

МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ КРИТЕРИИ ЭФФЕКТИВНОСТИ ГЕМОФИЛЬТРАЦИИ ПРИ ПОЛИОРГАННОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ У БОЛЬНЫХ ХИРУРГИЧЕСКИМ СЕПСИСОМ

А.М. Фомин¹, Р.В. Кошелев¹, А.В. Ватазин¹, И.А. Василенко², Ю.Д. Волгина¹, В.Б. Метелин²

¹ГУ Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского (МОНИКИ)

²ФГУ Российский геронтологический научно-клинический центр Росздрава (РГНКЦ)

Представлены данные по изучению эффективности и обоснованности применения полупродленной гемофильтрации в комплексном лечении больных хирургическим сепсисом. Под наблюдением находились 33 пациента с полиорганной недостаточностью на фоне тяжелых гнойно-септических осложнений заболеваний органов брюшной полости. По результатам морфометрии циркулирующих тромбоцитов предложены критерии оценки тяжести эндогенной интоксикации больных и прогнозирования течения полиорганной недостаточности при проведении экстракорпоральной терапии.

Ключевые слова: сепсис, полиорганная недостаточность, гемофильтрация, тромбоциты, морфометрия.

MORPHOMETRIC CRITERIA OF HEMOFILTRATION EFFICACY IN SURGICAL SEPSIS PATIENTS WITH MULTIPLE ORGAN INSUFFICIENCY

A.M. Fomin¹, R.V. Koshelev¹, A.V. Vatazin¹, I.A. Vasilenko², Yu.D. Volgina¹, V.B. Metelin²

¹M.F. Vladimirsky Moscow Regional Clinical and Research Institute (MONIKI)

²Russian Gerontologic Clinical and Research Center of Russian Public Health

The data presented concern investigation of efficacy and validity of applying a half-extended hemofiltration in complex treatment of patients with surgical sepsis. Under observation there were 33 patients with multiple organ insufficiency against the background of the severe pyoseptic complications of abdominal cavity diseases. On the basis of morphometric data of circulating thrombocytes, criteria were established for estimation of endogenous intoxication severity and prognostication of the course of multiple organ insufficiency during extracorporeal therapy.

Key words: sepsis, multiple organ insufficiency, hemofiltration, thrombocytes, morphometry.

В настоящее время лечение больных хирургическим сепсисом при полиорганной недостаточности (ПОН) имеет ряд нерешенных проблем, и летальность в этой группе больных составляет от 50 до 75% и более [2, 3, 4, 6].

Известно, что у больных хирургическим сепсисом происходит развитие комплекса неспецифических реакций организма, ведущих к системной или органной недостаточности, которые объединяют под термином «полиорганной недостаточности» [1, 5, 6]. Можно говорить о вариантах посттравматической, постгеморрагической, септической, панкреатогенной, постреанимационной ПОН, однако почти 90% случаев ПОН имеют инфекционную природу [1, 5, 9].

Основным звеном в патогенезе ПОН является системный воспалительный ответ, сопровождающийся чрезмерным выбросом из очага воспаления патогенных бактерий, их токсинов, провоспалительных цитокинов, эндогенных медиаторов, свободных радикалов, продуктов перекисного окисления липидов. При этом нарастание концентрации первичных провоспалительных цитокинов до запредельного уровня и патологическая воспалительная реакция становятся необратимыми. Системная гиперцитокинемия вызывает тяжелое расстройство микроциркуляции, усугубляя гипоксическое поражение легких, почек, печени, кишечника, головного мозга [2, 4, 5, 8, 9, 10, 11].

Ведущая роль в развитии ПОН у больных хирургическим сепсисом является синдром эндогенной интоксикации, который запускается и в дальнейшем поддерживается накоплением медиаторов воспаления, что требует интенсивного их удаления из организма [4, 8, 10, 11, 13, 14].

Разработки отечественных и зарубежных школ детоксикации показали, что именно гемофильтрация является одним из основных методов элиминации медиаторов воспаления и, как следствие, коррекции синдрома эндогенной интоксикации как компонента ПОН у больных с тяжелыми гнойно-септическими осложнениями [2, 3, 4, 8, 12]. В настоящее время продолжают поиски эффективных методов экстракорпоральной гемокоррекции, позволяющих влиять на каскадный патологический цикл системного воспалительного ответа [2, 4, 8, 11]. Дальнейшие научные разработки показали высокую эффективность продолженных и высокообъемных методик гемофильтрации [2, 4, 8, 12].

В настоящее время исследования, в которых обобщен опыт проведения различных методик гемофильтрации при ПОН у больных с тяжелыми гнойно-септическими осложнениями заболеваний органов брюшной полости, представлены в литературе единичными сообщениями [2, 4, 8, 12].

Одним из информативных методов оценки эндотоксикоза при ПОН является морфометрия клеток крови [7]. В ряде публикаций отмечено, что морфологические параметры клеток (особенно тромбоцитов) изменяются в зависимости от тяжести эндотоксикоза. Известно, что показатели гемостаза можно рассматривать в качестве маркеров степени тяжести нарушений общего гомеостаза организма пациента и критериев эффективности проводимых лечебных мероприятий. При этом изменения в сосудисто-тромбоцитарном звене гемостаза часто выявляются еще до манифестации клинических проявлений заболевания. В реализации начального этапа гемостаза важную роль играют тромбоциты. Широкий диапазон функциональной активности этих клеток предполагает их участие в обеспечении коагуляции, репарации сосудистой стенки, депонировании и транспорте биологически активных соединений, осуществлении защитных реакций. Такая полифункциональность, высокая реактивность и возбудимость тромбоцитов позволяют рассматривать их в качестве наиболее удобных и информативных объектов для тестирования различных систем организма [7].

Изучение гетерогенности циркулирующей популяции тромбоцитов с применением новейших методов компьютерной цитометрии несомненно является актуальным и перспективным. Исследование морфофункционального статуса тромбоцитов может иметь важное значение в плане диагностики и оцен-

ки степени тяжести состояния ПОН. Детализация некоторых аспектов патогенеза расстройств в системе крови и в других органах и тканях открывает пути к повышению эффективности коррекции подобных состояний.

Настоящая работа посвящена изучению эффективности и патогенетической обоснованности применения полупродленной гемофильтрации (ППГФ) в комплексном лечении больных хирургическим сепсисом на основании изменений морфометрических параметров тромбоцитов.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследования проведены у 33 пациентов с ПОН на фоне тяжелых гнойно-септических осложнений заболеваний органов брюшной полости. Тяжесть состояния по шкале APACHE II к началу лечения составляла $27,1 \pm 3,4$ балла.

Всем больным проводились операции полупродленной гемофильтрации в течение 10-14 часов на аппарате «Hygieia Ultima» фирмы «KIMAL» с гемофильтрами «Nephral 400», замещающими растворы «Prismasol». Доза гемофильтрации составила 40-45 мл/кг/час. Гемофильтрацию проводили в режиме постдилюции со скоростью кровотока 200-220 мл/мин. Гипокоагуляцию осуществляли гепарином по методике 2000-2500 ЕД в венозный контур магистральной до начала гемофильтрации, далее 600-1000 ЕД в час в виде постоянной инфузии с прекращением подачи гепарина за 2 часа до окончания гемофильтрации. В ходе гемофильтрации оценку адекватности гипокоагуляции выполняли по двум параметрам: времени активированного свертывания (BAC) и активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ). Антикоагуляцию считали адекватной при значениях BAC в пределах 180-200 с, АЧТВ при 150-180% от исходного уровня.

Морфофункциональное состояние циркулирующих тромбоцитов оценивали экспресс-методом витальной компьютерной морфометрии на основе отечественного компьютерного фазово-интерференционного микроскопа «Цитоскан» до и после операции гемофильтрации. Контрольную группу составили 25 здоровых лиц.

Забор венозной крови в объеме 1-2 мл осуществляли в пробирки из ареактивного пластика («Sarstedt Monovette», Германия) с антикоагулянтом (ЭДТА, цитрат натрия). Для приготовления плазмы, обогащенной тромбоцитами, кровь центрифугировали при 1000 об/мин в течение 5-7 минут. Статистическую обработку полученных данных проводили на компьютере с использованием стандартных программ Microsoft Excel и MATLAB 6,0.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Тромбоциты являются эффективным примером единства структуры и функции. Процесс активации тромбоцитов представляет собой совокупность многоступенчатых реакций, приводящих к изменению их формы, размеров и внутренней структуры. Специалисты выделяют несколько морфологических типов тромбоцитов, характеризующих ту или иную степень их активации.

Ретроспективный анализ литературы и полученные нами фазово-интерференционные изображения живых тромбоцитов позволили идентифицировать четыре морфологических типа клеток, характеризующих ту или иную степень их активации. Основой для дискриминации структурно измененных тромбоцитов служили различные варианты их формы, характера рельефа поверхности, наличие псевдоподий, их количество и величина.

Различные формы тромбоцитов периферической крови, идентифицированных в циркулирующей популяции периферической крови человека, представлены на рис. 1.

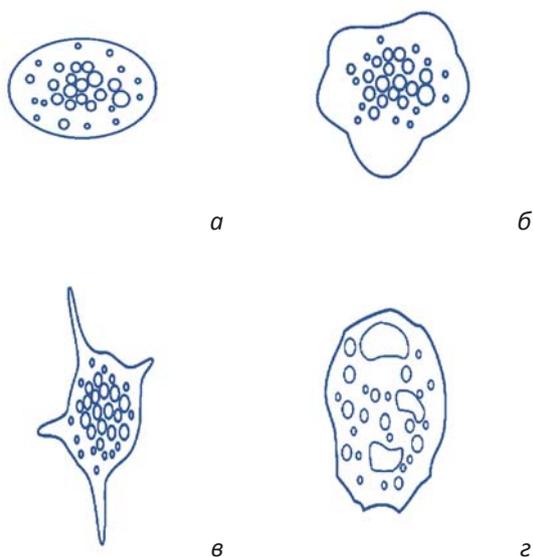


Рис. 1. Морфофункциональные типы живых тромбоцитов периферической крови: а – 1-й тип: тромбоцит «покоя»; б – 2-й тип: тромбоцит с низким уровнем активности; в – 3-й тип: высокоактивированный тромбоцит; г – 4-й тип: дегенеративно-измененный тромбоцит

Подавляющее большинство тромбоцитов представлено плоскими, округлыми клетками с гладкой или складчатой поверхностью — «гладкие» и «рифленные» дискоциты, идентифицируемые как клетки «покоя» (1-й морфологический тип).

Ко 2-му типу тромбоцитов были отнесены дискоидные клетки округлой, неправильной формы с гладкой или складчатой поверхностью и одним-тремя короткими (меньше диаметра клетки) отростками-псевдоподиями, являющимися выростами поверхностной мембраны – тромбоциты с низким уровнем активности.

Клетки, имеющие от двух до пяти длинных (больше диаметра клетки) отростков-«антенн», отнесены к 3-му типу и отличались большим многообразием форм: от плоских дисков до неправильной причудливой формы – высокоактивированные тромбоциты.

Тромбоциты неправильной формы с неровной бугристой поверхностью, большим количеством отростков различной длины и многочисленными вакуолями были отнесены к 4-му морфологическому типу – дегенеративно-измененным клеткам, практически исчерпавшим свой функциональный резерв.

На рис. 2 представлена диаграмма распределения тромбоцитов периферической крови в соответствии с принадлежностью к одному из четырех выделенных морфологических типов. В крови соматически здоровых людей соотношение морфологических типов клеток составляет – 64, 21, 12, 3%, соответственно.

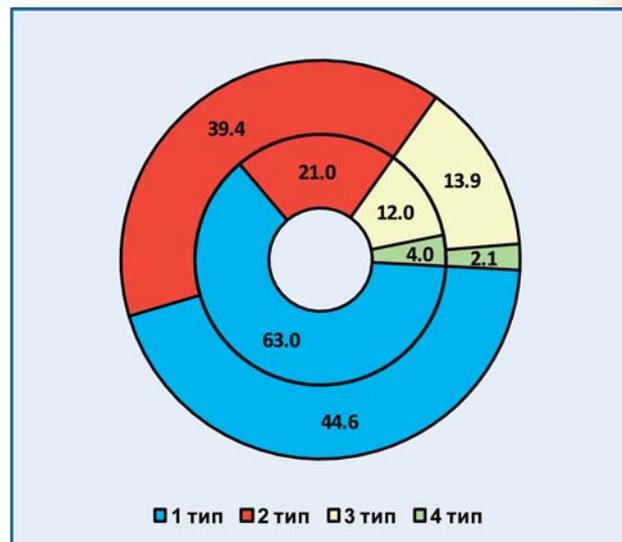


Рис. 2. Процентное соотношение морфофункциональных типов тромбоцитов периферической крови соматически здоровых лиц (внутренний круг) и больных с ПОН (внешний круг)

При ПОН тромбоциты «покоя» составили всего 44,6%; 34,2% клеток были представлены тромбоцитами с низким уровнем активации (2-й тип); 13,0% – высокоактивированных клеток, 8,2% – дегенеративно-измененных тромбоцитов.

Анализ основных размерных параметров тромбоцитов (диаметр, периметр, высота, объем и пло-

щадь) позволил количественно охарактеризовать структурно-объемные особенности каждой отдельной клетки и всей популяции в целом. В табл. 1 приведены среднепопуляционные значения витальных оптико-геометрических показателей тромбоцитов в исследуемых группах пациентов.

Установлено, что в периферической крови больных с гнойно-септическими осложнениями заболеваний органов брюшной полости происходят выраженные изменения морфометрических показателей циркулирующих тромбоцитов: достоверно увеличиваются средние в популяции значения диаметра (на 30,8%), периметра (на 19,5%), площади (на 41,3%) и объема (на 44,4%) клеток. Фазовая высота, напротив, оказывается на 16,7% ниже показателей соматически здоровых лиц. Такие изменения связаны с появлением в кровеносном русле большого числа активированных тромбоцитов с характерным рельефом поверхности и наличием отростков-псевдоподий.

Полученные результаты убедительно свидетельствуют о выраженных изменениях морфофункционального состояния тромбоцитов периферической крови пациентов, позволяющих выявить особенности различных клеточных форм по их структурно-объемным показателям и рельефу поверхности, представить количественную и качественную характеристику каждой группы клеток. Такая информация, описывающая множество распределений параметров, которыми являются структурные признаки тромбоцитов, может иметь большую диагностическую ценность.

Эффективность процедуры гемофильтрации может быть количественно оценена по изменению морфометрических параметров тромбоцитов. Одним из наиболее показательных критериев действия полупродленной гемофильтрации (ППГФ) является динамика среднепопуляционного диаметра клеток (рис. 3).

Рис. 3 иллюстрирует, что после ППГФ наблюдаются три возможных варианта реакции тромбоцитов

Таблица 1

Средние в популяции размерные параметры тромбоцитов периферической крови (M±δ)

Группа	Диаметр (D), мкм	Периметр (P), мкм	Высота (H), мкм	Площадь (S), мкм ²	Объем (V), мкм ³
Соматически здоровые лица (n=25)	2,6±0,8	8,2±3,4	1,2±0,3	4,6±1,2	1,8±0,6
Больные с ПОН (n=33)	3,4±1,2*	9,8±5,8*	1,0±0,4*	6,5±3,4*	2,6±1,2*

* – достоверно относительно контроля: p < 0,05.

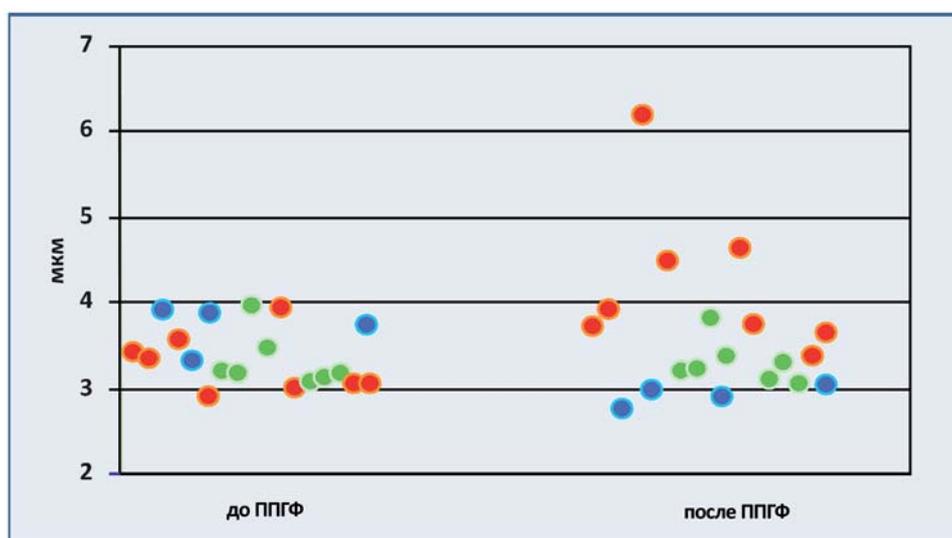


Рис. 3. Диаграмма распределения тромбоцитов по величине среднепопуляционного диаметра (мкм) у больных с ПОН до и после процедуры полупродленной гемофильтрации (красным обозначены клинические случаи, связанные с увеличением диаметра тромбоцитов после ППГФ, синим – с уменьшением диаметра, зеленым – с отсутствием значимых изменений)

на процедуру: 1) увеличение среднепопуляционно-го диаметра циркулирующих клеток, 2) уменьшение или 3) отсутствие выраженных изменений. Ретроспективный анализ клинических и лабораторных данных показывает, что увеличение морфометрических показателей тромбоцитов свидетельствует о низкой эффективности проведенной процедуры ППГФ и неблагоприятном прогнозе вследствие прогрессирования патологического состояния. В свою очередь это служит причиной изменения лечебной тактики: увеличивается число процедур ППГФ, проводятся дополнительные лечебные мероприятия.

Результаты практического применения витальной компьютерной морфометрии тромбоцитов в отделении интенсивной терапии у больных с гнойно-септическими осложнениями заболеваний органов брюшной полости демонстрируют прогностическое значение морфометрических критериев тромбоцитов. Так, нормализация клеточных показателей свидетельствует об эффективности проводимых лечебных мероприятий и благоприятном исходе заболевания (рис. 4).

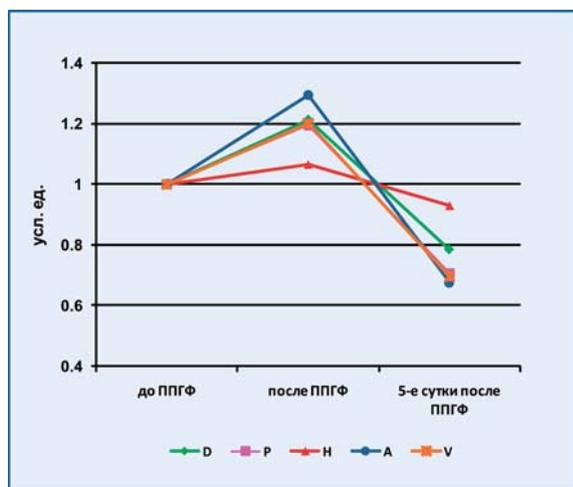


Рис. 4. Динамика изменения размерных параметров тромбоцитов у больных хирургическим сепсисом с ПОН при положительном исходе лечения. Условные обозначения: D – диаметр, P – периметр, H – высота, A – площадь, V – объем

Прогрессирующее увеличение морфометрических параметров связано с необратимыми патологическими изменениями морфологического субстрата клеток и нарушением их функциональной полноценности. Регистрация таких изменений показывает отсутствие эффективности проводимого лечения и является неблагоприятным прогностическим признаком (рис. 5).

В качестве примера приводим результаты мониторинга показателей морфофункционального состояния циркулирующих тромбоцитов периферической крови больного Ф. (рис. 6 и 7).

Является очевидным, что в результате патогенетически обоснованной детоксикационной терапии у больных хирургическим сепсисом и полиорганной недостаточностью наблюдается нормализация гемостазиологического потенциала крови, что способствует улучшению процессов микроциркуляции и гемореологии. Проведенные исследования позволяют предложить для практического использования количественные критерии адекватности лечебных мероприятий и прогнозирования неблагоприятного исхода полиорганной недостаточности в режиме реального времени. При этом компьютерная морфометрия в

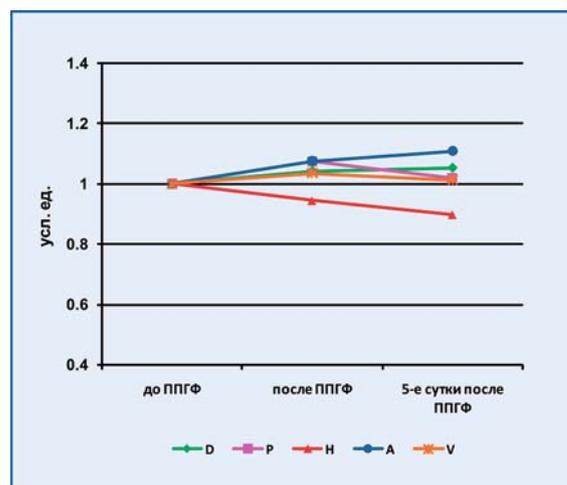


Рис. 5. Динамика изменения размерных параметров тромбоцитов у больных с ПОН при летальном исходе. Условные обозначения: D – диаметр, P – периметр, H – высота, A – площадь, V – объем

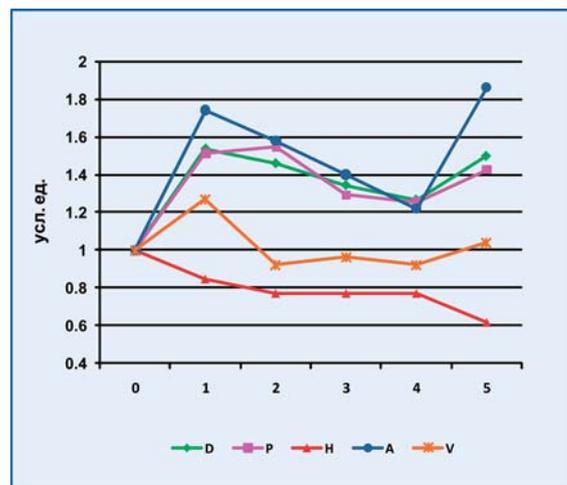


Рис. 6. Динамика изменения размерных параметров тромбоцитов больного Ф. за период наблюдения: 0 – контроль; 1 – исходные данные до начала проведения процедуры; 2 – после первой процедуры; 3 – до второй процедуры; 4 – после второй процедуры; 5 – на пятые сутки наблюдения. Условные обозначения: D – диаметр, P – периметр, H – высота, A – площадь, V – объем

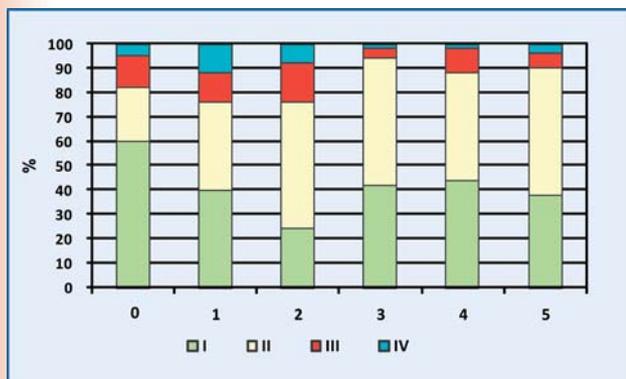


Рис. 7. Динамика морфологического состава популяции тромбоцитов больного Ф. за период наблюдения: I – тромбоциты покоя; II – слабоактивированные тромбоциты; III – высокоактивированные тромбоциты; IV – дегенеративно-измененные тромбоциты. 0 – контроль; 1 – исходные данные до начала проведения процедуры; 2 – после первой процедуры; 3 – до второй процедуры; 4 – после второй процедуры; 5 – на пятые сутки наблюдения. Условные обозначения: D – диаметр, P – периметр, H – высота, A – площадь, V – объем

качестве экспресс-метода оценки эффективности полупродленной гемофильтрации имеет следующие преимущества:

- возможность изучения живых нативных клеток крови, не подвергавшихся предварительной обработке, окрашиванию или фиксации;
- оперативное получение высокоточных и объективных данных на основе компьютерной технологии;
- отсутствие необходимости использования дорогостоящих реактивов или дополнительного оборудования;
- использование универсальных критериев оценки для любых типов клеток, характеризующих как морфологические, так и функциональные их особенности;

– потребность малого объема крови (не более 1-2 мл) для проведения комплексного анализа морфофункционального состояния клеточных элементов.

Использование компьютерной морфометрии при мониторинговании состояния больных хирургическим сепсисом гарантирует получение оперативных и объективных сведений о детальных изменениях клеточного звена гемостаза при развитии полиорганной недостаточности, поднимая тем самым на качественно новый уровень эффективность диагностики ПОН и оценку проводимых лечебных мероприятий.

ЛИТЕРАТУРА

1. Багдатыев В.Е., Гологорский В.А., Гельфанд Б.Р. Респираторный дистресс-синдром взрослых (Часть I) // Вестн. интенс. тер. 1996. №4. С.9-14.

2. Бирюкова Л.С., Пурло Н.В., Денисова Е.Н. и др. Применение постоянной высокообъемной гемодиализации у больных сепсисом и полиорганной недостаточностью // Анестезиол. реаниматол. 2005. №2. С.69-71.
3. Ватазин А.В., Лобаков А.И., Фомин А.М. Фильтрационные и комбинированные методы экстракорпоральной детоксикации при перитоните. М., 1998.
4. Ватазин А.В., Фомин А.В., Кошелев Р.В. и др. Продленная низкопоточная вено-венозная гемофильтрация при перитоните: динамика тяжести эндотоксикоза как критерии эффективности метода // Анестезиол. реаниматол. 2005. №2. С.66-69.
5. Гологорский В.А., Гельфанд Б.Р., Багдатыев В.Е., Топазова Е.Н. Синдром полиорганной недостаточности у больных с перитонитом // Хирургия. 1988. №2. С.73-76.
6. Жидков К.П. Критические состояния (диагностика и лечение). СПб., 2000.
7. Кошелев Р.В., Фомин А.М., Волгина Ю.Д. и др. Морфометрические показатели тромбоцитов периферической крови как критерии оценки эффективности полупродленной гемофильтрации у больных с гнойно-септическими осложнениями заболеваний органов брюшной полости // Клиническая гемостазиология и гемореология в сердечно-сосудистой хирургии: Материалы третьей Всерос. науч. конф. (с международным участием). М., 2007. С.112-113.
8. Яковлева И.И., Илюхов В.С., Ляликова Г.В. и др. Высокообъемная гемодиализация в лечении сепсиса и полиорганной недостаточности: два способа элиминации TNF-альфа // Анестезиол. реаниматол. 2001. №2. С.46-48.
9. Kanetake K., Hayashi M., Hino A. et al. Primary peritonitis associated with streptococcal toxic shock-like syndrome: report of a case // Surg. Today. 2004. V.34, No.12. P.1053-1056.
10. McKallip R.J., Fisher M., Gunthert U. et al. Role of CD44 and its v7 isoform in SEB-induced Toxic Shock: CD44 Deficiency on Hepatic Mononuclear Cells Leads to Reduced Activation-induced Apoptosis Resulting in Increased Liver Damage // Infect. Immun. 2005. V.73, No.1. P.50-61.
11. Riedemann N.C., Ward P.A. Anti-inflammatory strategies for the treatment of sepsis // Expert. Opin. Biol. Ther. 2003. V.3, No.2. P.339-350.
12. Rocktaschel J., Morimatsu H., Uchino S. et al. Impact of continuous veno-venous hemofiltration on acid-base balance // Int. J. Artif. Organs. 2003. V.26. P.19-25.
13. Rogiers P. Hemofiltration treatment for sepsis: Is it time for controlled trials? // Kidney Int. 1999. V.56. P.99-103.
14. Ronco C., Bellomo R., Homel P. et al. Effects of different doses in continuous veno-venous haemofiltration on outcomes of acute renal failure: a prospective randomised trial // Lancet. 2000. V.356, No.9223. P.26-30.