



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

## (12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

Статус: не действует (последнее изменение статуса: 02.07.2021)  
Пошлина: Возможность восстановления: нет.

(21)(22) Заявка: [2013159149/15](#), 30.12.2013(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
30.12.2013

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 30.12.2013

(45) Опубликовано: [20.02.2015](#) Бюл. № 5

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: RU 2480757 C1, 27.04.2013. RU 2179315 C1, 10.02.2002. WO 2011006169 A1, 13.01.2011. И.И. ДЕМЕНТЬЕВ и др. Стандартизация оценки интраоперационного гемолиза при кардиохирургических операциях в условиях искусственного кровообращения // Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия, 2010, N4, с.75-78. БЕРСЕНЕВА Е.А. и др. Прогнозирование течения

послеоперационного периода при операциях аортокоронарного шунтирования на основании лабораторных данных. - Клиническая лабораторная диагностика N2, 2004, с.15-19

Адрес для переписки:

634050, г.Томск, Московский тракт, 2, ГБОУ ВПО СибГМУ, Отдел ИС и В, Зубаревой Н.Г.

(72) Автор(ы):

Чумакова Светлана Петровна (RU),  
Уразова Ольга Ивановна (RU),  
Шипулин Владимир Митрофанович (RU),  
Новицкий Вячеслав Викторович (RU),  
Петрова Ирина Викторовна (RU),  
Колобовникова Юлия Владимировна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Сибирский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации (ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России) (RU),  
Федеральное государственное бюджетное учреждение "Научно-исследовательский институт кардиологии" Сибирского отделения Российской академии медицинских наук (ФГБУ "НИИ кардиологии" СО РАМН) (RU)

## (54) СПОСОБ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ СТЕПЕНИ РИСКА РАЗВИТИЯ ГЕМОЛИТИЧЕСКИХ ОСЛОЖНЕНИЙ ПОСЛЕ ОПЕРАЦИИ КОРОНАРНОГО ШУНТИРОВАНИЯ В УСЛОВИЯХ ИСКУССТВЕННОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине, а именно к кардиохирургии, и может быть использовано для прогнозирования степени риска развития гемолитических осложнений после операции коронарного шунтирования в условиях искусственного кровообращения. Для этого оценивают содержание гемопозитинов в крови до операции, для чего определяют амплитуду, время ее развития и скорость восстановления мембранного потенциала при  $Ca^{2+}$ -индуцированном гиперполяризационном ответе эритроцитов (ГПО), концентрацию эритропозтина (ЕРО) и фактора некроза опухолей- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) в крови. В случае принадлежности их соответствующим доверительным интервалам рассчитывают концентрацию свободного гемоглобина в крови после операции Y по формуле. И при Y, превышающем 40 мг/дл, прогнозируют высокую степень риска развития гемолитических осложнений в послеоперационном периоде. Изобретение обеспечивает возможность количественной оценки прогнозирования степени выраженности гемолиза у пациента после операции. 4 табл., 2 пр.

Изобретение относится к области медицины, кардиохирургии, перфузиологии, кардиологии, реаниматологии и может быть использовано для дооперационного прогнозирования степени риска развития гемолитических осложнений после операции коронарного шунтирования в условиях искусственного кровообращения.

Несмотря на полувекую историю развития кардиохирургии, до сих пор проблема внутрисосудистого гемолиза в условиях искусственного кровообращения остается актуальной. Важно отметить, что на сегодняшний день применение наименее травматичных и максимально биосовместимых перфузиологических модулей все-таки не позволяет полностью исключить прогрессивный рост гемоглобинемии при операции на остановленном сердце. При этом степень выраженности этой патофизиологической реакции варьирует даже при использовании идентичного перфузионного оборудования, что свидетельствует о важной роли исходных

структурно-метаболических свойств эритроцитов в процессах их деструкции во время экстракорпоральной перфузии, сопряженной с нефизиологической сдвиговой деформацией, комплемент-зависимым лизисом, гипероксией и гипотермией. Учитывая, что массивный внутрисосудистый гемолиз может индуцировать дисфункцию различных органов (в первую очередь почек) и развитие полиорганной недостаточности в раннем послеоперационном периоде, то дооперационное прогнозирование уровня постперфузионной гемоглобинемии на основе оценки свойств клеток красной крови представляется крайне важным, так как позволяет осуществлять первичную профилактику гемолитических расстройств.

Известен способ дооперационного прогнозирования степени выраженности интраоперационного гемолиза у кардиохирургических больных на основе анализа условий проведения предстоящей операции. Учитывают тип применяемого оборудования, предполагаемую длительность ИК и температуру перфузии, интенсивность работы коронарного отсоса (зависит от особенностей оперативного доступа), возможность трансфузии препаратов крови. Чем ниже температура перфузии и больше ее длительность, тем выраженность гемолиза выше; применение оксигенаторов «D-902» и «Gish Vision» формирует наиболее значимый прирост свободного гемоглобина, использование препаратов донорской крови существенно не влияет на выраженность гемолиза [1]. Кроме того, применение центрифужных и роликовых насосов с неполной окклюзией более предпочтительно, чем роликовых насосов с полной окклюзией; меньший гемолитический эффект оказывают силикон и стекло, чем поливинилхлорид и тефлон; использование магистралей с биосовместимым покрытием имеет некоторые преимущества перед непокрытыми системами [2]. Главным недостатком подобного подхода является то, что трудно предугадать конечный уровень гемоглобинемии, так как определить вклад всех условий ИК сложно, но самое главное - способ совершенно не учитывает индивидуальные характеристики пациента и свойства эритроцитов, подвергающихся деструкции в экстракорпоральном контуре.

Известен способ прогнозирования степени гемолиза у пациентов любых категорий путем оценки устойчивости эритроцитов к действию сдвиговой деформации *in vitro*, при этом различные модификации способа отличаются методикой регистрации выраженности деструктивных процессов. Один из них основан на определении деформируемости клеток после циркуляции суспензии эритроцитов в замкнутом контуре - чем больше снижение их деформируемости, тем более выраженный гемолиз ожидается у пациента [3]. Другой способ осуществляется по убыли количества эритроцитов после механического воздействия или по изменению соотношения внутри- и внеклеточного гемоглобина после него - чем меньше клеток остается после воздействия стимула или чем больше прирост внеклеточного гемоглобина после него, тем выраженность ожидаемого гемолиза *in vivo* выше [4]. Между тем, недостатком методов является то, что выраженность гемолиза прогнозируется на основе оценки устойчивости эритроцитов только к механическому фактору, в то время как клетки в экстракорпоральном контуре подвергаются влиянию нескольких стимулов (как описано выше).

Известен способ оценки функционального состояния организма у пациентов любых категорий путем измерения *in vitro* гемолитической стойкости эритроцитов к действию соляной кислоты, что отражает состояние липидной фазы эритроцитарной мембраны (проницаемость и химический состав). Благодаря анализатору стойкости эритроцитов определяются параметры кислотного лизиса клеток и с помощью уникального программного обеспечения они пересчитываются в гематологические показатели, характеристики кроветворения, активности симпатoadреналовой системы, концентрации в плазме крови тиреотропного гормона и гормонов щитовидной железы, которые автоматически сравниваются со стандартными показателями здорового человека, после чего система выдает заключение о функциональном состоянии организма [5]. Недостатком этого способа является сомнительная экстраполяция его результатов на процесс гемолиза во время ИК, так как *in vivo* эритроциты не подвергаются действию столь низких значений pH, а комплексный анализ гормонального фона, скорее, дает представление о реактивности организма в целом, а не о резистентности эритроцитов к прямому цитодеструктивному влиянию аппарата ИК.

Известен способ прогнозирования постперфузионного гемолиза у кардиохирургических больных с дефицитом внутриэритроцитарного фермента глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы: чем больше недостаточность фермента, тем уровень гемоглобинемии после операции с ИК выше [6]. Недостатком метода является его ограниченное применение лишь у пациентов с наследственно обусловленным дефицитом этого фермента (форма гемолитической анемии), в то время как у пациентов, не страдающих гематологической патологией, роль этого данного свойства клеток в механизмах реализации постперфузионного гемолиза не изучена.

Таким образом, все вышеизложенные методы прогнозирования гемолиза, основанные на оценке структурно-метаболических свойств эритроцитов до операции, используют только одну из множества характеристик клетки (механическую или кислотную резистентность, или активность фермента) и не были апробированы у больных ишемической болезнью сердца (ИБС) при операции коронарного шунтирования. Между тем, характер патологии определяет особенности нарушения морфофункциональных и метаболических свойств эритроцитов, которые в комплексе детерминируют устойчивость клеток к целому ряду гемолиз-индуцирующих факторов ИК.

Наиболее близким способом прогнозирования гемолитических осложнений путем оценки степени выраженности гемолиза у больных ИБС после операции с ИК является способ, заключающийся в сочетанной оценке механической, кислотной, осмотической резистентности эритроцитов и проницаемости их мембраны до операции. Показано, что гемолитические осложнения, такие как выраженный постперфузионный гемолиз (более 40 мг/дл), развиваются у больных ИБС с высокой проницаемостью мембраны эритроцитов, пониженной кислотной и механической резистентностью клеток и нормальной величиной минимальной их осмотической резистентности до операции; умеренный гемолиз (менее 40 мг/дл) - у больных ИБС с нормальной проницаемостью мембраны эритроцитов, нормальной кислотной, механической резистентностью клеток и высоким значением минимальной осмотической резистентности эритроцитов до операции [7]. Тем не менее, выявленные особенности дооперационных свойств эритроцитов носят лишь характер ассоциаций, при этом в работе не установлены доверительные интервалы для изучаемых параметров в сравниваемых группах пациентов и показатели не интегрированы в математическую закономерность, используя которую можно было бы до операции предсказать точную концентрацию свободного гемоглобина в плазме крови после хирургического вмешательства.

Новая техническая задача - повышение точности и информативности способа, при котором возможна количественная оценка прогнозирования степени выраженности гемолиза после операции с ИК, основанная на комплексном статистическом анализе множества показателей периферического звена эритроцитоза до операции.

Для решения поставленной задачи в способе прогнозирования степени риска развития гемолитических осложнений после операции коронарного шунтирования в условиях искусственного кровообращения путем оценки состояния периферического звена эритроцитоза до операции оценивают содержание гемопозитинов в крови до операции, для чего определяют амплитуду, время ее развития и скорость восстановления мембранного потенциала при  $\text{Ca}^{2+}$ -индуцированном гиперполяризационном ответе эритроцитов (ГПО), концентрацию эритропозитина (ЕРО) и фактора некроза опухолей- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) в крови, и в случае принадлежности их соответствующим доверительным интервалам: амплитуды от 0,11 до 1,01 мВ; время ее развития от 26,16 до 60,12 с, ГПО от 0,49 до 0,91 мкВн/(минхл клеток); ЕРО от 2,94 до 20,14 мМЕ/мл и TNF- $\alpha$  от 0,21 до 6,8 пг/мл, соответственно, рассчитывают концентрацию свободного гемоглобина в крови после операции  $Y$  по формуле:

$$Y=139,60-1,43 \cdot X_{\text{ЕРО}}-0,44 \cdot X_{\text{TNF}}-29,20 \cdot X_{\Delta E}-38,64 \cdot X_{V2}-0,90 \cdot X_{\Delta T},$$

где 139,60 - константа для больных ИБС с риском развития выраженной гемоглобинемии;

1,43; 0,44; 29,20; 38,64 и 0,90 - численные значения являются коэффициентами;

$X_{\text{ЕРО}}$  - концентрация ЕРО в плазме крови (мМЕ/мл);

$X_{\text{TNF}}$  - концентрация TNF- $\alpha$  в плазме крови (пг/мл);

$X_{\Delta E}$  - амплитуда  $\text{Ca}^{2+}$ -индуцированного ГПО эритроцитов (мВ);

$X_{V2}$  - скорость восстановления мембранного потенциала при  $\text{Ca}^{2+}$ -индуцированном ГПО эритроцитов (мкВн/(минхл клеток));

$X_{\Delta T}$  - время развития максимальной величины (амплитуды) мембранного потенциала при  $\text{Ca}^{2+}$ -индуцированном ГПО эритроцитов (секунды).

и при  $Y$ , превышающем 40 мг/дл, прогнозируют высокую степень риска развития гемолитических осложнений в послеоперационном периоде.

Степень тяжести гемолитических осложнений прямо пропорциональна значению  $Y$ . Рассчитанная величина  $Y$  представляет собой концентрацию свободного гемоглобина в крови после операции, выраженную в мг/дл, и тесно коррелирует с реально наблюдаемым уровнем гемоглобинемии после операции (коэффициент корреляции 0,98;  $p < 0,01$ ). Данная формула достаточно хорошо отражает взаимосвязь между факторами и объясняет 96% вариации результативного признака вариацией факторных переменных.

Принимая во внимание тот факт, что для использования уравнения регрессии необходимо выполнение требования о соответствии характера распределения факторных переменных нормальному закону, то применение разработанной формулы возможно лишь в том случае, если факторные переменные варьируют в пределах

доверительных интервалов (при уровне статистической значимости  $p < 0,05$ ), установленных по обучающей выборке:

- для концентрации ЕРО в крови (2,94; 20,14) мМЕ/мл;
- для концентрации TNF- $\alpha$  в крови (0,21; 6,8) пг/мл;
- для амплитуды Ca<sup>2+</sup>-индуцированного ГПО эритроцитов ( $\Delta E$ ) (0,11; 1,01) мВ;
- для скорости восстановления мембранного потенциала ( $V_2$ ) при Ca<sup>2+</sup>-

индуцированном ГПО эритроцитов (0,49; 0,91) мкВН<sup>+</sup>/(мин·кл клеток);

- для времени развития максимальной величины мембранного потенциала ( $\Delta T$ ) при Ca<sup>2+</sup>-индуцированном ГПО эритроцитов (26,16; 60,12) секунд.

При использовании значений, выходящих за пределы соответствующих доверительных интервалов, прогностическая значимость формулы может снижаться.

Способ осуществляют следующим образом.

У больного с диагнозом ИБС, которому планируется выполнение коронарного шунтирования в условиях ИК, определяют до операции содержание ЭПО и TNF- $\alpha$  в крови и параметры Ca<sup>2+</sup>-индуцированного ГПО эритроцитов - его максимальную величину, т.е. амплитуду ( $\Delta E$ ), время ее развития ( $\Delta T$ ) и скорость восстановления мембранного потенциала ( $V_2$ ). Если каждое из полученных значений варьируют в пределах соответствующих вышеуказанных доверительных интервалов, то эти величины используют для расчета концентрации свободного гемоглобина в крови после операции согласно формуле:

$$Y = 139,60 - 1,43 \cdot X_{\text{ЕРО}} - 0,44 \cdot X_{\text{TNF}} - 29,20 \cdot X_{\Delta E} - 38,64 \cdot X_{V_2} - 0,90 \cdot X_{\Delta T}$$

Вычисленное значение  $Y$  представляет собой концентрацию свободного гемоглобина в крови (мг/дл), ожидаемую у данного пациента после завершения операции с ИК. Если оно превышает 40 мг/дл, то прогнозируют высокую степень выраженности интраоперационного гемолиза с развитием высоковероятных гемолитических осложнений, степень тяжести которых прямо пропорциональна значению  $Y$ .

Инициация внутрисосудистого гемолиза при операциях с ИК на сегодняшний день является неизбежным компонентом постперфузионных реакций организма пациента на экстракорпоральную перфузию. Массивная гемоглобинемия существенным образом нарушает функцию почек вследствие обтурации почечных канальцев коагулировавшим гемоглобином, индукции свободнорадикальных процессов в почечном эпителии и усугубления ишемии почек в результате связывания молекул оксида азота (NO). Аналогичным образом свободный гемоглобин опосредует выраженные нарушения микроциркуляции во всех тканях и органах, что дополняется окклюзией микрососудов фрагментами мембран лизированных клеток и потенцированием постгеморрагической анемии. В связи с этим изучение и коррекция внутрисосудистого гемолиза при операциях с ИК стала одной из основных задач перфузиологии и реаниматологии.

Среди способствующих (экзогенных) факторов развития выраженного гемолиза выделяют особенности перфузиологического оборудования и условий проведения операции. Степень тяжести гемоглобинемии увеличивается при длительных экстракорпоральных перфузиях, при интенсивной работе коронарного отсоса, глубокой гипотермии, высоких значениях гематокрита и оксигенации крови во время операции, переливании донорской эритроцитарной массы. К предрасполагающим (эндогенным) факторам, главным образом, относят наличие наследственных и приобретенных гемолитических анемий - талассемии, серповидноклеточной анемии, анемии вследствие генетически детерминированного дефицита глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, малярии и бабезиоза. Между тем, уровень постперфузионной гемоглобинемии существенно варьирует даже у кардиохирургических больных, не страдающих гематологической патологией, оперированных примерно в равных условиях. В связи с этим возникает предположение, что выраженность постперфузионного гемолиза зависит от состояния периферического звена эритрона на момент хирургического вмешательства, учитывая которое можно было бы в дооперационном периоде прогнозировать выраженность внутрисосудистого гемолиза после ИК.

Разработка предлагаемого способа прогнозирования степени выраженности интраоперационного гемолиза у кардиохирургических больных на основе анализа структурно-метаболического статуса эритроцитов до операции основана на результатах экспериментальных и клинических исследований. Предпринято углубленное клиничко-лабораторное обследование 90 больных ИБС, перенесших операцию коронарного шунтирования, у которых через 1 ч после завершения ИК в крови определяли концентрацию свободного гемоглобина, а до операции оценивали ряд показателей структурно-метаболического статуса эритроцитов и состава крови: содержание эритроцитов, ретикулоцитов, фибриногена, гаптоглобина, эритропоэтина, фактора некроза опухоли- $\alpha$ , гликофорин A<sup>+</sup> и гликофорин B<sup>+</sup> эритроцитов в крови, индекс ригидности эритроцитов, а также холестерол-фосфолипидное соотношение,

относительное содержание инозитолфосфата, фосфатидилсерина, фосфатидилэтаноламина и фосфатидной кислоты в мембране эритроцитов, активность  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -аденозинтрифосфатазы эритроцитарной мембраны, активность каталазы в эритроцитах и показатели  $\text{Ca}^{2+}$ -индуцированного гиперполяризационного ответа эритроцитов (ГПО).

Пациенты включались в исследование при условии соответствия следующим критериям:

1. Мужчины и женщины от 48 до 70 лет включительно, страдающие ИБС (стенокардией напряжения) и перенесшие операцию коронарного шунтирования в условиях ИК;

2. Наличие письменного информированного согласия пациента на участие в исследовании.

Критериями исключения из исследования считали:

1. Обострение хронической сопутствующей патологии;
2. Наличие гематологических заболеваний (анемии, хронические лейкозы);
3. Наличие острого респираторного заболевания за 3 недели до хирургического вмешательства;
4. Назначение курсов оксигенотерапии, препаратов эритропозтина или железа;
5. Выполнение сочетанных с коронарным шунтированием операций (резекция аневризмы аорты или левого желудочка, коррекция пороков сердца, удаление миксомы, операции по восстановлению кровотока через сонные артерии и артерии нижних конечностей);
6. Наличие инфузии эритроцитарной массы во время перфузии;
7. Продолжительность ИК более 240 мин;
8. Отказ от исследования.

Диагноз ишемическая болезнь сердца (ИБС) устанавливался на основании жалоб и анамнеза больного, данных электрокардиографии, ультразвукового исследования сердца, кардиоventрикулографии, а также скинтиграфии и эмиссионной компьютерной томографии миокарда. При наличии гемодинамически значимого стеноза двух и более коронарных артерий (более 75% от площади сечения сосуда) и/или полной окклюзии ствола левой коронарной артерии назначалась операция коронарного шунтирования.

Среди больных ИБС преобладали лица мужского пола, страдающие стенокардией напряжения III функционального класса, недостаточностью кровообращения II функционального класса (по NYHA) и гипертонической болезнью 3 степени, имеющие в структуре сопутствующей патологии в основном заболевания органов желудочно-кишечного тракта (табл.1).

Экстракорпоральная перфузия осуществлялась на аппарате ИК «Stokert» («SORIN GROUP DEUTSCHLAND», Германия), оснащенном роликовыми насосами, с применением одноразовых мембранных оксигенаторов «Quadrox» («MAQUET AG», Германия). Для заполнения первичного объема аппарата ИК использовали физиологический раствор в объеме 1200 мл и полиглюкин 400 мл. Объемная скорость перфузии рассчитывалась исходя из перфузионного индекса  $2,5 \text{ л/мин/м}^2$  и площади поверхности тела пациента. Экстракорпоральная перфузия проводилась в условиях нормотермии ( $36,09 \pm 0,26^\circ\text{C}$ ) и антеградной кардиopleгии с помощью раствора «Кустодиол» («Dr. F. Koehler Chemie GmbH», Германия). Характеристика интраоперационного периода приведена в табл.2.

На дооперационном этапе больным ИБС проводилась антиангинальная терапия с применением нитратов пролонгированного действия (изосорбид-5-мононитрат), бета-1-адреноблокаторов (бисопролол, метопролол), блокаторов  $\text{Ca}^{2+}$ -каналов (фелодипин, амлодипин). Также осуществлялась антигипертензивная терапия с применением ингибиторов ангиотензин-превращающего фермента (эналаприл, спироприл, периндоприл, фозиноприл) и диуретиков (спиронолактон, индапамид, фуросемид); назначались антиагреганты (ацетилсалициловая кислота, клопидогрел) и антикоагулянты (гепарин, фраксипарин). Коррекция липидного обмена осуществлялась с использованием статинов (аторвастатин, симвастин). При сахарном диабете 2 типа назначались гипогликемические препараты (глибенкламид, гликлазид, метформин); при язвенной болезни желудка и/или двенадцатиперстной кишки - противоязвенная терапия (омепрозол, ранитидин).

В интраоперационном периоде больным ИБС осуществлялись внутривенные инфузии кетамина 5%, фентанила 0,005%, промедола 2%, морфина 1%, диазепамы 0,5%; димедрола 1%, дроперидола 0,25%, лидокаина 10%, атропина 0,1%, пентамина 5%, пипекурония 0,2%, суксаметония 2%, нитроглицерина 1%, гепарина 5000 Ед/мл, этамзилата 12,5%, аминокaproновой кислоты 5%, преднизолона 2,5%, цефтриабола 1 г, сульфатамида 1,5 г, фуросемида 1%. В некоторых случаях по показаниям вводились адреномиметики (адреналин, допамин, мезатон) или адреноблокаторы (метопролол, альбетол, эбронил), инсулин, верапамил.

Проведен анализ вышеуказанных параметров структурно-метаболического статуса

эритроцитов и состава крови у больных ИБС до операции во взаимосвязи с концентрацией свободного гемоглобина в крови через 1 ч после завершения ИК. Венозную кровь, взятую из локтевой вены, гепаринизировали (50 Ед/мл), отделяли плазму, а эритроциты трижды отмывали физиологическим раствором. Эритромассу использовали для оценки проводимости  $K^+(Ca^{2+})$ -каналов эритроцитов методом регистрации  $Ca^{2+}$ -индуцированного ГПО, для измерения относительного содержания гликофорин  $A^+$  и гликофорин  $B^+$  эритроцитов в крови методом люминесцентной микроскопии, определения активности каталазы по скорости разложения пероксида водорода, индекса ригидности эритроцитов фильтрационным методом, выделения мембран эритроцитов с целью определения относительного содержания инозитолфосфата, фосфатидилсерина, фосфатидилэтаноламина и фосфатидной кислоты в эритроцитарной мембране, активности  $Na^+/K^+$ -аденозинтрифосфатазы в ней. В плазме крови определяли концентрацию ЕРО и TNF- $\alpha$  методом иммуноферментного анализа, гаптоглобина методом иммунотурбодиметрии, фибриногена по Клаусу, свободного гемоглобина бензидиновым методом. Цельную кровь использовали для подсчета эритроцитов и ретикулоцитов стандартными гематологическими методами.

Полученные величины подвергали регрессионному анализу, принимая в качестве результативной переменной (Y) концентрацию свободного гемоглобина в крови у кардиохирургических больных после операции, в качестве факторных переменных (X) - анализируемые показатели структурно-метаболического статуса эритроцитов и состава крови в дооперационном периоде. Учитывая требование регрессионного анализа об использовании в качестве обучающей выборки комплекса связанных переменных (определяются у одного и того же пациента) и тот факт, что исследования выполнялись блоками, было сформировано несколько баз данных, включающих в себя небольшое число факторных переменных, которые давали возможность получения нескольких уравнений множественной линейной регрессии результативного признака (табл.3).

При анализе статистических параметров выявленных закономерностей (табл.3) становится очевидным, что наиболее информативным является уравнение №6, описывающее зависимость выраженности постперфузионной гемоглобинемии от концентрации ЕРО и TNF- $\alpha$  в крови и параметров  $Ca^{2+}$ -индуцированного ГПО эритроцитов до операции, так как формула значима при уровне статистической значимости  $p < 0,05$ , достаточно хорошо отражает взаимосвязь между факторами (коэффициент множественной корреляции  $R=0,98$ ) и объясняет 96% вариации результативного признака вариацией факторных переменных (коэффициент детерминации  $R^2=0,96$ ). В связи с этим в качестве формулы прогнозирования гемолиза после операции выбрана закономерность:

$$Y=139,60-1,43 \cdot X_{\text{ЕРО}}-0,44 \cdot X_{\text{TNF-}\alpha}-29,20 \cdot X_{\Delta E}-38,64 \cdot X_{V_2}-0,90 \cdot X_{\Delta T},$$

где 139,60 - константа для больных ИБС с риском развития выраженной гемоглобинемии;

1,43; 0,44; 29,20; 38,64 и 0,90 - численные значения являются коэффициентами;

$X_{\text{ЕРО}}$  - концентрация ЕРО в крови (мМЕ/мл);

$X_{\text{TNF-}\alpha}$  - концентрация TNF- $\alpha$  в крови (пг/мл);

$X_{\Delta E}$  - амплитуда  $Ca^{2+}$ -индуцированного ГПО эритроцитов (мВ);

$X_{V_2}$  - скорость восстановления мембранного потенциала при  $Ca^{2+}$ -индуцированном ГПО эритроцитов (мкВн $^+$ /(минхл клеток));

$X_{\Delta T}$  - время развития максимальной величины (амплитуды) мембранного потенциала при  $Ca^{2+}$ -индуцированном ГПО эритроцитов (секунды).

Принимая во внимание требование регрессионного анализа о соответствии характера распределения факторных переменных нормальному закону, были рассчитаны доверительные интервалы для факторных переменных (при уровне статистической значимости  $p < 0,05$ ), в пределах которых справедливо применение полученной формулы:

- для концентрации ЕРО в крови (2,94; 20,14) мМЕ/мл;

- для концентрации TNF- $\alpha$  в крови (0,21; 6,8) пг/мл;

- для амплитуды  $Ca^{2+}$ -индуцированного ГПО эритроцитов ( $\Delta E$ ) (0,11; 1,01) мВ;

- для скорости восстановления мембранного потенциала ( $V_2$ ) при  $Ca^{2+}$ -

индуцированном ГПО эритроцитов (0,49; 0,91) мкВн $^+$ /(минхл клеток);

- для времени развития максимальной величины мембранного потенциала ( $\Delta T$ ) при  $Ca^{2+}$ -индуцированном ГПО эритроцитов (26,16; 60,12) секунд (с).

Следует отметить, что регрессионный анализ между величиной гемоглобинемии после операции, длительностью ИК и максимальным уровнем оксигенации крови во время перфузии демонстрирует слабое влияние этих факторов на гемолиз, так как они определяют только 20% вариабельности гемоглобинемии (коэффициент детерминации

$R^2=0,20$ ; табл.3, формула №1), что намного меньше детерминирующего эффекта исходного (до операции) состояния периферического звена эритрона на выраженность интраоперационного гемолиза (табл.3, формула №6).

В результате применения предлагаемого способа отмечена тесная корреляция между рассчитанными и фактически наблюдаемыми значениями концентрации свободного гемоглобина в крови (коэффициент корреляции 0,98;  $p<0,01$ ; табл.4); точность прогноза составила 93,6%.

Примеры на осуществление способа

Пример 1. Больной К., 63 г. Диагноз: ИБС. Стенокардия напряжения III функционального класса, постинфарктный кардиосклероз (2011 г.), недостаточность кровообращения II функционального класса NYHA, длительность ИБС 7 лет. Сопутствующие заболевания: гипертоническая болезнь 3 степени, сахарный диабет 2 типа, язвенная болезнь желудка (ремиссия), мочекаменная болезнь. Длительность искусственного кровообращения составила 136 мин, средние показатели перфузии: температура 36,08°C, объемная скорость перфузии 5,2 л/мин, интенсивность работы коронарного отсоса 651 мл/мин, уровень оксигенации крови 158 мм рт.ст., гематокрит 26,2%; интраоперационная трансфузия эритроцитной массы не производилась, заболевания красной крови в последние 6 месяцев до операции не отмечались.

Проведено исследование согласно предлагаемому способу В крови, взятой до операции, значения концентрации ЕРО и TNF- $\alpha$ , параметров  $Ca^{2+}$ -индуцированного ГПО эритроцитов  $\Delta E$ ,  $V_2$  и  $\Delta T$  составили соответственно: 18,50 мМЕ/мл; 3,51 пг/мл; 0,60 мВ; 0,49 мэквH<sup>+</sup>/(мин $\times$ л клеток); 52,0 с. Полученные значения подставляли в формулу для расчета концентрации свободного гемоглобина в крови после операции:

$$Y=139,60-1,43\cdot 18,5-0,44\cdot 3,51-29,20\cdot 0,60-38,64\cdot 0,49-0,90\cdot 52=28,4 \text{ мг/дл.}$$

Прогнозируемый до хирургического вмешательства уровень постперфузионной гемоглобинемии оказался верным, у пациента после ИК концентрация свободного гемоглобина в плазме крови составила 26,5 мг/дл, что всего на 7% отличалось от прогнозируемой величины (28,4 мг/дл). Данный уровень гемоглобинемии расценивался как незначительный, так как не превышает порога клинически значимого гемолиза (40 мг/дл), что благодаря разработанной формуле было определено еще до операции и после нее было ассоциировано с коротким сроком госпитализации (16 суток), отсутствием белка в моче на всем его протяжении и малым объемом плеврального экссудата после операции (150 мл на 2 сутки после операции). Между тем, согласно существующему до сих пор традиционному подходу в прогнозировании степени выраженности гемолиза после операции на основе анализа условий ее проведения несколько повышенные (превышающие среднестатистический уровень) продолжительность ИК и уровень гематокрита во время перфузии позволяли предполагать развитие значительного гемолиза после операции, который, тем не менее, не сформировался, очевидно, ввиду высокой гемолитической стойкости эритроцитов, обусловленной их дооперационным структурно-метаболическим статусом.

Пример 2. Больной Н., 59 лет. Диагноз: ИБС. Стенокардия напряжения III функционального класса, постинфарктный кардиосклероз (2010 г.), недостаточность кровообращения II функционального класса NYHA, длительность ИБС 4 года. Сопутствующие заболевания: гипертоническая болезнь 2 степени, хронический гастрит (ремиссия), пневмофиброз, желчнокаменная болезнь. Длительность искусственного кровообращения составила 108 мин, средние показатели перфузии: температура 36,12°C, объемная скорость перфузии 5,6 л/мин, интенсивность работы коронарного отсоса 543 мл/мин, уровень оксигенации крови 168 мм рт.ст., гематокрит 22,7%; интраоперационная трансфузия эритроцитной массы не производилась, заболевания красной крови в последние 6 месяцев до операции не отмечались.

Проведено исследование согласно предлагаемому способу. В крови, взятой до операции, значения концентрации ЕРО и TNF- $\alpha$ , параметров  $Ca^{2+}$ -индуцированного ГПО эритроцитов  $\Delta E$ ,  $V_2$  и  $\Delta T$  составили соответственно: 8,08 мМЕ/мл; 2,85 пг/мл; 0,56 мВ; 0,64 мэквH<sup>+</sup>/(мин $\times$ л клеток); 33,8 с. Полученные значения подставляли в формулу для расчета концентрации свободного гемоглобина в крови после операции:

$$Y=139,60-1,43\cdot 8,08-0,44\cdot 2,85-29,20\cdot 0,56-38,64\cdot 0,64-0,90\cdot 33,8=55,2 \text{ мг/дл.}$$

Прогноз: Высокая вероятность возникновения гемолитических осложнений в послеоперационном периоде.

Прогнозируемый до операции уровень постперфузионной гемоглобинемии оказался верным, у пациента после ИК концентрация свободного гемоглобина в плазме крови составила 56,1 мг/дл, что всего на 2% отличалось от прогнозируемой величины (55,2 мг/дл). Данный уровень гемоглобинемии расценивался как высокий, так как превышал порог клинически значимого гемолиза (40 мг/дл), что было рассчитано еще до операции и после таковой было ассоциировано с длительным сроком госпитализации (20 суток), наличием белка в моче (0,34 г/л, на 4 сутки после операции) и большим объемом плеврального экссудата после операции (450 мл, на 3

сутки после операции). Между тем, согласно существующему до сих пор традиционному подходу в прогнозировании степени выраженности гемолиза после операции на основе анализа условий ее проведения несколько повышенные (превышающие среднестатистический уровень) показатели оксигенации крови и объемной скорости перфузии свидетельствовали в пользу развития значительного гемолиза после операции, а низкие значения гематокрита и интенсивности работы коронарного насоса при среднестатистической продолжительности ИК, напротив, позволяли предполагать развитие несущественной гемоглобинемии. Таким образом, прогноз гемолиза на основе учета условий операции оказался неопределенным, в то время как применение предлагаемого способа давало возможность получения количественного показателя, что позволило точно предсказать формирование клинически значимого гемолиза.

Таким образом, применение предлагаемого способа, прогнозирующего степень гемолитических осложнений у больных ИБС после операции с искусственным кровообращением, и внедрение его в клиническую практику кардиохирургических отделений позволит еще на дооперационном этапе предсказать величину постперфузионной гемоглобинемии и развитие высоковероятных гемолитических осложнений, что даст возможность кардиологу и кардиохирургу назначить препараты для первичной профилактики гемолиза, а перфузиологу и анестезиологу-реаниматологу скорректировать тактику перфузиологического обеспечения и выбрать оптимальный метод вторичной профилактики выраженной гемоглобинемии. В целом, результат применения способа будет выражаться в повышении качества жизни пациентов в раннем послеоперационном периоде, уменьшении затрат ресурсов здравоохранения на их послеоперационную реабилитацию и снижении смертности кардиохирургических больных от гемолиз-индуцированных осложнений.

#### Источники информации

1. Стандартизация оценки интраоперационного гемолиза при кардиохирургических операциях в условиях искусственного кровообращения / И.И. Дементьева, Ю.А. Морозов, М.А. Чарная и др. // Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия. - 2010. - №4. - С.75-78.

2. Vercamest, L. Hemolysis in cardiac surgery patients undergoing cardiopulmonary bypass: A review in search of a treatment algorithm / L. Vercamest // The J. of Extra Corporeal Technology. - 2008 - Vol.40, N4. - P.257-267.

3. Патент RU №2307353, опублик. 27.09.2007 «Способ определения динамических характеристик эритроцитов крови».

4. Патент US №2011300574, опублик. 12.08.2011 «Cell-counting method for blood hemolysis analysis in fragility measurements».

5. Патент RU №2179315, опублик. 10.02.2002 «Способ определения функционального состояния организма по степени резистентности крови к кислотному гемолизу»

6. Dogra, N. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency and cardiac surgery / N. Dogra, G.D. Puri, S.S. Rana // Perfusion. - Vol.25, N6. - P.417-421.

7. Мальцева, И.В. Характеристика резистентности эритроцитов у кардиохирургических больных с различной степенью выраженности постперфузионного гемолиза / И.В. Мальцева // Бюллетень сибирской медицины. - 2013. - Т.12, №1. - С.69-74.

#### Приложение

##### Таблица 1

Клиническая характеристика исследуемых групп больных ишемической болезнью сердца до операции коронарного шунтирования в условиях искусственного кровообращения

Примечание. Здесь и далее в табл.2: ИБС - ишемическая болезнь сердца, NYHA (New York Heart Association) - Нью-Йоркская ассоциация сердца, ДПК - двенадцатиперстная кишка.

##### Таблица 2

Характеристика перфузиологического этапа операции коронарного шунтирования у больных ишемической болезнью сердца

Примечание: См. табл.1,  $pO_2$  - парциальное давление кислорода в крови,  $HbO_2$  - степень насыщения гемоглобина кислородом, Hct - гематокрит.

##### Таблица 3

Результаты регрессионного анализа между клиничко-лабораторными показателями до операции и уровнем постперфузионной гемоглобинемии у больных ишемической болезнью сердца

Примечание: R - коэффициент множественной корреляции,  $R^2$  - коэффициент детерминации, p - уровень статистической значимости полученной формулы,  $X_{ИК}$  - длительность искусственного кровообращения,  $X_{pO_2}$  - максимальное парциальное давления кислорода в крови во время операции. Параметры дооперационного периода:  $X_{Эр}$  - содержание эритроцитов в крови,  $X_{Ret}$  - содержание ретикулоцитов в



крови,  $X_{Фб}$  - содержание фибриногена в плазме крови,  $X_{ХС/ФЛ}$  - отношение холестерина и фосфолипидное в мембране эритроцитов,  $X_{IR}$  - индекс ригидности эритроцитов,  $X_{Na/K}$  - активность  $Na^+/K^+$ -аденозинтрифосфатазы мембраны эритроцитов,  $X_{Kat}$  - активность каталазы в эритроцитах,  $X_{ИФ}$  - доля инозитолфосфата в мембране эритроцитов,  $X_{ФС}$  - доля фосфатидилсерина в мембране эритроцитов,  $X_{ФЭА}$  - доля фосфатидилэтаноламина в мембране эритроцитов,  $X_{ФК}$  - доля фосфатидной кислоты в мембране эритроцитов,  $X_{ЕРО}$  - концентрация эритропоэтина в плазме крови до операции,  $X_{TNF}$  - концентрация фактора некроза опухолей  $\alpha$  в плазме крови,  $X_{Гапт}$  - концентрация гаптоглобина в плазме крови,  $X_{ГФВ}$  - процент гликофорин  $B^+$  эритроцитов в крови,  $X_{ДЕ}$  - амплитуда  $Ca^{2+}$ -индуцированного гиперполяризационного ответа эритроцитов,  $X_{V2}$  - скорость восстановления мембранного потенциала при  $Ca^{2+}$ -индуцированном гиперполяризационном ответе эритроцитов,  $X_{ДТ}$  - время развития максимальной величины мембранного потенциала при  $Ca^{2+}$ -индуцированном гиперполяризационном ответе эритроцитов

Таблица 4

Рассчитанные по уравнению множественной регрессии и фактические значения концентрации свободного гемоглобина в крови у больных ишемической болезнью сердца после операции с искусственным кровообращением

Показатель		Больные ИБС
Количество больных:		90
мужчины, %		85,56
женщины, %		14,44
Возраст, лет		59,40±1,03
Длительность ИБС, лет		5,16±0,97
Функциональный класс стенокардии напряжения	II, %	18,89
	III, %	74,44
	IV, %	6,67
Функциональный класс недостаточности кровообращения (по NYHA)	I, %	8,89
	II, %	78,89
	III, %	12,22
Гипертоническая болезнь III степени, %		91,11
Сахарный диабет 2 типа, %		14,44
Дисфункция щитовидной железы, %		8,89
Дисфункция предстательной железы, %		15,55
Патология желудочно-кишечного тракта:		
- язвенная болезнь желудка и/или ДПК, %		17,77
- гастриты, %		70,00
Заболевания печени и желчевыводящих путей, %		32,22
Заболевания мочевыделительной системы, %		36,66
Заболевания легких, %		17,77
Периоперационный риск по Euroscor, %		2,43±0,31

Показатель		Больные ИБС
Длительность искусственного кровообращения, мин		112,09±3,84
Длительность ишемии миокарда, мин		75,48±6,11
Объемная скорость перфузии средняя, л/мин		5,22±0,08
Объемная скорость перфузии максимальная, л/мин		5,38±0,10
pO <sub>2</sub> среднее, мм рт.ст.		150,13±5,63
pO <sub>2</sub> максимальное, мм рт.ст.		195,72±6,92
HbO <sub>2</sub> среднее, %		98,52±0,33
HbO <sub>2</sub> минимальное, %		97,08±0,67
Hct средний, %		24,60±0,95
Hct минимальный, %		23,00±0,74
Температура перфузии средняя, °C		36,09±0,26
Температура перфузии минимальная, °C		35,52±0,19
Интенсивность работы коронарного отсоса, мл/мин		670,34±48,17
Доля больных с различным количеством шунтированных артерий, %	2 артерии	15,56
	3 артерии	43,33
	4 артерии	36,67
	5 артерий	4,44
Концентрация свободного гемоглобина в крови через 1 ч после операции, мг/дл		34,27±7,28

№	Уравнение множественной линейной регрессии	R	R <sup>2</sup>	p
1	$Y = -7,57 + 0,20 \cdot X_{ИК} + 0,13 \cdot X_{pO2}$	0,44	0,20	0,04

2	$Y=42,09-1,23 \cdot X_{Эр}-0,36 \cdot X_{Ret}+5,82 \cdot X_{Фб}$	0,36	0,13	0,77
3	$Y=222,73-145,31 \cdot X_{ХС/ФЛ}-1,30 \cdot X_{Ret}+0,27 \cdot X_{IR}$	0,87	0,76	0,18
4	$Y=-344,61+456,81 \cdot X_{Na/K}-5,34 \cdot X_{Kат}+16,52 \cdot X_{Иф}+7,42 \cdot X_{Фс}+5,06 \cdot X_{ФЭА}+5,18 \cdot X_{ФК}$	0,96	0,93	0,19
5	$Y=36,96+1,09 \cdot X_{ЕРО}-1,70 \cdot X_{ТНФ}+0,08 \cdot X_{Гант}-0,37 \cdot X_{Гфв}$	0,61	0,38	0,37
6	$Y=139,60-1,43 \cdot X_{ЕРО}-0,44 \cdot X_{ТНФ}-29,20 \cdot X_{ΔЕ}-38,64 \cdot X_{V2}-0,90 \cdot X_{ΔТ}$	0,98	0,96	0,02

Таблица 4									
Концентрация свободного гемоглобина в плазме крови после операции, мг/дл	Код пациента								
	23	24	26	29	30	31	32	35	36
Фактическое значение	13,5	28,0	26,5	45,9	56,1	51,0	49,8	63,2	33,0
Расчетное значение	12,5	33,0	28,4	41,1	55,2	52,7	46,1	65,0	32,9

### Формула изобретения

Способ прогнозирования степени риска развития гемолитических осложнений после операции коронарного шунтирования в условиях искусственного кровообращения путем оценки состояния периферического звена эритрона до операции, отличающийся тем, что оценивают содержание гемопозитинов в крови до операции, для чего определяют амплитуду, время ее развития и скорость восстановления мембранного потенциала при  $Ca^{2+}$ -индуцированном гиперполяризационном ответе эритроцитов (ГПО), концентрацию эритропозитина (ЕРО) и фактора некроза опухолей- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) в крови, и в случае принадлежности их соответствующим доверительным интервалам: амплитуды от 0,11 до 1,01 мВ; время ее развития от 26,16 до 60,12 с, ГПО от 0,49 до 0,91 мэквН+/(минхл клеток); ЕРО от 2,94 до 20,14 мМЕ/мл и TNF- $\alpha$  от 0,21 до 6,8 пг/мл, соответственно, рассчитывают концентрацию свободного гемоглобина в крови после операции  $Y$  по формуле:

[Увеличенное изображение \(открывается в отдельном окне\)](#)

где 139,60 - константа для больных ИБС с риском развития выраженной гемоглобинемии;

1,43; 0,44; 29,20; 38,64 и 0,90 - численные значения являются коэффициентами;

$X_{ЕРО}$  - концентрация ЕРО в плазме крови (мМЕ/мл);

$X_{ТНФ}$  - концентрация TNF- $\alpha$  в плазме крови (пг/мл);

$X_{ΔЕ}$  - амплитуда  $Ca^{2+}$ -индуцированного ГПО эритроцитов (мВ);

$X_{V2}$  - скорость восстановления мембранного потенциала при  $Ca^{2+}$ -индуцированном ГПО эритроцитов (мэквН+/(минхл клеток));

$X_{ΔТ}$  - время развития максимальной величины (амплитуды) мембранного потенциала при  $Ca^{2+}$ -индуцированном ГПО эритроцитов (секунды),

и при  $Y$ , превышающем 40 мг/дл, прогнозируют высокую степень риска развития гемолитических осложнений в послеоперационном периоде.

### ИЗВЕЩЕНИЯ

**ММ4А Досрочное прекращение действия патента из-за неуплаты в установленный срок пошлины за поддержание патента в силе**

Дата прекращения действия патента: 31.12.2015

Дата публикации: [20.08.2016](#)