Transfusion-related acute lung injury: epidemiology and a prospective analysis of etiologic factors // *Blood* 2003; 101 (2): 454—462.
8. Toy P., Popovsky M., Abraham E. et al. Transfusion-related acute lung injury: Definition and review. // *Crit. Care Med.* 2005; 33:721—726.