ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ КИСЛОРОДА, ПРИМЕНЯЕМЫХ ВО ВРЕМЯ МНОГОКОМПОНЕНТНОЙ ЭНДОТРАХЕАЛЬНОЙ АНЕСТЕЗИИ, НА СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПАРАМЕТРЫ ЭРИТРОЦИТОВ

А. В. Марочков², А. Л. Липницкий², Н. В. Акулич¹

¹ УО «Могилевский государственный университет им. А. А. Кулешова»
 Министерства образования Республики Беларусь, кафедра биологии
 ² УЗ «Могилевская областная больница» Министерства здравоохранения Республики Беларусь

Effect of Different Oxygen Concentrations Used During Multicomponent Endotracheal Anesthesia on the Structural and Functional Parameters of Red Blood Cells

A. V. Marochkov², A. L. Lipnitsky², N. V. Akulich¹

¹ Department of Biology, A. A. Kuleshov Mogilev State University, Mogilev, Republic of Belarus
² Mogilev Regional Hospital, Mogilev

Цель исследования. Изучить влияние различных концентраций кислорода, применяемых во время сбалансированной многокомпонентной эндотрахеальной анестезии на основе севофлурана, на структурно-функциональные параметры эритроцитов. Материал и методы. В проспективное, рандомизированное исследование было включено 20 человек (52,7±16,2 лет), которым выполнялось однотипное хирургическое вмешательство. Пациенты были разделены на две группы в зависимости от используемой интраоперационно концентрации кислорода во вдыхаемой смеси (с ${\rm FiO_2}\ 50\%$ (группа 1) и 21% (группа 2). Проводили морфодифрактометрический анализ эритроцитов пациентов на трех этапах (до начала операции, во время нее и после анестезии). Результаты. В группе, где использовали FiO₂ равное 50%, наблюдалась статистически значимая тенденция эритроцитов к макроцитозу (82,4±23,3 фл до начала общей анестезии, по сравнению с $85,1\pm20,6$ фл после анестезии; p=0,02), в сравнении с группой с FiO_2 равным 21%, где изменений объема эритроцитов не наблюдалось. Боковое светорассеивание статистически значимо снизилось после анестезии в 1 группе ($146,2\pm17,7$ ед. в сравнении с $162,9\pm23,0$ ед. до анестезии (p<0,005) и $156,4\pm16,3$ ед. во время операции (p<0,05). Коэффициент вариации полувысоты бокового светорассеивания эритроцитов также статистически достоверно увеличивался на последнем этапе наблюдения в 1 группе (26,3±3,1 ед. в сравнении с $22,1\pm5,0$ ед. во время операции (p<0,05) и $20,8\pm3,9$ ед. до анестезии (p<0,005). Во второй же группе статистически значимых изменений этих двух признаков не наблюдалось. Заключение. Нами установлено, что во время оперативных вмешательств в условиях гипероксии происходит изменение формы и свойств эритроцитов, что связано, вероятно, с ростом уровня прооксидантов. Ключевые слова: эритроциты, гомеостаз, общая анестезия, гипероксия, морфодифрактометрия.

Objective: to study the effect of different concentrations of oxygen on structural and functional parameters of red blood cells during balanced multicomponent sevoflurane-based endotracheal anesthesia. Subjects and methods. The prospective, randomized trial enrolled 20 persons (aged 52.7 ± 16.2 years) who underwent the same surgical procedure. The patients were divided into 2 groups, which differed inintraoperatively used oxygen concentration in the inspired mixture, 50% FiO₂ (group 1) and 21% FiO₂ (Group 2). A morphological difractometric analysis of patients' red blood cells was performed preoperatively, intraoperatively, and after anesthesia. Results. In Group 1, red blood cells demonstrated statistically significant trend towards macrocytosis (82.4 ± 23.3 fl before general anesthesia versus 85.1 ± 20.6 fl after anesthesia; p=0.02); in group 2, there were no statistically significant changes in red blood cell volumes. Lateral light scattering was ignificantly decreased after anesthesia in Group 1 (146.2 ± 17.7 U versus 162.9 ± 23.0 U prior to anesthesia (p<0.005) and 156.4 ± 16.3 U during the surgery (p<0.05)). The coefficient of variation in half-height of lateral light scattering of red blood cells was also significantly increased at the final stage of observation in Group 1 (26.3 ± 3.1 U versus 22.1 ± 5.0 U during surgery, p<0.05 and 20.8 ± 3.9 U before anesthesia, p<0.005). No significant changes in these two indicators were seen in Group 1. Conclusion: changes in shape and patterns of red blood

are likely to be associated with the increasing level of prooxidants. *Key words:* red blood cells, homeostasis, general anesthesia, hyperoxia, morphologi-

cal difractometry.

cells occur intraoperatively under hypoxia, which

Адрес для корреспонденции (Correspondence to):

Липницкий Артур Леонидович (Lipnitsky A. L.) E-mail: lipnitski.al@gmail.com

Важнейшей задачей анестезиологического обеспечения хирургических вмешательств является защита пациента путем своевременной и адекватной оценки важнейших гомеостатических констант, и при необходимости принятие мер для восстановления постоянства внутренней среды. В реанимационно-анестезиологической практике кислород используется достаточно давно, поскольку существующая парадигма предполагает увеличение доставки кислорода при всех типах критических состояний ввиду того, что О2, являясь окислителем питательных веществ, играет ключевую роль в энергетическом обеспечении клеток. Вместе с тем высокая окислительная способность кислорода, инициирующая самопроизвольные, неферментативные реакции образования супероксида О^{*} и гидроксид-радикала ОН*, может привести к нарушению гомеостаза у пациентов, которым проводят оперативное вмешательство.

До настоящего времени нет исчерпывающих представлений о кислородном токсическом пороге, равно как и о предпочтительной концентрации кислорода во время анестезии. Например, в одном из номеров журнала «Анестезиология и реаниматология» (2007 г., №3, Россия) встречается как минимум три статьи, в которых авторы поддерживают во время анестезии напряжение кислорода в артериальной крови (PaO_2) от 170 до 225 мм рт. ст. [1, 2], а в одной из работ и до 360 мм рт. ст. [3]. Анестезиологи в экономически развитых странах придерживаются аналогичных представлений о параметрах обеспечения кислородом во время анестезии, (как правило, выше 160 мм рт. ст.) [4].

Существенное влияние на антиоксидантную защиту человека могут оказывать и ингаляционные анестетики, в частности севофлуран, однако этот важный эффект ингаляционных анестетиков в условиях гипероксии совершенно не изучен. Вместе с тем вредное влияние гипероксии на организм широко изучается не только на уровне отдельных клеток и их органелл, но и на тканевом и органном уровне (например, легких) [5—8]. Однако большинство исследований проводится или в лабораторных условиях, или на здоровых добровольцах, или *in vitro* на культурах различных клеток. Во всех этих случаях имеют место упрощенные ситуации, которые не учитывают факторы, имеющиеся в реальной клинической практике [9, 10].

Первой линией антиоксидантной защиты человека при гипероксии является эритроцит, который имеет ряд компенсаторных и регуляторных механизмов с участием кислорода. Выяснение роли эритроцитов в прооксидантно-антиоксидантном гомеостазе может иметь значение как для создания эффективных тестов для определения токсичности O_2 , так и для оценки индивидуальной резистентности пациента к гипероксии во время проведения оперативных вмешательств.

Таким образом, целью настоящей работы было изучение влияния различных концентраций кислорода, применяемых во время сбалансированной многокомпонентной эндотрахеальной анестезии на основе севофлурана, на структурно-функциональные параметры эритроцитов.

Материал и методы

После разрешения Комитета по этике УЗ «Могилевская областная больница», а также получения письменного информированного согласия от каждого из пациентов, в проспективное рандомизированное исследование было включено 20 человек (4 мужчины и 16 женщин) в возрасте от 18 до 80 лет (в среднем 52,7±16,2 лет) с диагнозом хронический калькулезный холецистит, которым в 2010—2011 гг. выполнялось однотипное хирургическое вмешательство (лапароскопическая холецистэктомия).

Критерии включения в исследование: проведение анестезии при плановых оперативных вмешательствах; лица обоего пола; возраст от 18 лет и старше; оценка физического статуса пациентов по ASA I—III класс; пациенты без выраженной патологии легочной системы (отсутствие патологических изменений на рентгенограмме легких). Интраоперационная кровопотеря составляла до 1% ОЦК конкретного пациента.

Пациенты были разделены на две группы в зависимости от используемой интраоперационно концентрации кислорода во вдыхаемой смеси: в 1-й группе представлено 13 пациентов, у которых FiO_2 во время анестезии на вдохе было 50%, во 2-й группе объединены 7 пациентов, у которых FiO_2 во время анестезии на вдохе было 21%. Основные характеристики пациентов в сформированных группах представлены в табл.1. Также нами была создана группа сравнения, в которой образцы крови из обеих групп (6 пациентов из 1-й группы и 7 — из 2-й группы), взятые методом случайной выборки до начала анестезии, в течение 1 минуты инкубировали с 50 мкМ раствором $\mathrm{H}_2\mathrm{O}_2$ (3% раствор пероксида водорода разводили в буферном растворе (PBS pH 7.4).

Методика анестезии. Премедикацию и вводную анестезию у пациентов всех групп проводили по одинаковой схеме. Пациенты получали внутрь, накануне операции вечером (22.00) и утром в день операции (6.00) по 1 таблетке зопиклона (7,5 мг) или грандаксина (50 мг). На операционном столе за 10—20 минут до операции внутримышечно вводили 0,5 мг атропина и 10 мг димедрола. Индукция состояла из последовательного введения фентанила, пропофола и дитилина в стандартных расчетных дозах (табл. 2). В первой группе

Таблица 1

Общая характеристика пациентов

Оощил характеристика национтов							
Показатели, ед. измерения	Значения показа	p					
	1-я, <i>n</i> =13 (FiO ₂ =50%)	2-я, <i>n</i> =7 (FiO ₂ =21%)					
Возраст, лет	53,2±18,0	53,1±15,6	<i>p</i> >0,1*				
Пол, муж/жен	2/11	2/5	p>0,1**				
Индекс массы тела	$28,6\pm6,5$	$28,8\pm2,2$	<i>p</i> >0,1*				
ASA, I/II/III	1/11/1	0/6/1	<i>p</i> >0,1**				
Длительность операции, мин.	43,3±15,1	$38,7\pm9,6$	<i>p</i> >0,1*				
Длительность анестезии, мин.	$56,9 \pm 14,8$	51,0±8,2	<i>p</i> >0,1*				

Примечание. * — для анализа количественных данных использовали критерий Манна-Уитни (Mann-Whitney U-Test). ** — для анализа категориальных данных использовали Хи-квадрат по Пирсону (Pearson Chi-square).

Дозы препаратов для индукции и поддержания анестезии

Препараты	Значение показателей в группах			
	1-я, n=13 (FiO ₂ =50%)	2-я, <i>n</i> =7 (FiO ₂ =21%)	<i>p</i> *	
Фентанил, мкг/кг/час	$5,8\pm2,5$	$6,9\pm2,2$	p>0,1	
Пропофол, мг/кг	1,8±0,1	$1,9\pm0,1$	p > 0,1	
Дитилин, мг/кг	$1,9\pm0,2$	$1,8\pm0,15$	p > 0,1	
Тракриум, мг/кг	0.31 ± 0.04	0.33 ± 0.03	p > 0,1	
Севофлуран, об% на выдохе	$1,15\pm0,4$	$1,4\pm0,3$	p > 0.05	

Примечание. * — для анализа количественных данных использовали критерий Манна-Уитни.

поддержание анестезии производили ингаляцией севофлурана в дозе $1,15\pm0,4$ об.% на выдохе $(0,95\pm0,2$ МАК) в закисно-кислородной смеси с FiO₂=50% и болюсным введением фентанила (в количестве 5.8 ± 2.5 мкг/кг/час). Во второй группе поддержание анестезии производили ингаляцией севофлурана в дозе $1,4\pm0,3$ об.% на выдохе $(0,85\pm0,2\text{ MAK})$ в воздушной смеси (FiO₂=21%) и болюсным ввелением фентанила (в количестве 6.9 ± 2.2 мкг/кг/час). Мышечную релаксацию во время анестезии поддерживали однократным введением тракриума в дозе 0,3-0,6 мг/кг. ИВЛ во время общей анестезии проводили с использованием аппарата ADU-5 (Datex-Ohmeda, Финляндия) в режиме VCV с циркуляцией по полузакрытому контуру и потоком свежих газов 2 л/мин в 1 группе и потоком воздушной смеси, равным минутной вентиляции легких во 2 группе. В периоперационном периоде с помощью встроенного монитора аппарата ADU-5 проводили регистрацию параметров гемодинамики, оксигенации (пульсоксиметрия), вентиляции, контроль газового состава влыхаемой и вылыхаемой смеси и электроэнцефалографической энтропии (показатели RE и SE). Регистрацию этих параметров производили в «Протоколе проведения анестезии и мониторинга» с интервалом в 5 минут.

В рамках данного исследования нами анализировались мониторируемые параметры на следующих этапах: 1-й — до начала анестезии (больной на операционном столе); 2-й — через 5 минут после начала операции; 3-й — через 10 минут после начала операции; 4-й — через 20 — 30 мин после начала операции (основной этап операции); 5-й — окончание операции (швы на кожу); 6-й — через 5 минут после экстубации пациента. Забор венозной крови для исследования из локтевой вены проводился на 1, 4 и 6 этапах исследования в объеме 4 мл.

Анализ эритроцитов осуществляли на полуавтоматическом гематологическом анализаторе Abacus (Diatron, Aвстрия), проточном цитофлуориметре Cell Lab Ouanta SC, (Beckman Coulter, США) и микроскопе проходящего света Axiolmager Al (Carl Zeiss, Германия), объектив Plan-Neofluar 100×1.3 Oil с видеокамерой «Axio Cam MrC5» (Carl Zeiss, Германия). После 30-минутного отстаивания цельной крови забирали 1 мкл эритроцитов, которые разбавляли забуференным изотоническим раствором (Iso-Diluent, Beckman Coulter, США), встряхивали на вортексе и через 1-2 минуты анализировали на проточном цитофлуориметре. Исследования проводили при следующих режимах: скорость потока -7 мкл/мин, лазер — 488 нм, мощность лазера 13 мВт. Скорость анализа составляла 500-600 событий в секунду, концентрация образца составляла $5\,000-6\,000$ клеток в миллилитре. В каждой пробе анализировалось 40 000 событий, анализ занимал 70-80 сек. С целью лучшего контроля над безопасностью анестезии на тех же этапах исследования нами контролировалось кислотно-основное состояние и газовый состав крови на газовом анализаторе ABL 800 Flex (Radiometer Medical, Дания) по рекомендациям фирмы производителя.

Статистическую обработку проводили с помощью программы Statistica 7.0. Для оценки распределения применяли критерий Шапиро-Уилка. Данные представлены в виде среднего значения и стандартного отклонения ($M\pm SD$) в случае нормального распределения или медианы и квартилей (в группах с отличным от нормального распределения). Для определения значимости различий между средними конкретных групп применялись критерии Манна-Уитни (для независимых выборок)

или Вилкоксона (для зависимых выборок). Для анализа категориальных данных использовали Хи-квадрат по Пирсону.

Результаты и обсуждение

При сравнении двух сформированных групп можно отметить, что они не отличались по полу, возрасту, массе тела пациентов, оценке физического статуса по ASA, длительности и характеру оперативного вмешательства (p>0,1). Дозы препаратов, вводимых на этапе индукции в двух группах статистически значимо не отличались (p>0,1). Также не получено статистически значимых отличий между группами при сравнении доз фентанила и тракриума на этапе поддержания анестезии (p>0,1). Концентрация севофлурана на выдохе была больше во 2 группе по сравнению с 1 группой (p>0,05), что связано с отсутствием в дыхательной смеси закиси азота (табл. 2).

Анализ показателей гемодинамики (систолическое и диастолическое АД, среднее АД и ЧСС) между группами на всех этапах не выявил статистически значимых различий.

Глубина анестезии оценивалась по показателям электроэнцефалографической энтропии — энтропии ответа (RE) и энтропии покоя (SE). Во время поддержания анестезии отмечалось значительное снижение ЭЭГ-активности головного мозга в обеих группах (на этапах 2, 3, 4 отмечено снижение RE до 41—46%, SE до 37—44%), что соответствует адекватной глубине анестезии у пациента.

Сатурация крови, определяемая с помощью пульсоксиметра (SpO₂), до начала анестезии во всех группах не отличалась и составляла 97,7 \pm 2,4%. Во время анестезии на всех этапах исследования сатурация крови была в пределах нормы в обеих группах. На основном этапе операции (4 этап) SpO₂ в 1 группе (97,9 \pm 0,5%) была выше, чем во 2 группе (95,2 \pm 1,7%, p<0,01).

Также, во время анестезии нами контролировался газовый состав венозной крови. На начальном этапе наблюдения отличий по уровню напряжения кислорода и сатурации венозной крови между группами нет. В дальнейшем, на 4 этапе исследования, напряжение венозной крови было выше в 1 группе (97,9 \pm 39,9 мм рт. ст. в сравнении с 64,3 \pm 17,7 мм рт. ст. во 2 (p=0,02).

В качестве лабораторных маркеров качества анестезии у всех пациентов контролировали уровень лактата и глюкозы в образцах венозной крови. Полученные нами результаты представлены в табл. 3. Уровень глюкозы в крови на 4 этапе статистически достоверно повышался в обеих группах. После окончания операции и экстубации

Таблица 4

Динамика уровня глюкозы и лактата во время анестезии

Показатели	Группа	Значения показателей на этапах проведения анестезии			
		1-й	4-й	6-й	
Глюкоза, ммоль/л	1-я	4,8±1,0	5,6±1,2#	5,6±1,3#	
	2-я	$5,2\pm0,7$	5,8±0,8*, **	$5,3\pm0,9$	
Лактат, ммоль/л	1-я	$2,2\pm0,8$	1,3±0,3#	1,2±0,3#	
	2-я	2.2 ± 0.3	1.7±0.3*, **	1.5±0.4**	

Примечание. * — статистически значимые отличия между группами на 4 этапе наблюдения (критерий Манна-Уитни, *p*<0,001); - статистически значимые отличия внутри групп между 1 и 4 и 1 и 6 этапами наблюдения (критерий Вилкоксона, p=0,05); # — статистически значимые отличия внутри групп между 1 и 4 и 1 и 6 этапами наблюдения (критерий Вилкоксона (Wilcoxon Matched Pairs Test), p < 0.001).

Динамика объема эритроцитов на этапах исследования					
Показатели	Группа	Значения показателей на этапах проведения анестезии			
		1-й	4-й	6-й	
Средний объем эритроцитов (MCV, фл)	1-я	82,4±23,3	$83,5\pm22,0$	85,1±20,6*	
	2-я	68,2±16,9**	71,1±17,9**	70,1±13,6**	
Ширина эритроцитарной гистограммы					
на уровне 20% пика (EV HPCV, ед.)	1-я	$10,6\pm 5,5$	$9,5\pm 5,1$	$9,4\pm2,1$	
	2-я	12,6±2,5**	$12,9\pm4,1**$	15,3±8,2**	

Примечание. * — статистически значимые отличия внутри групп между 1 и 6 этапами наблюдения (критерий Вилкоксона, p=0,02); ** — статистически значимых отличий между 1 и 2 группами на всех этапах наблюдений получено не было (критерий Манна-Уитни, p > 0.05).

пациентов уровень глюкозы уменьшался во 2 группе, однако данное снижение статистически было недостоверно. Уровень лактата у всех пациентов был изначально повышен $(2,2\pm0,6 \text{ ммоль/л})$ и статистически значимо снижался на 4 этапе. Снижение уровня лактата во второй группе, где использовалось FiO2 на вдохе равное 21%, происходило в меньшей степени, и уровень лактата в этой группе на 4 этапе достоверно был большим (1,3±0,3 ммоль/л в 1 группе в сравнение с $1,7\pm0,3$ ммоль/л во 2 (p<0,001). После окончания анестезии происходило дальнейшее снижение лактата венозной крови, но статистически оно было недостоверно. Таким образом, представленные данные демонстрируют надежный уровень стрессовой защиты пациента от операционной травмы в обеих группах.

Уровень гемоглобина на первом этапе анестезии был в пределах нормы $140,4\pm11,2$ г/л, а затем на 4 этапе достоверно снижался в обеих группах (121,3±15,9 г/л в 1 группе и 127,3 \pm 17,5 г/л — во 2 группе (p<0,05,). К 6 этапу наблюдалось дальнейшее достоверное снижение гемоглобина — $128,7\pm10,5$ г/л в 1 группе и $118,0\pm23,1$ г/л во 2 группе (p<0,05, по сравнению с 1 и 4 этапами). Статистически достоверных отличий в уровне гемоглобина между обеими группами на всех этапах выявлено не было. Таким образом, на протяжении всего периода операции наблюдалось снижение уровня гемоглобина в обеих группах в основном за счет гемодилюции (учитывая незначительную кровопотерю).

На следующем этапе исследования нами проведено изучение морфодифрактометрических параметров эритроцитов. В частности, определяли средний объем (MCV) эритроцитов, проводили измерение ширины эритроцитарной гистограммы на уровне 20% пика кривой, а также боковое светорассеивание эритроцитов (SS) с исследованием распределения этого параметра.

Объем эритроцитов до операции (определялся цитофлуориметром) находился в пределах нормы в обеих группах, в среднем 77,4±21,9 фемтолитр (фл) и имел большую внутригрупповую вариацию. На следующих этапах наблюдалось увеличение объема эритроцитов до $79,1\pm21,0$ фл на четвертом этапе (p>0,05) и $79,8\pm19,5$ фл на 6 этапе (*p*<0,001). В группе, где использовали FiO₂ равное 50%, наблюдалась статистически значимая тенденция эритроцитов к макроцитозу (p=0,02), в сравнении с группой с FiO₂ равным 21%, где статистически значимых изменений объема эритроцитов не наблюдалось (табл. 4). Проводилось измерение ширины эритроцитарной гистограммы на уровне 20% пика кривой (HPCV). По мере протекания анестезии наблюдалась тенденция к увеличению однородности (уменьшение HPCV) эритроцитарной популяции в 1 группе (10,6±5,5 ед. на 1 этапе в сравнении с 9.4 ± 2.1 ед. на 6 этапе (p>0.05)), и ее снижению во 2 группе (12,6±2,5 ед. на 1 этапе в сравнении с $15,3\pm8,2$ ед. на 6 этапе (p>0,05).

Далее нами была проведена оценка бокового светорассеивания эритроцитов, которое является отражением изменения мембраны эритроцитов и структурных перестроек молекулы гемоглобина (в большей степени) и, как следствие, характеризует функцию эритроцитов.

Боковое светорассеивание статистически значимо снизилось после экстубации пациентов в 1 группе (146,2±17,7 ед. в сравнении с 162,9±23,0 ед. на 1 этапе (p<0.005) и 156,4 \pm 16,3 ед. на 4 этапе (p<0.05). Во 2 группе пациентов боковое светорассеивание эритроцитов имело также тенденцию к снижению, но статистически значимых отличий не произошло (табл. 5). Коэффициент вариации полувысоты бокового светорассеивания эритроцитов (SS HPCV) также статистически достоверно увеличивался на последнем этапе наблюдения в 1 группе

Таблица 5

Таблица 6

Динамика светорассеивания эритроцитов

Показатели	Группа	Значения показателей на этапах проведения анестезии		
		1-й	4-й	6-й
Боковое светорассеивание эритроцитов (SS, ед.)	1-я	162,9±23,0	156,4±16,3	146,2±17,7*,**
	2-я	$142,4\pm12,4$	$135,6\pm18,8$	$138,0\pm23,5$
Боковое светорассеивание эритроцитов, мода (SSMo, ед.)	1-я	137,5±31,8	137,8±28,6#	123,6±19,0*
	2-я	$117,8\pm12,1$	$102,0\pm18,9$	$105,4\pm27,4$
Коэффициент вариации SS, (SS CV, ед.)	1-я	$41,8\pm19,8$	36,4±13,4#	37,8±16,6#
	2-я	$52,9\pm11,6$	$50,3\pm11,3$	$47,9\pm8,9$
Соэффициент вариации полувысоты SS, (SS HPCV, ед.)	1-я	$20,8\pm3,9$	$22,1\pm 5,0$	26,3±3,1*,**
	2-я	$28,6\pm11,2$	$34,1\pm16,9$	$30,8\pm13,2$

Примечание. * — статистически значимые отличия внутри групп между 1 и 4 и 6 этапами наблюдения (критерий Вилкоксона, p<0,05). ** — статистически значимые отличия внутри групп между 1 и 6 этапом наблюдения (критерий Вилкоксона, p<0,005). # — статистически значимые отличия между группами (критерий Манна-Уитни, p<0,05).

Динамика морфодифрактометрических свойств эритроцитов в группе сравнения

Показатели, (ед. измерения)	Значения показателей на этапах исследования		p^*
	исходные данные	после обработки ${ m H_2O_2}$	-
Средний объем эритроцитов (MCV, фл)	72,0±13,9	84,9±14,9	p<0,01
Ширина эритроцитарной гистограммы на уровне 20% пика (EV HPCV, ед.)	$14,5\pm3,7$	$13,4\pm6,6$	p > 0,1
Боковое светорассеивание эритроцитов (SS, ед.)	$148,8\pm18,5$	$148,3\pm28,4$	p > 0,1
Боковое светорассеивание эритроцитов, мода (SSMo, ед.)	$126,2\pm17,3$	$95,2\pm47,1$	p < 0.05
Коэффициент вариации SS, (SS CV, ед.)	$45,8\pm11,8$	$57,4\pm27,1$	p=0.06
Коэффициент вариации полувысоты SS, (SS HPCV, ед.)	$27,5\pm 8,6$	$23,1\pm 8,1$	p > 0,1

Примечание. * — для анализа количественных данных использовали критерий Манна-Уитни.

(26,3 \pm 3,1 ед. в сравнении с 22,1 \pm 5,0 ед. на 4 этапе (p<0,05) и 20,8 \pm 3,9 ед. на 1 этапе (p<0,005). Во второй же группе статистически значимых изменений данного признака не наблюдалось. Снижение коэффициента вариации бокового светорассеивания (SS CV) на 4 и 6 этапах наблюдения происходило в большей степени в 1 группе (на 4 этапе — 36,4 \pm 13,4 ед. в 1 группе в сравнении с 50,3 \pm 11,3 ед. во 2 группе (p<0,05); на 6 этапе — 37,8 \pm 16,6 ед. в 1 группе в сравнении с 47,9 \pm 8,9 ед. во 2 (p<0,05)). Статистически значимые изменения обоих коэффициентов вариации в 1 группе показывают увеличение однородности изменения параметра SS на 4 и 6 этапах наблюдений.

В группе контроля, где нами проводилось моделирование воздействия свободных радикалов на эритроциты крови, были получены следующие результаты (табл. 6). Объем эритроцитов после обработки перекисью водорода статистически достоверно увеличивается до $84,9\pm14,9$ фл. от исходного $72,0\pm13,9$ (p<0,01). Воздействие H_2O_2 на эритроциты приводит к увеличению их однородности (снижение HPCV) (13,4±6,6 ед. в сравнении с исходным значением $14,5\pm3,7$ ед., p>0,1). Боковое светорассеивание эритроцитов после обработки клеток Н₂О₂ достоверно изменяется по сравнению с исходным уровнем (в среднем на 27,4 (11,0:36,2) ед.). Но в связи с тем, что из-за агрессивности повреждающего фактора изменение светорассеивания эритроцитов происходило как в сторону его увеличения, так и в сторону уменьшения (связано со значительным изменением конфигураций мембраны и гемоглобина), средние значения SS до и после воздействия ${\rm H_2O_2}$ одинаковы. Для сравнения, к 6 этапу наблюдения в 1 группе боковое светорассеивание изменялось на 12,2 (10,2:33,9) ед., а во 2 — на 8,9 (5,5:36,1) ед. Так же статистически достоверно снижалась и мода значений бокового светорассеивания (95,2 \pm 47,1 ед. в сравнении с исходным значением 126,2 \pm 17,3 ед., p<0,05).

Таким образом, в группе, где использовали ${\rm FiO_2}$ равное 50%, после экстубации наблюдалось достоверное увеличение объема эритроцитов (макроцитоз), увеличение однородности эритроцитарной популяции, а также снижение бокового светорассеивания эритроцитов.

Обсуждение

Выбор основного объекта нашего исследования по влиянию гипероксии был обусловлен тем, что эритроциты не содержат ядер и митохондрий, не способны к синтезу белков. Изменение мембраны эритроцита широко исследуется не только при терапии различных критических состояний у пациентов, но и для определения воздействия на организм различных компонентов общей анестезии [11—13]. Известно, что постоянное взаимодействие с кислородом вызывает аутоокисление содержащегося в эритроцитах гемоглобина с образованием супероксид-радикалов O_2^* , а также других активных форм кислорода (АФК), главным образом — перекиси водорода и гидроксил-радикалов. Гипотеза исследования состояла в том, что рост давления кислорода во вдыхаемой смеси может приводить к патологическим окислитель-

ным реакциям, отражением которых является изменение структурно-функциональных параметров эритроцита.

Мы предполагаем, что при проведении оперативных вмешательств в условиях гипероксии эритроциты могут подвергаться повреждающему воздействию АФК при несостоятельности защитных систем клетки. Окислительный стресс индуцирует трансформацию большего числа эритроцитов в патологические их формы с преобладанием сферо-и стоматоцитов, поскольку в работе [14] показано, что изменение бокового светорассеивания эритроцитов зависит, в основном, от количества патологически (эхиноцитоз) измененных эритроцитов.

Модель с применением перекиси водорода в качестве контроля мы считаем вполне адекватной, поскольку и при гипероксии, и при применении ${\rm H_2O_2}$, мы получаем наиболее реакционное соединение — гидроксид-радикал ${\rm OH}^*$, имеющий больший окислительный потенциал, чем анион-радикал.

Таким образом, в группе 1, где оперативное вмешательство сопровождалось гипероксией, наблюдались

Литература

- Суборов Е.В., Кузьков В.В., Сметкин А.А., Саскин В.А., Мальшкин Е.А. Применение капнографии на фоне различных режимов ИВЛ при эндоскопической холецистэктомии. Анестезиология и реаниматология. 2007. 3: 38—40.
- Волчков В.А., Иванов А.Т., Мосин И.В., Герасин В.А., Титова О.Н., Ли В.Ф., Горохов А.А., Шевчуков С.В. Струйная чрескатетерная искусственная вентиляция легких при хирургическом лечении рубцовых стенозов трахеи. Анестезиология и реаниматология. 2007; 3: 45—48.
- Петрищев Ю.И., Левит А.Л. Выбор температурного режима искусственного кровообращения при протезировании аортального клапана. Анестезиология и реаниматология. 2007; 3: 36—38.
- Abou-Elenain K. Study of the systemic and pulmonary oxidative stress status during exposure to propofol and sevoflurane anaesthesia during thoracic surgery. Eur. J. Anaesthesiol. 2010; 27 (6): 566–571.
- Caldwell P.R., Lee W.L., Schildkraut H.S., Archibald E.R. Changes in lung volume, diffusing capacity, and blood gases in men breathing oxygen. J. Appl. Physiol. 1966; 21 (5): 1477–1483.
- Dolezal V. The effect of long lasting oxygen inhalation upon respiratory parameters in man. Physiol. Bohemoslov. 1962; 11: 149–158.
- 7. Lodato R.F. Oxygen toxicity. Crit. Care Clin. 1990; 6 (3): 749-765.
- D'Agostino D.P., Olson J.E., Dean J.B. Acute hyperoxia increases lipid peroxidation and induces plasma membrane blebbing in human U87 glioblastoma cells. Neuroscience. 2009; 159 (3): 1011–1022.
- Jackson R.M. Oxygen therapy and toxicity. In: Ayres S.M., Grenvik A. (eds.). Textbook of Critical Care. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders; 1995: 784-789.
- Folz R.J. Oxygen toxicity. In: Crystal R.G., West J.B., Weibel E.R., Barnes P.J. (eds.). The Lung. Scientific Foundations. 2nd ed. Philadelphia: Lippincott-Raven; 1997: 2713—2722.
- Алексеева П.Ю., Мороз В.В., Васильев В.Ю., Казиев Г.Р., Козлова Е.К., Черныш А.М., Богушевич М.С., Козлов А.П., Близнюк У.А. Воздействие анестезиологических препаратов на мембрану эритроцитов. Общая реаниматология. 2007; 3 (5): 134—138.
- Мороз В.В., Новодержкина И.С., Кирсанова А.К., Черныш А.М., Козлова Е.К., Александрин В.В., Близнюк У.А., Борщеговская П.Ю. Изменения ультраструктуры поверхности мембран эритроцитов после кровопотери и их коррекция лазерным облучением. Общая реаниматология. 2010; 6 (2): 5—9.
- Мороз В.В., Новодержкина И.С., Кирсанова А.К., Черныш А.М., Козлова Е.К., Гудкова О.Е., Сергунова В.А., Федорова М.С. Нарушения наноструктуры мембран эритроцитов при острой кровопотере и их коррекция перфторуглеродной эмульсией. Общая реаниматология. 2011; 7 (2): 5—9.
- Bukowska B., Zatorska A. The prehemolitycal changesin human erythrocytes treated with 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D). Cur. Top. Biophys. 2003; 27: 11–15.

References

 Suborov E.V., Kuzkov V.V., Smetkin A.A., Saskin V.A., Malyshkin E.A. Primenenie kapnografii na fone razlichnykh rezhimov IVL pri endoskopicheskoi kholetsistektomii. [Use of capnography during difсхожие с группой контроля изменения морфодифрактометрических характеристик эритроцитов: статистически достоверная тенденция к макроцитозу, снижение анизоцитоза и изменение бокового светорассеивания.

Выводы

- 1. Использование гипероксии во время ингаляционной анестезии севофлураном приводит не только к изменению газового и кислотно-основного состояния венозной крови, но и к изменению структурно-функциональных свойств эритроцитов.
- 2. Сходство в реакции эритроцитов на гипероксию *in vivo* при проведении ингаляционной анестезии севофлураном и на H_2O_2 *in vitro* позволяет высказать предположение о преимущественном влиянии на красные кровяные тельца кислорода и его реакционных производных.
 - ferent ventilation modes at endoscopic cholescystectomy]. Anesteziologiya i Reanimatologiya. 2007; 3: 38—40. [In Russ.]
- Volchkov V.A., Ivanov A.T., Mosin I.V., Gerasin V.A., Titova O.N., Li V.F., Gorokhov A.A., Shevchukov S.V. Struinaya chreskateternaya iskustvennaya ventilyatsiya legkikh pri khirurgicheskom lechenii rubtsovykh stenozov trakhei. [Jet transcatheter artificial ventilation in the surgical treatment of tracheal scarring stenoses]. Anesteziologiya i Reanimatologiya. 2007; 3: 45–48. [In Russ.]
- Petrishchev Yu.I., Levit A.L. Vybor temperaturnogo rezhima iskustvennogo krovoobrashcheniya pri protezirovanii aortalnogo klapana. [Choice of a temperature extracorporeal circulation regimen during prosthetic aortic valve replacement]. Anesteziologiya i Reanimatologiya. 2007; 3: 36–38. [In Russ.]
- Abou-Elenain K. Study of the systemic and pulmonary oxidative stress status during exposure to propofol and sevoflurane anaesthesia during thoracic surgery. Eur. J. Anaesthesiol. 2010; 27 (6): 566–571.
- Caldwell P.R., Lee W.L., Schildkraut H.S., Archibald E.R. Changes in lung volume, diffusing capacity, and blood gases in men breathing oxygen. J. Appl. Physiol. 1966; 21 (5): 1477–1483.
- Dolezal V. The effect of long lasting oxygen inhalation upon respiratory parameters in man. Physiol. Bohemoslov. 1962; 11: 149–158.
- 7. Lodato R.F. Oxygen toxicity. Crit. Care Clin. 1990; 6 (3): 749-765.
- D'Agostino D.P., Olson J.E., Dean J.B. Acute hyperoxia increases lipid peroxidation and induces plasma membrane blebbing in human U87 glioblastoma cells. Neuroscience. 2009; 159 (3): 1011–1022.
- Jackson R.M. Oxygen therapy and toxicity. In: Ayres S.M., Grenvik A. (eds.). Textbook of Critical Care. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders; 1995; 784-789.
- Folz R.J. Oxygen toxicity. In: Crystal R.G., West J.B., Weibel E.R., Barnes P.J. (eds.). The Lung. Scientific Foundations. 2nd ed. Philadelphia: Lippincott-Raven; 1997: 2713—2722.
- Alekseyeva P.Yu., Moroz V.V., Vasilyev V.Yu., Kaziyev G.R., Kozlova E.K., Chernysh A.M., Bogushevich M.S., Kozlov A.P., Bliznyuk U.A. Vozdeistvie anesteziologicheskikh preparatov na membranu eritrotsitov. [Effect of anesthetics on red blood cell membranes]. Obshchaya Reanimatologiya. 2007; 3 (5): 134–138. [In Russ.]
- Moroz V.V., Novoderzhkina I.S., Kirsanova A.K., Chernysh A.M., Kozlova E.K., Aleksandrin V.V., Bliznyuk U.A., Borshchegovskaya P.Yu. Izmeneniya ultrastruktury poverkhnosti membran eritrotsitov posle krovopoteri i ikh korrektsiya lazernym oblucheniem. [Changes in the surface of red blood cell membranes after blood loss and their correction with laser irradiation]. Obshchaya Reanimatologiya. 2010; 6 (2): 5–9. [In Russ.]
- Moroz V.V., Novoderzhkina I.S., Kirsanova A.K., Chernysh A.M., Kozlova E.K., Gudkova O.E., Sergunova V.A., Fedorova M.S. Narusheniya nanostruktury membran eritrotsitov pri ostroi krovopotere i ikh korrektsiya perftoruglerodnoi emulsiei. [Impairments in the nanostructure of red blood cell membranes in acute blood loss and their correction with perfluorocarbon emulsion]. Obshchaya Reanimatologiya. 2011; 7 (2): 5—9. [In Russ.]
- Bukowska B., Zatorska A. The prehemolitycal changesin human erythrocytes treated with 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D). Cur. Top. Biophys. 2003; 27: 11–15.

Поступила 14.11.12