

Байбеков И.М.¹, Пулатов Д.²

Оценка эффективности лазерного облучения крови при язвенных кровотечениях с помощью экспресс-метода «толстой капли»

Baibekov I.M., Pulatov D.

Assessment of the efficacy of laser irradiation of blood in peptic ulcer bleedings with express-method of «thick drop»

¹ Республиканский специализированный центр хирургии им акад. В. Вахидова,² Республиканский научный центр экстренной медицинской помощи, МЗ Республики Узбекистан, г. Ташкент

Проведена оценка эффективности внутрисосудистого лазерного облучения крови – ВЛОК у пациентов дуоденальными кровотечениями с использованием экспресс метода тонкой капли – ЭМТК и сканирующей электронной микроскопии – СЭМ. Установлено, что при кровотечениях имеются выраженные сдвиги в соотношении дискоцитов – Д (нормальных эритроцитов) и их патологических форм – ПФЭ в сторону возрастания доли последних. ВЛОК приводит к нормализации соотношения Д/ПФЭ. СЭМ и ЭМТК сопоставимы. Показана простота, доступность и объективность ЭМТК. *Ключевые слова:* лазерное облучение крови, язвенные кровотечения, экспресс-метод «толстой капли».

The express-method of «thick drop» (EMTD) and scanning electron microscopy (SEM) have been used for evaluating the efficacy of intravascular laser irradiation of blood (ILBI) in patients with duodenal bleedings. It has been shown that marked shifts in the ratio of discocytes – D (normal erythrocytes) and pathologic forms of erythrocytes – PFE take place in hemorrhage where the share of the last increases. ILBI leads to normalization of D/PFE ratio. Results of SEM and EMTD are comparable. EMTD has been demonstrated to be simple in application as well as to be available and objective method. *Key words:* laser irradiation, ulcer bleeding, express-method «thick drop».

Общепризнанно, что метод внутривенного лазерного облучения крови (ВЛОК), который первоначально разрабатывался для лечения сердечно-сосудистых заболеваний, впервые применили ученые России [10, 17].

Долгое время для ВЛОК использовали гелий-неоновые лазеры, которые были довольно громоздки и не вполне удобны в эксплуатации, и стекловолоконные световоды, отличающиеся хрупкостью и возможностью травмирования стенок сосудов. Другим их недостатком была проблема стерилизации. Невозможность полноценной стерилизации делало процедуру ВЛОК небезопасной в связи с многократностью использования световодов [1].

Создание специальных аппаратов, предназначенных для ВЛОК, и одноразовых световодов с тефлоновым покрытием сделали процедуру ВЛОК абсолютно безопасной, доступной и более эффективной [5–7].

Любой патологический процесс приводит к нарушению соотношения дискоцитов (Д) – нормальных эритроцитов, имеющих форму двояковогнутого диска, и их патологических форм (ПФЭ). Среди ПФЭ, которые встречаются и в норме, различают: эритроциты с гребнем, стоматоциты (от стома – рот), эхиноциты – эритроциты с тем или иным числом отростков [4, 5, 11].

ВЛОК, в первую очередь, воздействуя на эритроциты, их мембрану, нормализует соотношение Д/ПФЭ.

Особенно резко соотношение Д/ПФЭ изменяется при кровопотерях, к которым, в первую очередь, относятся язвенные кровотечения – наиболее грозные осложнения язвенной болезни [2, 3, 8, 9, 12–16].

Сдвиги в соотношении Д/ПФЭ в сторону существенного возрастания ПФЭ являются важнейшей морфологической основой нарушений микроциркуляции, приводящих к патологическим изменениям органов [4,5].

В системе профилактики этих нарушений восстановлению соотношения Д/ПФЭ должно уделяться первоочередное внимание.

Сканирующая электронная микроскопия – СЭМ, являясь наиболее объективным методом оценки формы эритроцитов, требует помимо дорогостоящего оборудования специально подготовленные кадры, значительные материальные затраты и длительное время (до 3 суток) для получения конечных результатов.

В лаборатории патологической анатомии РСЦХ им. акад. Вахидова Республики Узбекистан разработана методика изучения дискретных структур – экспресс-методика «толстой капли» (ЭМТК) для практических и научных целей. Данная методика запатентована в Патентном ведомстве Республики Узбекистан «Способ определения форм эритроцитов» № МКИ 6 А 61 В 10/00, а также запатентована программа «Экспресс-диагностика форм эритроцитов» № ED-5-05.

ЭМТК позволяет сохранить естественное состояние эритроцита и оценить соотношение Д/ПФЭ в течение 10–15 мин. На основании этого возможен мониторинг состояния эритроцитов при различных патологических состояниях и оценка эффективности проводимых мероприятий.

Однако ЭМТК для оценки состояния эритроцитов у пациентов с язвенным кровотечением и, особенно, при использовании ВЛОК не применялась, не проводилось и сравнительной оценки ЭМТК и СЭМ.

Это определило **цель исследования:** дать сравнительную характеристику СЭМ и ЭМТК для оценки соотношения Д/ПФЭ у пациентов с гстродуоденальными кровотечениями и изучить эффективность проведения сеансов ВЛОК с целью восстановления соотношения форм эритроцитов.

Материал и методики исследования

Нами проанализировано 62 случая кровотечений из хронических язв двенадцатиперстной кишки (ЯД) и 33 – из хронических язв желудка (ЯЖ). Как правило, пациентам проводили общепринятую противогеморрагическую медикаментозную терапию и ушивание язвы. Контролем служила кровь 12 здоровых добровольцев.

Курсы ВЛОК проведены у 25 пациентов с ЯД и у 18 пациентов с ЯЖ. Для процедуры ВЛОК применяли аппарат «Матрикс-ВЛОК» с головкой КЛ-ВЛОК (выходная мощность – 1,5 Мвт, длина волны – 0,63 мкм, экспозиция – 20 мин). Внутривенное облучение проводили ежедневно с использованием специальных световодов и игл с тефлоновым покрытием КИВЛ-01.

Для оценки тяжести кровопотери использовали субъективные данные после осмотра пациента и сбора анамнеза, получения результатов клинического анализа крови и объективные данные после получения результатов лабораторных исследований. Оценка степени тяжести кровопотери осуществляли по классификации А.И. Горбашко [8, 9]. Результаты оценки степени кровопотери представлены в табл. 1.

Доминирующими формами кровотечения по классификации Forrest [15] были F II B – фиксированный тромб или сверток крови (24 случая ЯД и 15 – ЯЖ) и F I B – венозное, вялое, паренхиматозное кровотечение (13 случаев ДЯ и 11 – ЯЖ).

Для оценки процентного соотношения Д/ПФЭ используется 2 капли крови после прокола скарификатором подушечки безымянного пальца. Кровь фиксировали в 1 мл 2,5% раствора глутарового альдегида на фосфатном буфере. Затем на предметное стекло помещали каплю фиксированной крови. На полученную суспензию горизонтально опускали покровное стекло, под которым образуется слой «толстая капля», пригодный для исследования с помощью световой микроскопии.

Таблица 1
Степень тяжести кровопотери по субъективным и объективным данным (по Горбашко)

	Всего	Мужчины	Женщины
Легкая	ЯД-49 ЯЖ-20	ЯД-42 ЯЖ-21	ЯД-7 ЯЖ-3
Средняя	ЯД-5 ЯЖ-4	ЯД-4 ЯЖ-3	ЯД-1 ЯЖ-2
Тяжелая	ЯД-8 ЯЖ-9	ЯД-7 ЯЖ-3	ЯД-1 ЯЖ-1
Всего	ЯД-62 ЯЖ-33	ЯД-53 ЯЖ-27	ЯД-9 ЯЖ-6

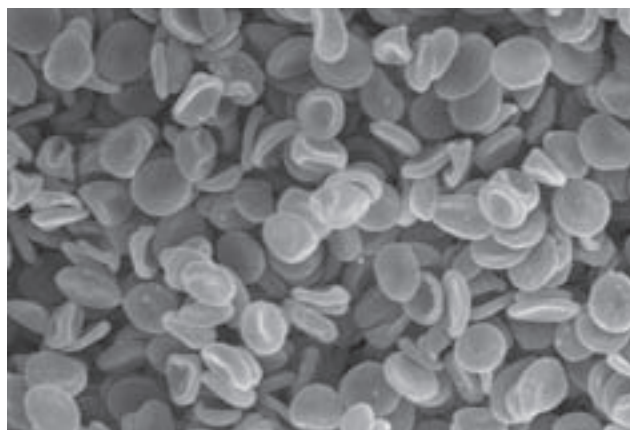


Рис. 1. Доминирование ПФЭ (эритроциты с гребнем) в крови до лечения. СЭМ ×4000

Подсчет соотношения форм эритроцитов проводили при увеличении 10×40 при выборке не менее 1000 эритроцитов на каждый этап и срок исследования, с использованием микроскопов Биолам-И2 или Axioscop 40-ZEISS. Светооптические микрофотографии получали на микроскопе Axioscop 40-ZEISS, сопряженном с цифровой камерой и компьютером, с дальнейшим сохранением данных на компьютере Pentium IV с помощью прикладных программ. Статистическую обработку данных проводили на компьютере Pentium IV с помощью программы BS-Statistica, «Exel Office» Microsoft «Windows-Professional».

Для СЭМ эритроциты после фиксации в 2,5% растворе глутарового альдегида с дофиксацией в 1% растворе четырехоксида осмия на фосфатном буфере обезвоживали в спирте-ацетоне и высушивали методом критической точки в аппарате НСР-2, напыляли золотом в аппарате ИВ-2. Препараты изучали с помощью электронных микроскопов JEOL JSM-6010LV и Hitachi-S405 с фотографированием с экрана монитора последнего с помощью цифровой камеры Canon. Кровь исследовали до начала курса ВЛОК и после 1, 3 и 5 сеансов.

Результаты

Исследования крови с помощью СЭМ показали, что при кровотечениях до лечения отмечаются существенные сдвиги в соотношение Д и ПФЭ – Д/ПФЭ. При этом в крови доминируют эритроциты с гребнем (рис. 1), а также эритроциты необратимых форм. Уже после 1-го сеанса ВЛОК отмечается выраженная тенденция снижения доли ПФЭ (рис. 2). После 3-го сеанса в крови доминируют дискоциты. Через 5 сеансов ВЛОК картина крови показала «нормализацию» соотношения Д/ПФЭ (рис. 3, 4).

Изучение крови с помощью ЭМТК и морфометрия при ЯД и ЯЖ, осложненных кровотечениями, показало, что доля ПФЭ существенно возрастает в периферической крови, полученной из пальца. Так, доля эхиноцитов увеличивается на 1/3, особенно резко возрастает доля эритроцитов с гребнем (табл. 2, рис. 5).

Изучение эритроцитов периферической крови, полученной из пальца у пациентов после проведенного комплексного хирургического лечения, показало, что имеет место нормализация соотношения Д/ПФЭ уже через 3 суток после операции (табл. 2).

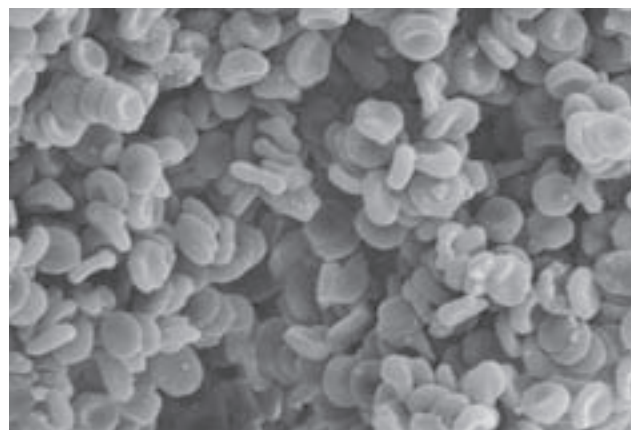


Рис. 2. Снижение доли ПФЭ. 1 сеанс ВЛОК СЭМ ×4000

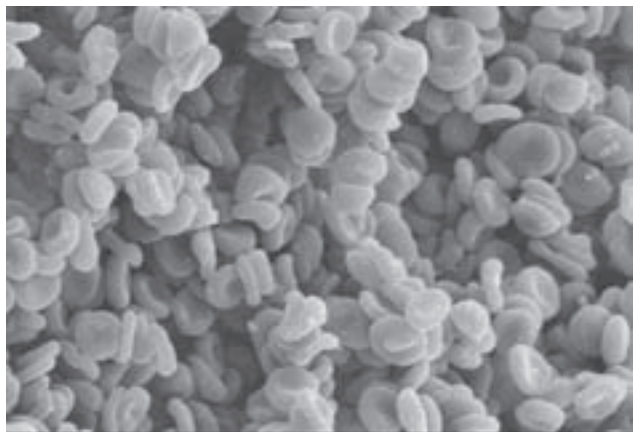


Рис. 3. Доминирование дискоцитов. 3 сеанса ВЛОК СЭМ ×4000

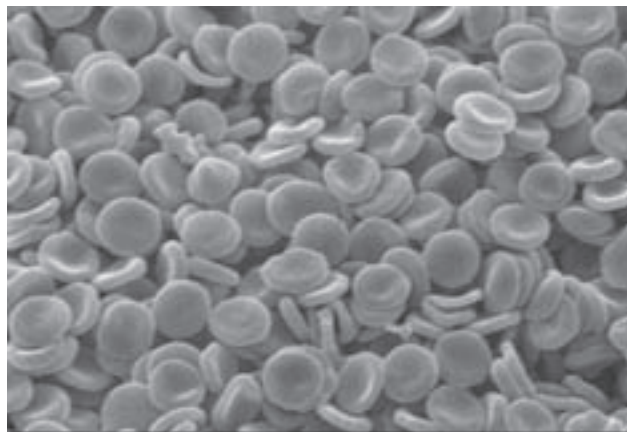


Рис. 4. Нормализация соотношения Д/ПФЭ. 5 сеансов ВЛОК СЭМ ×4000

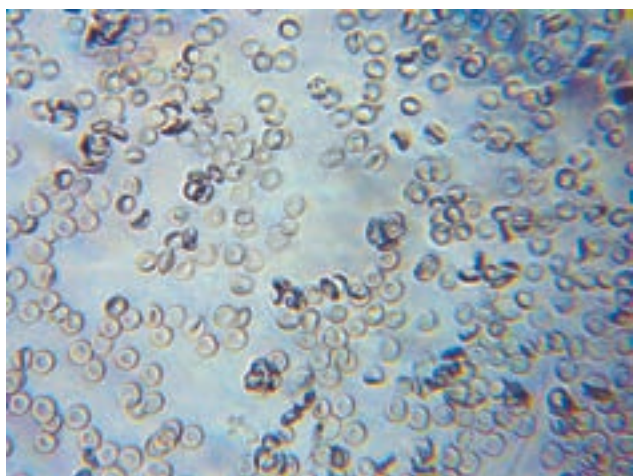


Рис. 5. Доминирование ПФЭ (эритроциты с гребнем), многочисленные микротромбы. Кровотечение до лечения. ЭМТК 10×40

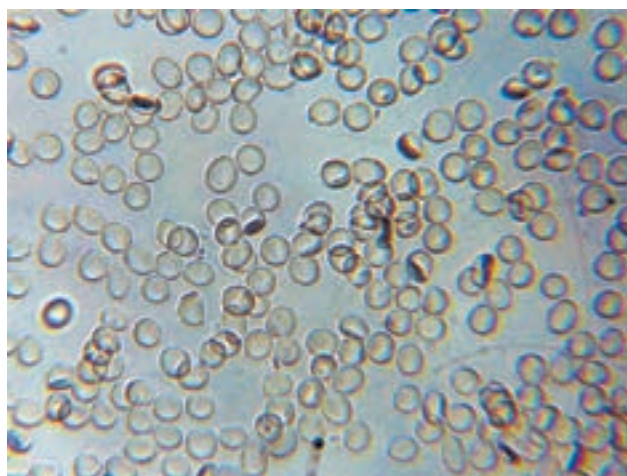


Рис. 6. Снижение доли ПФЭ в крови 1сеанс ВЛОК. ЭМТК 10×40

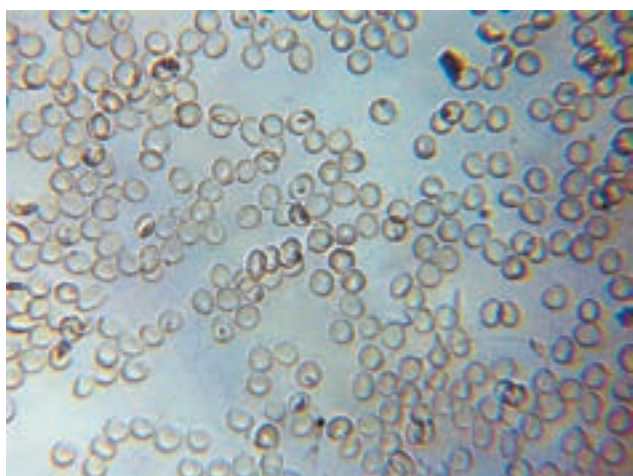


Рис. 7. Доминирование дискоцитов. 3 сеанса ВЛОК ЭМТК 10×40

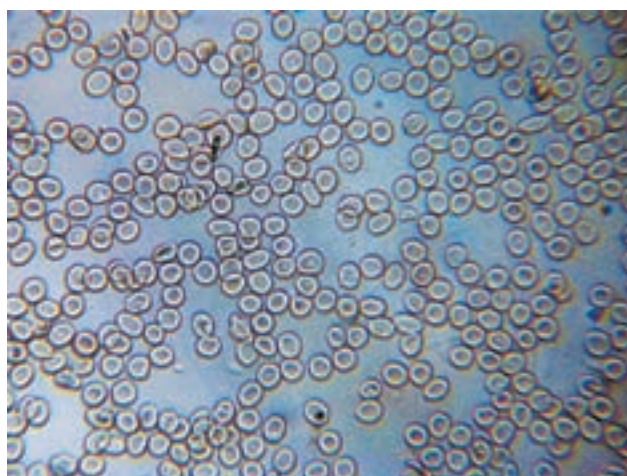


Рис. 8. Нормализация соотношения Д/ПФЭ. 5 сеансов ВЛОК ЭМТК 10×40

Через 5 суток после операции и проведенного лечения (перед выпиской) соотношении Д/ПФЭ становится ближе к показателям нормы (табл. 2).

Использование в комплексном лечении последствий дуоденальных кровотечений сеансов ВЛОК оказывает выраженный позитивный эффект на соотношение Д/ПФЭ.

Уже однократное ВЛОК приводит к выраженному возрастанию дискоцитов и трехкратному снижению доли эритроцитов с гребнем (табл. 2, рис. 3).

После курса ВЛОК (5 сеансов) соотношение Д/ПФЭ приближается к показателям нормы (табл. 2, рис. 4).

Таблица 2

Соотношение форм эритроцитов у пациентов с кровоточащими язвами двенадцатиперстной кишки (ЯД) или желудка (ЯЖ) (в %) и при их лечении с использованием сеансов ВЛОК

Форма эритроцитов	Гр. 1 Норма Кровь из пальца	Гр. 2 Кровь из пальца до операции	Гр. 3 Кровь из пальца после операции 3 с	Гр. 4 Кровь из пальца после операции перед выпиской	Гр. 5 Кровь из пальца 1 сеанс ВЛОК	Гр. 6 Кровь из пальца 5 сеансов ВЛОК
Дискоциты	89 ± 0,5	ЯД-58 ± 1%* ЯЖ-59 ± 1*	ЯД-66 ± 1** ЯЖ-65	ЯД-78 ± 1** ЯЖ 77	ЯД-76 ± 2,0%** ЯЖ-75 ± 1**	ЯД-85 ± 1** ЯЖ-84 ± 1
Эхиноциты	9 ± 0,3	ЯД-12 ± 1 ЯЖ 11 ± 1%	ЯД-10 ± 0,5 ЯЖ-11 ± 1	ЯД-8 ± 0,1** ЯЖ-8 ± 1	ЯД-10 ± 1,4 ** ЯЖ-11 ± 1	ЯД-9 ± 0,5** ЯЖ-8 ± 0,1
Стоматоциты	1 ± 0,05	ЯД 10,0 ± 0,4* ЯЖ-9 ± 1*	ЯД-8 ± 0,02 ЯЖ-7 ± 1	ЯД-6 ± 0,1 ЯЖ 5 ± 0,4**	ЯД-6 ± 0,6** ЯЖ-5 ± 0,4**	ЯД-3 ± 0,02** ЯЖ-4 ± 0,02**
Эр. с гребнем	0,5 ± 0,02	ЯД-18 ± 0,02* ЯЖ-19 ± 0,5*	ЯД-14 ± 0,1 ЯЖ-15 ± 1**	ЯД-6 ± 0,1** ЯЖ-8 ± 0,5**	ЯД-6 ± 0,1** ЯЖ-7 ± 0,1**	ЯД-3 ± 0,1 ЯЖ-3 ± 0,3
Необратимые формы	0,5 ± 0,05	2 ± 0,1*	2 ± 0,1	2 ± 0,1	2 ± 0,1%*	1 ± 0,1

Примечание. * – Достоверно по отношению к контролю (норма); ** – достоверно по отношению к 2 гр. (p < 0,05).

Заключение

Сеансы ВЛОК более четверти века используют для облучения крови при различных патологических процессах, влияющих на форму эритроцитов. [1, 4–7].

ПФЭ в определенной пропорции встречаются и в норме, составляя 10–11% всех эритроцитов. При различных патологических процессах пропорция Д/ПФЭ возрастает в сторону увеличения доли ПФЭ [4,5]. Наши исследования показали, что при язвенных кровотечениях в периферической крови резко возрастает доля ПФЭ и нарушается соотношение Д/ПФЭ. ВЛОК способствует восстановлению соотношения Д/ПФЭ в периферической крови при язвенных кровотечениях, что безусловно способствует и нормализации микроциркуляции, нарушенной из-за сдвигов в соотношении Д/ПФЭ [4, 6, 7].

Сравнение исследований с помощью СЭМ и ЭМТК для оценки формы эритроцитов и соотношения Д/ПФЭ показало их полную сопоставимость.

ВЛОК, влияя, в первую очередь, на положительные сдвиги соотношения Д/ПФЭ, требует соответствующей морфологической оценки этих сдвигов. ЭМТК, являясь во всех отношениях общедоступным способом, позволяет проводить эту оценку в течение 10–15 мин. и определять эффективность не только ВЛОК, но и любого метода лечения [4–7].

Выводы

1. При язвенных кровотечениях имеет место нарушение соотношения нормальных эритроцитов – Д и их патологических форм – ПФЭ (соотношение – Д/ПФЭ);
2. Проведение сеансов ВЛОК способствует быстрому восстановлению соотношения Д/ПФЭ;
3. Экспресс-метод толстой капли – ЭМТК является быстрым, доступным и достоверным методом оценки влияния ВЛОК на соотношение Д/ПФЭ, в том числе, при использовании в комплексном лечении язвенных кровотечений.

Литература

1. Авруцкий М.Я., Калиш Ю.И., Мадартов К.М., Мусихин Л.В. Внутрисосудистое лазерное облучение крови при анестезии и послеоперационной интенсивной терапии. Ташкент: Изд-во им. Абу Али ибн Сино, 1997. 130 с.
2. Астахов В.Л., Калинин А.В. Кровотечение из хронических гастродуоденальных язв: диагностика, тактика и хирургичес-

кое лечение // Клини. перспективы гастроэнтерол., гепатологии. 2002. № 1. С. 16–23.

3. Афендулов С.А., Журавлев Г.Ю. Хирургическое лечение больных язвенной болезнью. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. 336 с.
4. 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.
5. Байбеков И.М., Ибрагимов А.Ф., Байбек-Палмос М.И. Лазерные воздействия на кожу и эритроциты в норме и патологии. Lambert/-Saardrucken. 2014. P. 362.
6. Гейниц А.В., Москвин С.В., Азизов Г.А. Внутривенное лазерное облучение крови. М.: Триада, 2006. 144 с.
7. Гейниц А.В., Москвин С.В. Новые технологии внутривенного лазерного облучения крови: «ВЛОК+УФОК» и «ВЛОК-405». Мат. науч.-практ. конф. с межд. участием «Лазерная медицина XXI века». Москва, 2009 г. С. 71.
8. Горбашко А.И. Острые желудочно-кишечные кровотечения. Л.: Медицина, 1974. 240 с.
9. Горбашко А.И., Zubovskiy Ю.Ю., Самфелов А.А. и др. // Современные аспекты хирургического лечения язвенной болезни. Л., 1985. С. 56–58.
10. Мешалкин Е.Н., Сергиевский В.С. Применение прямого лазерного облучения в экспериментальной и клинической кардиохирургии // Научн. тр. Новосибирск: Наука, 1981. 172 с.
11. Новодержкина Ю.К., Шишканова З.Г., Козинец Г.И. Конфигурация и поверхность клеток крови в норме и патологии. М.: Триада-фарм, 2004. 152 с.
12. Хаджибаев А.М., Маликов Ю.Р., Мельник И.В. Хирургическая тактика и лечение рецидивных язвенных кровотечений. Обзор литературы // Бюлл. ассоц. врачей. Узбекистана. 2005. № 3. С. 42–45.
13. Barkun A. Nonvariceal Upper GI Bleeding Consensus Conference Group / Consensus Recommendations for Managing Patients with Nonvariceal Upper Gastrointestinal Bleeding / A. Barkun, V. Bardou, J.R. Marshall // Ann. of intern. Med. 2003. Vol. 139. Issue 10. P. 843–857.
14. De Caestecker J. Upper Gastrointestinal Bleeding: Surgical Perspective / J. De Caestecker // Medicine from WebMD, Art. Last Updated, 2006. Apr. Vol. 11. P. 45–52.
15. Forrest J.A., Finlayson N.D. Endoscopy in gastrointestinal bleeding // Lancet. 1974. v. 11. P. 394–399.
16. Kang J.Y., Elders A., Majeed A. et al. Recent trends in hospital admissions and mortality rates for peptic ulcer in Scotland 1982–2002 // Aliment. Pharmacol. Ther. 2006. Vol. 24. № 1. P. 65–79.
17. Mangold R. Combined gastric and duodenal ulceration // Brit. M. J. 1958. 2. P. 1193–1197.
18. Simunovic Z. (Ed-r) Lasers in medicine science and praxis in medicine, surgery dentistry and veterinary Trilogiy updates with emphasis on LILT- photobiostimulation-photodynamic therapy and laser acupuncture. Locarno 2009, P. 772.

Поступила в редакцию 14.08.2015 г.

Для контактов: Байбеков Искандер Мухамедович
E-mail: baibekov@mail.ru