

КОРРЕКЦИЯ ПОЙКИЛОЦИТОЗА И БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КРОВИ ПРИ ОСТРОЙ КРОВОПОТЕРЕ

В. В. Мороз, И. С. Новодержкина, Е. М. Антошина,
А. В. Афанасьев, И. А. Рыжков, Ю. В. Заржецкий

НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского, Москва
Россия, 107031, Москва, ул. Петровка, д. 25, стр. 2

Correction of Poikilocytosis and Blood Biochemical Indicators in Acute Blood Loss

V. V. Moroz, I. S. Novoderzhkina, E. M. Antoshina, A. V. Afanasyev, I. A. Ryzhkov, Yu. V. Zarzhetsky

V. A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology, Moscow
25, Petrovka St., Build. 2, Moscow 107031, Russia

Цель исследования. Обоснование применения перфторана для коррекции морфологических изменений эритроцитов и биохимических показателей крови при острой кровопотере. **Материалы и методы.** Эксперименты проведены на нелинейных крысах-самцах весом 250–300 г под нембуталовым наркозом. Кровопотерю осуществляли посредством эксфузии артериальной крови до достижения АД=40 мм рт. ст., после чего данный уровень артериальной гипотензии поддерживали в течение 60 минут. Затем проводили реинфузию забранного объема крови. Перфторан в дозе 3 мл/кг вводили внутриаартериально за 45 мин до начала кровопотери. На следующие сутки проводили забор проб артериальной и венозной крови. Исследовали показатели обмена веществ (КОС, Hb, Ht, биохимический анализ крови), морфологические характеристики эритроцитов (размер дискоцитов, процентное содержание стоматоцитов и эхиноцитов) и содержание ретикулоцитов в периферической крови. **Результаты.** Перфторан оказывал нормализующее действие на показатели КОС крови. Через сутки после кровопотери и реинфузии в группе 1 (без введения перфторана, n=8) отмечали снижение показателей Hb, Ht и сывороточного железа в сравнении с группой 3 (интактные животные, n=12). В группе 2 (с введением перфторана, n=10) эти показатели снижались в меньшей степени. В эти же сроки в группе 2 меньше была выражена гиперхолестеринемия по сравнению с группой 1. В группе 2 средний диаметр дискоцита был больше, чем у животных двух других групп. Содержание эхиноцитов в группе 1 возрастало до 32% при их практически полном отсутствии у интактных животных. У животных группы 2 содержание эхиноцитов не отличалось от интактных. По сравнению с группой 3 в группе 1 процентное содержание ретикулоцитов снизилось в 4,5 раза ($p \leq 0,05$), в то время как в группе 2 наблюдалось увеличение этого показателя в 2,2 раза ($p \leq 0,05$). **Заключение.** Введение перфторана в дозе 3 мл/кг массы тела за 45 мин до кровопотери способствует повышению показателей гемоглобина, гематокрита, сывороточного железа и снижению общего холестерина. Введение перфторана увеличивает также средний диаметр эритроцитов; предупреждает развитие их эхиноцитарной трансформации и улучшает регенераторные способности костного мозга через сутки после кровопотери и реинфузии. **Ключевые слова:** биохимические показатели, эритроцит, ретикулоцит, кровопотеря, реинфузия, перфторан.

Objective: to provide a rationale for the use of perfluorane to correct erythrocyte morphological changes and blood biochemical indicators in acute blood loss. **Material and methods.** Experiments were carried out in outbred male rats weighing 250–300 g under nembutal anesthesia. Blood loss was induced by arterial blood exsuffusion until blood pressure (BP) reached 40 mm Hg, following which this BP level was maintained for 60 minutes. Then the amount of blood withdrawn was reinfused. Perfluorane was injected intraarterially at a dose of 3 ml/kg 45 min before the start of blood loss. On the following day arterial and venous blood samples were harvested. The values of metabolic parameters (acid-base balance (ABB), hemoglobin (Hb), packed cell volume (PCV), and blood biochemistry), the morphological characteristics of erythrocytes (the size of discocytes and the percentage of stomatocytes and echinocytes), and the levels of reticulocytes in peripheral blood were studied. **Results.** Perfluorane exerted a normalizing effect on the values of blood ABB. Twenty-four hours after blood loss and reinfusion, Group 1 (a non-perfluorane group; n=8) showed reductions in Hb, PCV, and serum iron as compared to Group 3 (intact animals; n=12). In Group 2 (a perfluorane group; n=10), these indicators were decreased to a lesser extent. In these time periods, hypercholesterolemia was less marked in Group 2 than in Group 1. In Group 2, the mean diameter of a discocyte was larger than that in the animals of the two other groups. Group 1 displayed as high as 32% increases in the count of echinocytes with their virtually complete absence in the intact animals. At the same time, the levels of echinocytes in Group 2 animals were similar to those in the intact animals. As compared to Group 3, Group 1 exhibited a 4.5-fold drop in the percentage of reticulocytes ($p \leq 0.05$) while Group 2 showed a 2.2-fold rise in this indicator ($p \leq 0.05$). **Conclusion.** The injection of perfluorane at a dose of 3 ml/kg body weight 45 min prior to blood loss causes an increase in the values of Hb, PCV, and serum iron and a reduction in total cholesterol. The administration of perfluorane

Адрес для корреспонденции:

Ирина Новодержкина
E-mail: novodergkina@yandex.ru

Correspondence to:

Irina Novoderzhkina
E-mail: novodergkina@yandex.ru

also increases the mean diameter of erythrocytes, prevents their echinocytic transformation, and improves the regenerative capacities of bone marrow following blood loss and reinfusion. **Key words:** biochemical indicators, erythrocyte, reticulocyte, blood loss, reinfusion, perfluorane.

DOI:10.15360/1813-9779-2015-3-6-15

Введение

С конца XX века отмечается тенденция к ограничению использования препаратов донорской крови для коррекции анемии, в частности, постгеморрагической [1]. Это во многом обусловлено лучшим пониманием патофизиологии острой кровопотери, результатами крупных клинических исследований [2, 3], а также все большей осторожностью в отношении серьезных осложнений гемотрансфузии. На этом фоне приобретают актуальность различные технологии кровосбережения, и в частности, аутогемотрансфузия и использование кровезаменителей комплексного действия. Представителем последних является препарат перфторан, который не только частично протезирует газотранспортную функцию крови, но и обладает рядом других полезных фармакодинамических свойств (реологические, гемодинамические, мембраностабилизирующие и др.) [4, 5]. При этом важное значение имеет не только газотранспортная способность самого кровезаменителя, но и его вклад в оптимизацию доставки кислорода к клеткам в целом.

Известно, что в патогенезе тяжелой кровопотери и реперфузионных осложнений важную роль играют изменения реологических свойств крови, которые в значительной степени зависят от морфофункционального состояния эритроцитов [6, 7]. В ряде клинических исследований [8, 9] уже показано, что перфторан в комплексе инфузионно-трансфузионной терапии у пациентов с тяжелой травмой и кровопотерей оказывает мембраностабилизирующее действие, проявляющееся уменьшением гемолиза, сохранением деформируемости и агрегируемости эритроцитов, что, в свою очередь, предупреждает развитие тяжелых микроциркуляторных нарушений. В эксперименте также [10, 11] показано, что кровопотеря с последующей реинфузией крови сопровождается изменением морфологических характеристик эритроцитов (изменение размера и формы клеток), что указывает на нарушение их функциональности. Использование различных режимов введения перфторана в этих условиях уменьшало выраженность трансформации дисцитов в другие формы красных кровяных клеток.

Острая постгеморрагическая анемия является нормоцитарной и нормо- или гиперрегенераторной. При этом костно-мозговая фаза компенсаторных реакций при кровопотере наступает на 4–5-е сутки, а критерием регенераторных способностей костного мозга к эритропоэзу является количество ретикулоцитов в периферической крови (норма для человека – 5–10 на 1000 эритроцитов) [12]. Однако, как в экспериментах с животными [13, 14], так и в клинических исследованиях [15] отмечается супрессия эритропоэза и снижение общего содержания клеток в костном мозге в первые сутки после острой кровопотери и реинфузии.

Introduction

Since the end of the XX century there has been a tendency to restrict the use of blood products for the correction of anemia, in particular post-hemorrhagic [1]. This trend is mainly due to improvements in understanding the acute blood loss pathophysiology, re-thinking of the results of large clinical trials [2, 3], as well as the increased alertness on serious complications of blood transfusion. Against this background, various bloodsaving measures are becoming more popular, in particular, the autotransfusion and the use of blood substitutes with complex action. Representative of the latter group of substitutes is Perftoran («Perftoran», Russia), which not only performs the gas transport function of blood, but also has a number of other useful pharmacodynamic properties (rheological, hemodynamic, membrane stabilizing and others) [4, 5]. Wherein, the gas transport capacity of the blood substitute is becoming not the only important feature of a substituting agent. General contribution to the optimization of oxygen delivery to the cells, in addition, has become the most desired feature of a novel blood substitute.

Alterations in blood rheology are known to play an important role in the pathogenesis of severe blood loss and reperfusion. Rheological properties of blood mainly depend on the morphofunctional state of erythrocytes [6, 7]. In numerous clinical studies [8, 9] it has been shown that the use of Perftoran in patients with severe trauma and blood loss possesses protection of the cell membrane manifested in decreasing the hemolysis and preserving the preservation of red blood cells deformability and aggregation. These features of the drug prevented the development of severe microcirculatory disturbances. Experimental studies [10, 11] have shown that a blood loss followed by autotransfusion is accompanied by alterations of morphological characteristics (size and shape) of erythrocytes indicating a disturbances that may lead to cell from disfunctions [10, 11]. The use of different modes of Perftoran administration in these settings had reduced the severity of discocytes transformation into other forms of red blood cells.

Acute posthemorrhagic anemia is usually normocytic and regenerative. However, «bone marrow phase» of compensatory reactions in a blood loss occurs on 4–5th day post-hemorrhage, when the number of reticulocytes in the peripheral blood (normal range for a man is 5–10 per 1000 erythrocytes) is becoming the criterion of regenerative (erythropoietic) ability of bone marrow [12]. However, both in animal experiments and in clinical studies the suppression of erythropoiesis and the reduction of total cells quantity in the bone marrow were observed in the first days after acute blood loss and autotransfusion [13–15].

Given the above, the aim of this experimental study was to investigate the effect of preliminary administration

Учитывая вышесказанное, целью данного экспериментального исследования стало изучение влияния предварительного введения перфторана на морфологические особенности эритроцитов и биохимические показатели крови через 24 ч после острой кровопотери и реинфузии.

Материал и методы

Эксперименты провели на 30 нелинейных крысах-самцах весом 250–300 г под нембуталовым наркозом (45 мг/кг, внутривенно) в условиях самостоятельного дыхания и температуры окружающей среды 22–24°C. Животные были разделены на три группы. У животных первой группы (контрольная, «кровопотеря без перфторана», $n=8$) после введения в анестезию катетеризировали хвостовую артерию, проводили предварительную гепаринизацию (50 ЕД/кг нефракционированного гепарина внутриаартериально). Кровопотерю осуществляли посредством эксфузии артериальной крови до достижения АД = 40 мм рт. ст., после чего данный уровень артериальной гипотензии поддерживали с помощью повторных дозированных эксфузий/реинфузий крови в течение 60 минут (модель кровопотери по Wiggers С. J., модифицированная в НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского) [16]. Затем проводили реинфузию забранного объема крови (аутогемотрансфузия), удаление катетера из хвостовой артерии, местный гемостаз, после чего крыс перемещали в виварий для восстановления. Животных второй группы (опытная, «кровопотеря с перфтораном», $n=10$) подвергали тем же самым процедурам, за исключением предварительного (за 45 минут до начала кровопотери) внутриаартериального введения перфторана в дозе 3 мл/кг. Третью группу (интактные животные, $n=12$) составили крысы, которые в первый день эксперимента не подвергались никаким процедурам и были «нормой» для данных условий эксперимента.

Через 24 часа после реинфузии крови под нембуталовым наркозом (45 мг/кг внутривенно) проводили повторную катетеризацию хвостовой артерии (для интактных крыс — первичную), гепаринизацию и забор проб артериальной крови для лабораторного исследования (кислотно-основное состояние [КОС], электролиты, Hb, Ht, микроскопия мазков крови). Пробы смешанной венозной крови для биохимического анализа (глюкоза, сывороточное железо, общий белок, липидный профиль, мочевины и креатинин) получали посредством пункции правых камер сердца. После этого животных подвергали немедленной эвтаназии с помощью внутриаартериального введения летальной дозы нембутала.

Морфологический анализ эритроцитов проводили в сухих неокрашенных мазках крови, в монослое с помощью светового микроскопа Olimpus BX-50. При увеличении $\times 1000$ (10×100), подсчитывали 1000 клеток на мазок. Использовали классификацию Bessis M. [17], согласно которой выделяют три основные формы эритроцитов, а именно: дискоциты, эхиноциты и стоматоциты. Рассчитывали процентное содержание выделенных форм эритроцитов. Цитометрию проводили с помощью программы ImageScopeM. Оценивали процентное содержание дискоцитов малого (менее 5,5 мкм) и большого (более 6,7 мкм) размера, средний диаметр дискоцита. Увеличение процентного содержания больших по размеру дискоцитов и их среднего диаметра при постгеморрагической анемии рассматривали как признак повышенного содержания в крови «молодых» форм эритроцитов [18]. Для определения количества ретикулоцитов мазок подвергали суправитальной окраске бриллиантовым (крезиловым) синим в пробирке. Проводили расчет количества ретикулоцитов на 1000 эритроцитов. На портативном проточном анализаторе i-Stife-300 (Abbott, США), картридже серии CG+8 определяли показатели КОС, электролиты, Hb и Ht. Биохимический анализ крови проводили на автоматическом ана-

лизаторе Perftoran на морфологические характеристики эритроцитов и биохимические параметры крови 24 часа после острой кровопотери и аутогемотрансфузии.

Materials and Methods

Studies in animals were performed in accordance to provisions recommended by the Committee on the science of laboratory animals (WHO), requirements of the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes (Strasbourg, 1986) and requirements of the Committee on Animal Research and Ethics of the V. A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology. Experiments were carried out in 30 male outbred rats 250 g to 300g body mass at the conditions of spontaneous breathing and room temperature of 22–24°C. The animals were anesthetized by intraperitoneal injection of pentobarbital (45 mg/kg). Animals were divided into three groups. In the animals of the first group (control, $n=8$) a polyethylene catheter was advanced through the tail artery for blood shedding and reinfusion and a preliminary heparinization with 50 U/kg of unfractionated heparin intraarterially was conducted. Blood loss modeling was carried out by the exsuffusion of arterial blood until the blood pressure of 40 mm Hg, then this level of hypotension was maintained by repeated exsuffusion/reinfusion of blood for 60 minutes (Wiggers model of hemorrhagic shock, modified in V. A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology [16]). Then, withdrawn blood volume was reinfused (autotransfusion), the catheter was removed from the tail artery, local hemostasis was applied and the rat was transported to animal facility for recovery. The animals of the second group (test group, $n=10$) were subjected to the same protocol, except preliminary (45 minutes before blood withdraw) intraarterial administration of Perftoran at a dose of 3 ml/kg. Intact animals ($n=12$) which were not under any manipulations during the experiments were included in the study as group 3.

In 24 hours the repeated tail artery catheterization, heparinization and arterial blood sampling for laboratory testing (acid-base status [ABS], electrolytes, Hb, Ht, blood smear microscopy) were carried out under pentobarbital anesthesia (45 mg/kg, ip) in rats from groups 1 and 2. Samples of the mixed venous blood for biochemical analysis (glucose, serum iron, total protein, lipid profile, urea and creatinine) were obtained by the puncture of the right heart. Then, animals were euthanized with pentobarbital at a lethal dose (150 mg/kg).

Morphological and morphometric analyses of monolayers of dried unstained blood smear slides were performed with the aid of Olympus BX50 (Japan) light microscope at a magnification of 1000 (10×100); 1000 cells per smear were counted. We employed the classification of Bessis M., according to which there are three main forms of red blood cells, namely discocytes, echinocytes and stomatocytes [17]. Numbers of small (less than 5.5 micrometers) and large (more than 6.7 micrometers) discocytes were determined in each sample, and average diameter of discocytes was computed. Increased proportion of larger discocytes and their average diameter in post-hemorrhagic anemia is considered as a sign of elevated blood level of «young» forms of erythrocytes [18]. To determine the number of reticulocytes, a smear was subjected to supravital staining with Brilliant Cresyl Blue stain. Reticulocyte proportion was calculated as a number per 1000 erythrocytes. With the aid of a portable clinical analyzer i-STAT-300 (Abbott, USA) and cartridges CG+8, the parameters of ABS, electrolytes, Hb and Ht were determined. Routine biochemical analysis of blood was performed using an automated analyzer Miura ONE (Italy).

Statistical processing of the data were performed using Statistica 6.0. The significance of differences between the groups was assessed by ANOVA test and Mann-Whitney *U*-test. Data were presented as medians (Me), 25% and 75% percentiles. Differences between groups were considered significant at $P<0.05$.

Таблица 1. Кислотно-основное состояние и биохимические показатели крови у крыс через 24 ч после кровопотери и реинфузии крови [Ме (25%; 75%)].**Table 1. Acid-base status and blood biochemistry in rats 24 hours after the blood loss and autotransfusion Me (25%; 75%).**

| Parameters | Values of parameters in the groups | | |
|--|------------------------------------|----------------------|----------------------|
| | 1 | 2 | 3 |
| pH | 7.41 (7.37; 7.44)* | 7.40 (7.38; 7.40)# | 7.37 (7.37; 7.38) |
| pCO ₂ , mm Hg | 46.2 (43.1; 49.0)* | 43.3 (40.5; 45.0)*# | 50.2 (48.2; 53.3) |
| pO ₂ , mm Hg | 81.5 (76.0; 88.5) | 93.0 (81.0; 96.0)* | 81.5 (80.0; 86.5) |
| BE, mmol/l | 5.5 (4.0; 6.7) | 1.0 (0.0; 1.0)*# | 4.0 (4.0; 5.5) |
| HCO ₃ ⁻ , mmol/l | 30.0 (28.4; 30.9) | 26.3 (25.9; 28.2)*# | 29.1 (28.4; 31.6) |
| SaO ₂ , % | 96.0 (94.0; 97.0) | 97.0 (96.0; 97.0) | 96.0 (94.5; 96.5) |
| Na ⁺ , mmol/l | 143.0 (141.0; 144.0) | 142.0 (141.0; 143.0) | 144.0 (142.0; 144.0) |
| K ⁺ , mmol/l | 3.9 (3.8; 4.1) | 3.7 (3.6; 3.7) | 4.2 (4.0; 4.2) |
| Ca ²⁺ , mmol/l | 1.32 (1.26; 1.39) | 1.35 (1.34; 1.39) | 1.34 (1.32; 1.38) |
| Ht, % | 26.0 (24.5; 27.5)* | 29.0 (27.0; 31.0)*# | 38.9 (34.9; 39.0) |
| Hb, g/dL | 8.7 (8.2; 9.4)* | 9.9 (9.2; 10.8)*# | 12.5 (11.1; 12.6) |
| Glucose, mmol/l | 9.1 (8.7; 10.0) | 9.3 (7.8; 9.8) | 8.7 (8.4; 9.9) |
| Serum iron, μmol/l | 13.6 (8.4; 16.8)* | 18.0 (17.9; 20.1)*# | 27.9 (25.4; 30.5) |
| Total protein, g/L | 57.2 (54.0; 60.2) | 54.6 (54.0; 55.0) | 56.5 (53.9; 60.0) |
| HDL, mmol/l | 0.97 (0.9; 1.0) | 0.83 (0.8; 0.9)# | 0.9 (0.8; 0.9) |
| Triglycerides, mmol/l | 0.58 (0.40; 0.74) | 0.4 (0.36; 0.54) | 0.18 (0.16; 0.54) |
| Total cholesterol, mmol/l | 2.60 (2.36; 3.06)* | 2.12 (2.08; 2.35)*# | 1.74 (1.71; 1.84) |
| Creatinine, μmol/l | 58.0 (44.0; 64.0) | 57.0 (54.0; 60) | 47.0 (46.0; 60.0) |
| Urea, mmol/l | 4.5 (3.9; 5.7) | 5.6 (5.5; 6.1) | 5.0 (4.7; 5.6) |

Note (примечание): # – $P \leq 0,05$ между группами 1 и 2; * – $P \leq 0,05$ по сравнению с группой 3; parameters – параметры; values of parameters in the groups – значения показателей в группах; 1 – control – контрольная; 2 – test – опытная; 3 – intact – интактные; pCO₂ – partial pressure of carbon dioxide (парциальное давление двуокиси углерода); pO₂ – partial pressure of oxygen (парциальное давление кислорода); BE – base excess/deficit (избыток/недостаток оснований); HCO₃⁻ – bicarbonate content (содержание бикарбоната); SaO₂ – oxygen saturation of arterial blood (кислородное насыщение артериальной крови); HDL – high-density lipoprotein (липопротеины высокой плотности); glucose – глюкоза; serum iron – сывороточное железо; total protein – общий белок; high density lipoproteins – липопротеиды высокой плотности; triglycerides – триглицериды; total cholesterol – общий холестерин; creatinine – креатинин; urea – мочевины; mm Hg – мм рт. ст.; mmol/l – ммоль/л; μmol/l – мкмоль/л; g/dL – г/дл; g/L – г/л.

лизаторе Miura ONE (Италия). Статистическая обработка результатов исследования проводилась с использованием пакета программ «Statistica 6». Достоверность различий исследуемых показателей между группами оценивали по критерию ANOVA, *U* критерию Вилкоксона-Манна-Уитни. Различия считались достоверными при $p \leq 0,05$. Эксперименты проведены с учетом положений, рекомендованных комитетом по науке о лабораторных животных и подержанных ВОЗ, согласно требованиям Европейской конвенции (Страсбург, 1986) по содержанию, кормлению и уходу за подопытными животными.

Результаты и обсуждение

При анализе параметров КОС артериальной крови (табл. 1) в контрольной и интактной группах отмечали тенденцию к компенсированному метаболическому алкалозу (увеличение BE при нормальном значении pH) и умеренной гиперкапнии, в то время как в опытной группе pH, pCO₂ и BE были в пределах нормальных значений, а pO₂ на 10% выше, чем в остальных группах. Данные различия между группами согласуются с уже изученным благоприятным влиянием перфторана на параметры КОС [4]. Не вполне ясен генез отмечавшейся тенденции к метаболическому алкалозу в контрольной и интактной группах. Наиболее вероятной причиной являлось использование для наркоза барбитуратов (Нембутал), растворы которых обладают выраженной щелочной реакцией. Данное влияние нар-

Results and Discussion

When analyzing the ABS of arterial blood (Table 1), the control and intact groups showed a trend toward compensated metabolic alkalosis (increased BE values at normal pH) and moderate hypercapnia, while in the test group (group 2) the values of pH, pCO₂ and BE were within the normal range and pO₂ values were 10% higher than in the other groups. These differences between the groups are consistent with studied positive effects of Perftoran on ABS [4]. Reason for the trend toward metabolic alkalosis in the control and intact groups is not clear. Most likely, the cause is the use of barbiturate (pentobarbital) for anesthesia, since barbiturate solution has a pronounced alkaline reaction. This influence of anesthesia apparently was leveled out in the test group due to the complex action of Perftoran.

Despite the autotransfusion, Hb and Ht values in the control and test groups on the second day of the experiment were lower in comparison with intact animals, although the severity of anemia in the test group was lower (Table 1). The development of anemia might be resulted from the blood loss at stages of the experiment (artery catheterization, blood sampling, bleeding in the postoperative period) and/or suppression of erythropoiesis and increased hemolysis. However, hemolysis is characterized by elevated serum iron concentration. In our experiments,

коза в опытной группе, по-видимому, нивелировалось комплексным действием перфторана.

Несмотря на реинфузию крови, через сутки наблюдали более низкие величины Hb и Ht в контрольной и опытной группах в сравнении с интактными животными, но при этом выраженность анемии в опытной группе была меньше (табл. 1). Развитие анемии можно объяснить потерей крови на этапах эксперимента (при катетеризации артерии, заборе проб крови, кровоточивость в послеоперационном периоде), а также угнетением эритропоэза и повышенным гемолизом. Однако для гемолиза характерно повышение сывороточной концентрации железа, а в данной серии экспериментов, напротив, происходило существенное снижение сывороточной концентрации железа в контрольной и, хотя и в меньшей степени, в опытной группах (табл. 1). Вместе с тем снижение концентрации ионизированного железа в сыворотке крови не отражает его перераспределение между специфическими транспортными и депонирующими белками (ферритин, трансферрин и др.) [12]. Так, в экспериментальной работе [19] показано, что при травме с кровопотерей происходило снижение концентрации сывороточного железа с одновременным повышением концентрации трансферрина и ферритина, при этом общее содержание железа в циркулирующей крови увеличивалось. Сходные нарушения обмена железа отмечались у больных хирургического профиля в послеоперационном периоде, которые сохранялись на протяжении 4-х недель после операции [20].

Через сутки после кровопотери и реинфузии содержание общего холестерина в крови лабораторных животных возрастало как в контрольной, так и в опытной группе. В группе с введением перфторана увеличение данного показателя происходило в меньшей степени (табл. 1), что согласуется с сорбционными и липофильными свойствами препарата и его влиянием на обмен веществ [21]. Интересно сопоставить полученные данные с результатами клинического исследования [22], в котором изучался обмен холестерина у больных с тяжелой механической травмой и кровопотерей. На фоне развития дислипидемии (повышение концентрации атерогенных фракций холестерина) отмечалась двухфазная динамика общего холестерина (снижение на 1–2-е сутки и повышение на 5–8-е сутки). Применение перфторана в комплексе интенсивной терапии тяжелой травмы оказывало нормализующее действие на липидный профиль в крови пациентов.

При рассмотрении приведенных результатов в комплексе, можно заключить, что в группе животных, которым предварительно вводили перфторан, показатели Hb, Ht и концентрации сывороточного железа снизились в меньшей степени, чем в контрольной группе, хотя и не достигли значений, характерных для интактных животных. Обращает на себя внимание однонаправленное изменение концентрации сывороточного железа с величинами Hb и Ht, что позволяет высказать предположение о сопряжении уровня сывороточного железа со степенью снижения данных показателей красной крови.

by contrast, there was a significant reduction in serum iron concentration in the control and test groups, though to a lesser extent in the latter (Table 1). At the same time, decrease in concentration of ionized iron in serum does not reflect its redistribution between the specific transport and depot of proteins (ferritin, transferrin and others) [12]. For example, experimental study has demonstrated that the injury with blood loss was accompanied by a decrease of serum iron concentration with simultaneous increase in the concentration of transferrin and ferritin, and the total content of iron in the circulating blood was increased [19]. Similar disturbances of iron metabolism were observed in surgical patients in the postoperative period and persisted for 4 weeks after surgery [20].

The day after the blood loss and autotransfusion, total cholesterol level in the blood of laboratory animals increased both in the control group and test one. Again, in the group with Perftoran administration this parameter was increased to a lesser degree (Table 1) that is consistent with the sorption and lipophilic properties of the drug and its effects on the metabolism [21]. It is interesting to compare the data obtained with the results of a clinical study, in which cholesterol metabolism has been studied in the patients with severe mechanical trauma and blood loss [22]. On the background of dyslipidemia (increased levels of atherogenic fractions of cholesterol) the biphasic dynamics of total cholesterol (a decrease on the 1–2th days and an increase on the 5–8th days) was observed. Perftoran administration in the complex intensive therapy of severe trauma had a normalizing effect on the blood lipid profile of the patients.

Results of performed experiments in this study suggest that in the test group values of Hb, Ht and serum iron concentration decreased to a lesser degree than in the control group, but not reached the values typical of intact animals. It is noteworthy an unidirectional change in serum iron concentration and indices of Hb and Ht that suggests an association of serum iron concentration and degree of reduction of red blood cells indices. Hypothetically, these results are related to the change in the qualitative composition of red blood cells after reperfusion. In this connection, it was appropriate to investigate the morphological characteristics of red blood cells and functional activity of bone marrow day after blood loss and autotransfusion.

When analyzing the morphological characteristics of red blood cells we revealed significant differences between the study groups of animals (Table 2). In the animals of a test group the average size of discocytes and the percentage of these cells with a diameter greater than 6.7 micrometers were higher than in other two groups of animals. This fact may indicate a predominance of relatively «young» red blood cells, which are characterized by a larger cell diameter, in circulating blood [18].

The analysis of altered erythrocyte forms showed a sharp increase in the percentage of echinocytes (up to 32%) in the control group, while they are virtually absent in the blood of intact rats (Table 2). At the same time in the animals of test group the percentage of echinocytes

Таблица 2. Сравнительная характеристика эритроцитов у крыс через 24 ч после кровопотери и реинфузии крови [Me (25%; 75%)].**Table 2. Comparative characteristics of red blood cells in rats 24 h after blood loss and autotransfusion Me (25%; 75%).**

| Group | Discocytes distribution according to their size, % | | The average size of discocytes, μm | The percentage of reticulocytes and red blood cells modified forms, % | | |
|-------|--|-----------------------------|---|---|---------------------|-----------------------|
| | less than 5.5 μm | more than 6.7 μm | | reticulocytes | stomatocytes | echinocytes |
| 1 | 2.2 (1.4; 2.4) | 47.6 (44.1; 51.1) | 6.6 (6.5; 6.6)* | 0.2 (0.1; 0.35)* | 0.0 (0.0; 0.0)* | 32.1 (27.5; 37.8)* |
| 2 | 1.65 (1.3; 1.8) | 60.6 (57.0; 66.0)*# | 6.8 (6.7; 6.8)*# | 2.0 (1.8; 2.1)*# | 2.1 (0.0; 3.1)*# | 0.0 (0.0; 1.2)# |
| 3 | 1.4 (0.6; 2.7) | 50.6 (41.5; 58.6) | 6.7 (6.6; 6.7) | 0.9 (0.7; 0.9) | 3.0 (2.6; 3.1) | 0.0 (0.0; 0.0) |

Note (примечание): # $P \leq 0,05$ между группами 1 и 2; * $P \leq 0,05$ по сравнению с группой 3; group – группа; 1 – control – контрольная; 2 – test – опытная; 3 – intact – интактные; discocytes distribution according to their size – распределение дискоцитов по размеру; the average size of discocytes – средний диаметр дискоцитов; the percentage of reticulocytes and red blood cells modified forms – процентное содержание ретикулоцитов и измененных эритроцитов; reticulocytes – ретикулоциты; stomatocytes – стоматоциты; echinocytes – эхиноциты; less than – до; more than – более; μm – мкм.

Эти результаты, возможно, связаны с постреперфузионным изменением качественного состава эритроцитов. В связи с этим представлялось целесообразным исследовать морфологические характеристики эритроцитов и функциональную активность костного мозга через сутки после кровопотери и реинфузии.

При анализе морфологических характеристик эритроцитов выявили существенные различия между исследуемыми группами животных (табл. 2). У животных опытной группы средний размер дискоцита и процент этих клеток с диаметром более 6,7 мкм были выше, чем у животных двух других групп. Данный факт может указывать на преобладание в кровотоке относительно «молодых» эритроцитов, для которых характерен больший диаметр клетки [18].

Анализ измененных форм эритроцитов показал резкое возрастание процентного содержания эхиноцитов (до 32%) у животных контрольной группы при их практически полном отсутствии в крови интактных крыс (табл. 2). При этом у животных опытной группы в те же сроки эксперимента процентное содержание эхиноцитов не отличалось от их содержания у крыс интактной группы. Содержание стоматоцитов в контрольной и опытной группах снизилось по сравнению с интактными животными, однако эти изменения у большинства животных оставались в пределах нормы (табл. 2). Наряду с этими изменениями в контрольной группе наблюдали агрегаты эритроцитов, состоящие из 4–5 клеток.

Физиологическое значение пойкилоцитоза во многом еще не изучено, а причины его появления носят неспецифический характер. В мазках крови, при фиксации клеток спиртами или альдегидами, преобладающей формой эритроцитов являются дискоциты (80–95%) и эхиноциты (0–6%), а стоматоциты (0–2%) и другие формы встречаются реже [23]. При этом эритрограмма свежих мазков крови может отличаться от приведенной выше, например, повышенным содержанием эхиноцитов и стоматоцитов. Прогрессирующие

did not differ from their content in the rats of intact group. Stomatocytes content in the control and test groups decreased compared to the intact animals, but these changes remained within normal limits in most animals (Table 2). Along with described changes, erythrocyte aggregates composed of 4–5 cells were observed in the control group.

The physiological significance of poikilocytosis have not yet been clarified, and its causes seem nonspecific. In smears of blood fixed with aldehydes or alcohols, the predominant erythrocytes forms are represented by discocytes (80–95%) and echinocytes (0–6%), while stomatocytes (0–2%) and other forms are less common [23]. However, in fresh blood smears the erythrogram may differ from the aforementioned one, for example, there may be a higher content of echinocytes and stomatocytes. Progressive changes of cell shape are accompanied by significant alterations of erythrocytes ultrastructure (cytoskeleton, plasma membrane), metabolism (decrease in intracellular ATP concentration, the dysfunction of ion pumps) [23, 24] and functional properties (oxygen transport, deformability and aggregation) [6]. In particular, echinocytosis is accompanied by the formation of high density aggregates [25] caused by changes in the physicochemical properties of the erythrocyte membrane. Echinocytes are the main form of red blood cells in a long-time stored blood and considered as erythrocyte forms preceding to hemolysis. With the aid of atomic force microscopy it was revealed that increasing blood storage period was accompanied by the development of destructive changes in the membrane surface of echinocytes that included multi-level protrusions and recesses (numerous membrane defects including those on the spicules), reaching a depth of 25–30 nm on day 10 of storage [26, 27].

The poikilocytosis commonly occurs in severe anemia of any origin [12]. Both stomatocytes and echinocytes appear in blood samples when the erythrocytes are exposed to various physical and chemical factors: change in ionic composition, osmolality and pH of

изменения формы клеток сопровождаются значительными нарушениями их ультраструктуры (цитоскелета, плазматической мембраны), метаболизма (снижение внутриклеточной концентрации АТФ, дисфункция ионных насосов) [23, 24] и функциональных свойств (кислородтранспортная способность, деформируемость и агрегируемость) [6]. В частности, эхиноцитоз сопровождается образованием агрегатов повышенной плотности [25], что связано с изменением физико-химических свойств мембраны эритроцита. Эхиноциты являются основной формой эритроцитов в консервированной крови длительных сроков хранения и считаются предгемолитической формой. При этом с помощью атомно-силовой микроскопии (АСМ) обнаружено, что с увеличением срока хранения крови прогрессируют деструктивные изменения поверхности мембран эхиноцитов, в виде появления многоуровневых выростов и углублений (дефектов мембраны, в т. ч. на спикулах), достигающих глубины 25–30 нм к 10-м суткам хранения [26, 27].

Известно, что пойкилоцитоз наблюдается при тяжелом течении анемии любого генеза [12]. Как стомациты, так и эхиноциты появляются в пробах крови при воздействии на эритроциты различных физических и химических факторов: изменения ионного состава, осмолярности и рН плазмы, действия токсичных веществ. Содержание этих форм клеток в крови у человека увеличивается также при онкологических заболеваниях (эхиноциты), вибрационной болезни, парентеральном питании [23, 24].

В целом, описанные в данной работе изменения морфологии эритроцитов говорят о грубых нарушениях их структуры через сутки после кровопотери и реинфузии («старение» крови) и о высокой эффективности перфторана в предотвращении развития этих нарушений. Наиболее вероятным механизмом подобного действия перфторана является его мембраностабилизирующее и цитопротекторное действие на эритроцит, что сопровождается улучшением его деформируемости, агрегационных свойств, устойчивости к гипоксии и гемолизу [8, 9, 28] и, следовательно, приводит к улучшению микроциркуляции крови.

Существенные отличия между контрольной и опытной группами наблюдались и при оценке регенераторной способности костного мозга по содержанию ретикулоцитов в периферической крови (табл. 2). Так, по сравнению с интактными животными в контрольной группе происходило снижение процентного содержания ретикулоцитов в 4,5 раза, в то время как на фоне введения перфторана — эта величина увеличивалась в 2,2 раза. Механизмы развития супрессии эритропоэза в первые сутки после кровопотери различны и включают в себя: дестабилизацию генома гемопоэтических клеток, схожую по своим проявлениям с действием на них радиационного облучения [13]; усиление апоптоза клеток-предшественниц эритропоэза под воздействием провоспалительных цитокинов; замедление их пролиферации и дифференцировки в зрелые формы эритро-

plasma, toxins actions. Content of these cells in human blood is increased in cancer (echinocytes), vibration disease, parenteral nutrition [23, 24].

In general, the changes of erythrocyte morphology described in this paper disclose serious structural alterations («aging» of blood) a day after the blood loss and autotransfusion and the high efficiency of Perftoran in preventing these disorders. The most probable mechanism of this action of Perftoran is its membrane- and cytoprotective effect on erythrocytes, which is accompanied by improvement of their deformability, aggregation properties, resistance to hypoxia and hemolysis [8, 9, 28] that result in improved microcirculation.

Evaluation of bone marrow regenerative ability revealed significant differences between the control and test groups. Specifically, the content of reticulocytes in the peripheral blood was 4,5 times decreased compared to the intact animals from control group (Table 2). Perftoran administration increased this values 2.2-fold. The mechanisms of erythropoiesis suppression on the first days after blood loss varied and include: destabilization of the genome of hematopoietic cells similarly to manifestations following radiation exposure [13]; increased apoptosis of progenitor cells induced by proinflammatory cytokines; slowing progenitors proliferation and differentiation into mature erythrocytes; accelerated output of immature progenitor cells into peripheral circulation; alterations of iron metabolism in bone marrow [14, 29]. It should be noted that these pathogenic factors act on the background of increased serum erythropoietic activity (increased production of erythropoietin and up-regulation of erythropoietin receptors) [14, 30]. First days after trauma and blood loss there is an increased DNA damage and apoptotic and necrotic white blood cells death [31]. In addition, the increased sympathetic nervous system activity and excess of catecholamines significantly contribute to development of bone marrow dysfunction after trauma and hemorrhage [29]. Under these conditions, both prophylactic and therapeutic use of nonselective beta-blockers prevented development of erythropoiesis suppression and anemia. It can be hypothesized that preliminary administration of Perftoran not only stabilizes the erythrocyte membrane in the peripheral blood, but also protects the bone marrow cells from hypoxia and other adverse factors associated with blood loss and autotransfusion (systemic inflammatory response, metabolic disorders, catecholamines excess). Thereby Perftoran might contribute to improving the functional activity of bone marrow.

Conclusion

1. The day after the blood loss and autotransfusion there is a reduction in levels of hemoglobin, hematocrit and serum iron concentration. Total cholesterol level is increased. Administration of Perftoran at a dose of 3 ml/kg prior to blood loss improves the values of hemoglobin, hematocrit and serum iron, and reduces the severity of hypercholesterolemia.

цитов; ускоренный выход незрелых клеток-предшественниц эритропоэза в периферическое русло; нарушение обмена железа в костном мозге [14, 29]. Следует отметить, что перечисленные патогенетические факторы действуют на фоне увеличенной эритропоэтической активности сыворотки крови (возрастает продукция эритропоэтина и экспрессия эритропоэтиновых рецепторов) [14, 30]. В первые дни после травмы и кровопотери отмечено увеличение ДНК-повреждений и усиление процессов гибели белых клеток крови по некротическому и апоптотическому механизму [31]. Также показана важная роль повышения активности симпатической нервной системы и гиперкатехоламинемии в развитии дисфункции костного мозга после травмы и кровопотери [29]. При этом как профилактическое, так и терапевтическое применение неселективных бета-блокаторов в значительной степени предупреждает развитие супрессии эритропоэза и анемии в этих условиях. Исходя из сказанного можно предположить, что предварительное введение перфторана не только стабилизирует мембраны эритроцитов в периферической крови, но и в некоторой степени защищает клетки костного мозга от гипоксии и других неблагоприятных факторов, связанных с кровопотерей и реинфузией крови (системная воспалительная реакция, метаболические нарушения, гиперкатехоламинемия). При этом улучшается функциональная активность костного мозга.

Выводы

1. Через сутки после кровопотери и аутогемотрансфузии происходит снижение уровня гемоглобина, гематокрита и концентрации сывороточного железа. Содержание общего холестерина при этом увеличивается. Введение перфторана в дозе 3 мл/кг массы тела до моделирования кровопотери способствует повышению показателей гемоглобина, гематокрита и сывороточного железа, и уменьшает выраженность гиперхолестеринемии.

Литература

- Gutierrez G., Reines H.D., Wulf-Gutierrez M.E. Clinical review: hemorrhagic shock. *Crit. Care*. 2004; 8 (5): 373–381. PMID: 15469601
- Мороз В.В., Остапченко Д.А., Мещеряков Г.Н., Радаев С.М. Острая кровопотеря. Взгляд на проблему. *Анестезиология и реаниматология*. 2002; 6: 4–9. PMID: 12611147
- Vincent J.L., Baron J.F., Reinhart K., Gattinoni L., Thijs L., Webb A., Meier-Hellmann A., Nollet G., Peres-Bota D.; ABC (Anemia and Blood Transfusion in Critical Care) Investigators. ABC Investigators: anemia and blood transfusion in critically ill patients. *JAMA*. 2002; 288 (12): 1499–1507. PMID: 12243637
- Мороз В.В., Крылов Н.Л., Ивацкий Г.Р., Кайдаш А.Н., Онищенко Н.А. Применение перфторана в клинической медицине. *Анестезиология и реаниматология*. 1995; 6: 12–17. PMID: 8713413
- Воробьев С.И. Биологические и физико-химические свойства неионогенных поверхностно-активных веществ — стабилизаторов эмульсий. *Рос. биотерапевт. журн.* 2009; 8 (3): 3–8.
- Мороз В.В., Голубев А.М., Афанасьев А.В., Кузовлев А.Н., Сергунова В.А., Гудкова О.Е., Черныш А.М. Строение и функция эритроцита в норме и при критических состояниях. *Общая реаниматология*. 2012; 8 (1): 52–60. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2012-1-52>
- Мороз В.В., Мязкова Е.А., Сергунова В.А., Гудкова О.Е., Остапченко Д.А., Черныш А.М., Решетняк В.И. Морфологические особенности эритроцитов у больных с тяжелой сочетанной травмой. *Общая реаниматология*. 2013; 9 (3): 14–23. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-3-14>

2. Preliminary administration of Perftoran increases an average diameter of discocytes and prevents the development of their transformation to echinocytes the day after blood loss and autotransfusion, indicating a lower severity of destructive changes in the cell membrane.

3. The day after the blood loss and autotransfusion the suppression of erythropoiesis becomes evident in bone marrow that is manifested by a significant reduction in the content of reticulocytes in peripheral blood. Preliminary administration of Perftoran improves the regenerative capacity of bone marrow, which is manifested by increasing reticulocytes content in the peripheral blood in comparison with intact animals.

Acknowledgements. The authors are sincerely grateful to Svetlana Malakhova for assistance in the laboratory tests during the experimental work.

2. Предварительное введение перфторана увеличивает средний диаметр дискоцитов и предупреждает развитие их эхиноцитарной трансформации через сутки после кровопотери и аутогемотрансфузии, что указывает на меньшую выраженность деструктивных изменений клеточной мембраны.

3. Через сутки после кровопотери и аутогемотрансфузии отмечается подавление эритропоэза в костном мозге, проявляющееся значительным снижением содержания ретикулоцитов в периферической крови. Предварительное введение перфторана улучшает регенераторные способности костного мозга, что проявляется увеличением содержания ретикулоцитов в периферической крови по сравнению с интактными животными.

Благодарность. Авторы искренне признательны Малаховой С. В. за помощь в проведении лабораторных исследований в ходе экспериментальной работы.

References

- Gutierrez G., Reines H.D., Wulf-Gutierrez M.E. Clinical review: hemorrhagic shock. *Crit. Care*. 2004; 8 (5): 373–381. PMID: 15469601
- Moroz V.V., Ostapchenko D.A., Meshcheryakov G.N., Radaev S.M. Ostraya krovopoteriya. Vzglyad na problemu. [Acute hemorrhage. View on the problem]. *Anesteziologiya i Reanimatologiya*. 2002; 6: 4–9. PMID: 12611147. [In Russ.]
- Vincent J.L., Baron J.F., Reinhart K., Gattinoni L., Thijs L., Webb A., Meier-Hellmann A., Nollet G., Peres-Bota D.; ABC (Anemia and Blood Transfusion in Critical Care) Investigators. ABC Investigators: anemia and blood transfusion in critically ill patients. *JAMA*. 2002; 288 (12): 1499–1507. PMID: 12243637
- Moroz V.V., Krylov N.L., Ivantskiy G.R., Kaidash A.N., Onishchenko N.A. Primenenie perftorana v klinicheskoi meditsine. [The use of perftoran in clinical medicine]. *Anesteziologiya i Reanimatologiya*. 1995; 6: 12–17. PMID: 8713413. [In Russ.]
- Vorobyev S.I. Biologicheskie i fiziko-khimicheskie svoystva neionogenykh poverkhnostno-aktivnykh veshchestv — stabilizatorov emulsiy. [Biological and physico-chemical properties of nonionic surfactants — emulsion stabilizer]. *Rossiyskiy Bioterapevticheskiy Zhurnal*. 2009; 8 (3): 3–8. [In Russ.]
- Moroz V.V., Golubev A.M., Afanasyev A.V., Kuzovlev A.N., Sergunova V.A., Gudkova O.E., Chernysh A.M. Stroenie i funktsiya eritrotsita v norme i pri kriticheskikh sostoyaniyakh. [The structure and function of a red blood cell in health and critical conditions]. *General Reanimatology*. 2012; 8 (1): 52–60. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2012-1-52>. [In Russ.]

Injury. Blood Loss

8. *Герасимов Л.В.* Гемореологические нарушения и гемолиз у больных с тяжелой сочетанной травмой и кровопотерей и их коррекция перфтораном: автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 2005: 26.
9. *Радаев С.М.* Структурные и функциональные свойства эритроцитов у больных с тяжелой травмой и кровопотерей: автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 2001: 24.
10. *Мороз В.В., Кирсанова А.К., Новодержкина И.С., Александрин В.В., Назарова Г.А.* Мембранопротекторное действие перфторана на эритроциты при острой кровопотере (экспериментальное исследование). *Общая реаниматология*. 2011; 7 (1): 5–10. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2011-1-5>
11. *Мороз В.В., Новодержкина И.С., Антошина Е.М., Афанасьев А.В.* Влияние перфторана на морфологию эритроцита при острой кровопотере. *Общая реаниматология*. 2013; 9 (5): 5–10. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-5-5>
12. *Новицкий В.В., Гольдберг Е.Д., Уразова О.И. (ред.)*. Патфизиология. 4-е изд., т.2. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2009: 640.
13. *Кожура В.Л., Кондакова Н.В., Заичкина С.И., Розанова О.М.* Дестабилизация генома при действии ионизирующей радиации и острой кровопотери. *Общая реаниматология*. 2007; 3 (1): 5–11. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2007-1-5-11>
14. *Robinson Y., Matenov A., Tschöke S.K., Weimann A., Oberholzer A., Ertel W., Hostmann A.* Impaired erythropoiesis after haemorrhagic shock in mice is associated with erythroid progenitor apoptosis *in vivo*. *Acta Anaesthesiol. Scand.* 2008; 52 (5): 605–613. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1399-6576.2008.01656.x>. PMID: 18419713
15. *Бельченко Д.И.* Микроциркуляция в красном костном мозге и элиминация миелокариотитов при острой кровопотере. *Регионарное кровообращение и микроциркуляция*. 2008; 7 (4): 53–56.
16. *Кожура В.Л.* Пластический обмен мозга при смертельной гиповолемической гипотензии и в постреанимационном периоде: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. М., 1981: 37.
17. *Bessis M.* Atlas of red blood cell shapes. N.-Y.: Springer-Verlag Berlin-Heidelberg; 1974: 21–101.
18. *Гольдберг Д.И., Гольдберг Е.Д.* Справочник по гематологии. Томск: изд-во ТГУ; 1971: 254.
19. *Орлов Ю.П., Иванов А.В., Долгих В.Т., Лукач В.Н., Чеснокова М.В., Притыкина Т.В., Петрова Ю.А., Верbitsкая В.С., Синеоков С.А.* Нарушения обмена железа в патогенезе критических состояний (экспериментальное исследование). *Общая реаниматология*. 2011; 7 (5): 15–19. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2011-5-15>
20. *van Iperen C.E., Kraaijenhagen R.J., Biesma D.H., Beguin Y., Marx J.J., van de Wiel A.* Iron metabolism and erythropoiesis after surgery. *Br. J. Surg.* 1998; 85 (1): 41–45. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2168.1998.00571.x>. PMID: 9462381
21. *Терешина Е.В.* Взаимодействие эмульсии перфторорганических соединений с дисперсной системой крови: автореф. дис. ... д-ра биол. наук. М., 2003: 44.
22. *Щербак Л.Н., Бессекеев А.А., Молчанова Л.В.* Влияние объема кровопотери у больных с тяжелой механической травмой на величину холестерина коэффициента атерогенности. *Общая реаниматология*. 2006; 2 (5–6): 44–49. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2006-6-44-49>
23. *Карташова Н.М., Кидалов В.Н., Наумова Э.М., Цогоев А.С.* К вопросу о физиологической значимости изменения формы, ультраструктуры и флуоресценции эритроцитов периферической крови при их трансформации в стоматоциты. *Вестн. новых мед. технологий*. 2005; 12 (1): 8–11.
24. *Кидалов В.Н., Сясин Н.И., Хадарцев А.А.* К вопросу о физиологической значимости изменений формы, ультраструктуры и флуоресценции эритроцитов периферической крови, трансформирующихся в эхиноциты. *Вестн. новых мед. технологий*. 2005; 12 (2): 6–9.
25. *Соколова И.А.* Агрегация эритроцитов. *Регионарное кровообращение и микроциркуляция*. 2010; 9 (4): 4–26.
26. *Мороз В.В., Голубев А.М., Черныш А.М., Козлова Е.К., Васильев В.Ю., Гудкова О.Е., Сергунова В.А., Фёдорова М.С.* Изменение структуры поверхности мембран эритроцитов при длительном хранении донорской крови. *Общая реаниматология*. 2012; 8 (1): 5–12. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2012-1-5>
27. *Мороз В.В., Голубев А.М., Козлова Е.К., Афанасьев А.В., Гудкова О.Е., Новодержкина И.С., Марченков Ю.В., Кузовлев А.Н., Заржецкий Ю.В., Костин А.И., Волков Д.П., Яковлев В.Н.* Динамика морфологических изменений эритроцитов и биохимических показателей консервированной цельной крови в различные сроки хранения. *Общая реаниматология*. 2013; 9 (1): 5–13. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-1-5>
28. *Кармен Н.Б.* Цитопротекция при гипоксических состояниях: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. М., 2008: 47.
29. *Mohr A.M., El Hassan I.O., Hamoush E.J., Sifri Z.C., Offin M.D., Alzate W.D., Rameshwar P., Livingston D.H.* Does beta blockade postinjury prevent bone marrow suppression? *J. Trauma*. 2011; 70 (5): 1043–1049. <http://dx.doi.org/10.1097/TA.0b013e3182169326>. PMID: 21610422
7. *Moroz V.V., Myagkova E.A., Sergunova V.A., Gudkova O.E., Ostapchenko D.A., Chernysh A.M., Reshetnyak V.I.* Morfoloicheskie osobennosti eritrotsitov u bolnykh s tyazheloi sochetannoi travmoi. *Obshchaya Reanimatologiya*. [Morphological features of red blood cells in patients with severe concomitant injury. *General Reanimatology*]. 2013; 9 (3): 14–23. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-3-14>. [In Russ.]
8. *Gerasimov L.V.* Gemoreologicheskie narusheniya i gemoliz u bolnykh s tyazheloi sochetannoi travmoi i krovopoterei i ikh korrektsiya perftoranom: avtoref. dis. ... kand. med. nauk. [Blood rheological disorders and hemolysis in patients with severe concomitant injury and blood loss and their correction with perfluorane: Abstract of Cand. Med. Sci. Thesis]. Moscow, 2005: 26. [In Russ.]
9. *Radaev S.M.* Strukturnye i funktsionalnye svoystva eritrotsitov u bolnykh s tyazheloi travmoi i krovopoterei: avtoref. dis. ... kand. med. nauk. [Red blood cell structural and functional properties in patients with severe injury and blood loss: Abstract of Cand. Med. Sci. Thesis]. Moscow, 2001: 24. [In Russ.]
10. *Moroz V.V., Kirsanova A.K., Novoderzhkina I.S., Aleksandrinn V.V., Nazarova G.A.* Membranoprotektrnoe deystvie perftorana na eritrotsity pri ostroi krovopotere (eksperimentalnoe issledovanie). *Obshchaya Reanimatologiya*. [Membrane-protecting effects of perfluorane on red blood cells in acute blood loss (an experimental study). *General Reanimatology*]. 2011; 7 (1): 5–10. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2011-1-5>. [In Russ.]
11. *Moroz V.V., Novoderzhkina I.S., Antoshina E.M., Afanasyev A.V.* Vliyaniye perftorana na morfologiyu eritrotsita pri ostroi krovopotere. *Obshchaya Reanimatologiya*. [Effect of perfluorane on the morphology of a red blood cell in acute blood loss. *General Reanimatology*]. 2013; 9 (5): 5–10. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-5-5>. [In Russ.]
12. *Novitsky V.V., Goldberg E.D., Urazova O.I. (red.)*. Patfiziologiya. 4-e izd., t.2. [Pathophysiology. 4th ed., t.2]. Moscow: GEOTAR-Media; 2009: 640. [In Russ.]
13. *Kozhura V.L., Kondakova N.V., Zaichkina S.I., Rozanova O.M.* Destabilizatsiya genoma pri deystvii ioniziruyushchei radiatsii i ostroi krovopoteri. *Obshchaya Reanimatologiya*. [Genome destabilization upon exposure to ionizing radiation and during acute blood loss. *General Reanimatology*]. 2007; 3 (1): 5–11. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2007-1-5-11>. [In Russ.]
14. *Robinson Y., Matenov A., Tschöke S.K., Weimann A., Oberholzer A., Ertel W., Hostmann A.* Impaired erythropoiesis after haemorrhagic shock in mice is associated with erythroid progenitor apoptosis *in vivo*. *Acta Anaesthesiol. Scand.* 2008; 52 (5): 605–613. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1399-6576.2008.01656.x>. PMID: 18419713
15. *Belchenko D.I.* Mikrotsirkulyatsiya v krasnom kostnom mozge i eliminatsiya mielokariotsitov pri ostroi krovopotere. [Microcirculation in bone marrow and elimination myelocaryocytes in acute blood loss]. *Regionarnoe Krovooobrashchenie i Mikrotsirkulyatsiya*. 2008; 7 (4): 53–56. [In Russ.]
16. *Kozhura V.L.* Plastichesky obmen mozga pri smertelnoi gipovolemicheskoi gipotenzii i v postreanimatsionnom periode: avtoref. dis. ... d-ra med. nauk. [Plastic brain metabolism in fetal hypovolemic hypotension and in the postresuscitation period: Abstract of Med. Doctor Thesis]. Moscow, 1981: 37. [In Russ.]
17. *Bessis M.* Atlas of red blood cell shapes. N.-Y.: Springer-Verlag Berlin-Heidelberg; 1974: 21–101.
18. *Goldberg D.I., Goldberg E.D.* Spravochnik po gematologii. [Handbook of hematology]. Tomsk: izd-vo TGU; 1971: 254. [In Russ.]
19. *Orlov Yu.P., Ivanov A.V., Dolgikh V.T., Lukach V.N., Chesnokova M.V., Pritykina T.V., Petrova Yu.A., Verbitskaya V.S., Sineokov S.A.* Narusheniya obmena zheleza v patogeneze kriticheskikh sostoyaniy (eksperimentalnoe issledovanie). *Obshchaya Reanimatologiya*. [Impaired iron metabolism in the pathogenesis of critical conditions (an experimental study). *General Reanimatology*]. 2011; 7 (5): 15–19. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2011-5-15>. [In Russ.]
20. *van Iperen C.E., Kraaijenhagen R.J., Biesma D.H., Beguin Y., Marx J.J., van de Wiel A.* Iron metabolism and erythropoiesis after surgery. *Br. J. Surg.* 1998; 85 (1): 41–45. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2168.1998.00571.x>. PMID: 9462381
21. *Tereshina E.V.* Vzaimodeystvie emulsii perftororganicheskikh soedinenii s dispersnoi sistemoi krovi: avtoref. dis. ... d-ra biol. nauk. [Interaction of organic perfluorane compound emulsion with the blood disperse system: Abstract of Biol. Doctor Thesis]. Moscow, 2003: 44. [In Russ.]
22. *Shcherbakova L.N., Bessekeyev A.A., Molchanova L.V.* Vliyaniye obyema krovopoteri u bolnykh s tyazheloi mekhanicheskoi travmoy na velichinu kholesterinovo koefitsienta aterogennosti. *Obshchaya Reanimatologiya*. [Impact of blood loss volume in patients with severe mechanical injury on the cholesterol atherogenicity index. *General Reanimatology*]. 2006; 2 (5–6): 44–49. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2006-6-44-49>. [In Russ.]
23. *Kartashova N.M., Kidalov V.N., Naumova E.M., Tsogoev A.C.* K voprosu o fiziologicheskoi znachimosti izmeneniya formy, ultrastrukturny i fluorestsentsii eritrotsitov perifericheskoi krovi pri ikh transformatsii v stomatotsity. [On the question concerning the physiological significance of changes of the form, ultrastructure and fluorescence of erythrocytes of

30. Зюзков Т.Н., Абрамова Е.В., Дыгай А.М., Гольдберг Е.Д. Реакции эритроидного ростка кроветворения и механизмы их развития при кровопотере. *Бюл. эксперим. биологии и медицины*. 2005; 139 (1): 32–37. PMID: 16142268
31. Мороз В.В., Мяжкова Е.А., Жанатаев А.К., Рябов Г.А., Остапченко Д.А., Дурнев А.Д., Решетняк В.И. Повреждения ДНК и процессы клеточной гибели лейкоцитов у пострадавших с тяжелой травмой. *Общая реаниматология*. 2014; 10 (4): 11–36. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2014-4-11-36>
- Поступила 10.01.2015**
24. Kidalov V.N., Syasin N.I., Khadartsev A.A. K voprosu o fiziologicheskoi znachimosti izmenenii formy, ultrastruktury i fluorestsentsii eritrotsitov perifericheskoi krovi, transformiruyushchikhhsya v ekhynotsity. [On the question concerning the physiological significance of changes of the form, ultrastructure and fluorescence of erythrocytes of peripheral blood during their transformation into echynocytes]. *Vestnik Novykh Meditsinskikh Tekhnologii*. 2005; 12 (1): 8–11. [In Russ.]
25. Sokolova I.A. Agregatsiya eritrotsitov. [Erythrocyte aggregation]. *Regionarnoe Krovoobrashchenie i Mikrotsirkulyatsiya*. 2010; 9 (4): 4–26. [In Russ.]
26. Moroz V.V., Golubev A.M., Chernysh A.M., Kozlova E.K., Vasilyev V.Yu., Gudkova O.E., Sergunova V.A., Fedorova M.S. Izmenenie struktury poverkhnosti membran eritrotsitov pri dlitelnom khranении donorskoi krovi. *Obshchaya Reanimatologiya*. [Structural changes in the surface of red blood cell membranes during long-term donor blood storage. *General Reanimatology*]. 2012; 8 (1): 5–12. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2012-1-5>. [In Russ.]
27. Moroz V.V., Golubev A.M., Kozlova E.K., Afanasyev A.V., Gudkova O.E., Novoderzhkina I.S., Marchenkov Yu.V., Kuzovlev A.N., Zarzhetsky Yu.V., Kostin A.I., Volkov D.P., Yakovlev V.N. Dinamika morfologicheskikh izmenenii eritrotsitov i biokhicheskikh pokazatelei konservirovannoi tselnoi krovi v razlichnye sroki khraneniya. *Obshchaya Reanimatologiya*. [Time course of morphological changes in red blood cells and stored whole blood biochemical parameters in different storage periods. *General Reanimatology*]. 2013; 9 (1): 5–13. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-1-5>. [In Russ.]
28. Karmen N.B. Tsitoprotektsiya pri gipoksicheskikh sostoyaniyakh: avtoref. dis. ... d-ra med. nauk. [Cytoprotection in hypoxic states: Abstract of Med. Doctor Thesis]. Moscow, 2008: 47. [In Russ.]
29. Mohr A.M., El Hassan I.O., Hannoush E.J., Sifri Z.C., Offin M.D., Alzate W.D., Rameshwar P., Livingston D.H. Does beta blockade postinjury prevent bone marrow suppression? *J. Trauma*. 2011; 70 (5): 1043–1049. <http://dx.doi.org/10.1097/TA.0b013e3182169326>. PMID: 21610422
30. Zyuzkov T.N., Abramova E.V., Dygai A.M., Goldberg E.D. Reaktsii eritroidnogo rostka krovetvoreniya i mekhanizmy ikh razvitiya pri krvopotere. [Reactions of the erythroid hemopoietic stem and their mechanisms during blood loss]. *Byulleten Eksperimentalnoi Biologii i Meditsiny*. 2005; 139 (1): 32–37. PMID: 16142268. [In Russ.]
31. Moroz V.V., Myagkova E.A., Zhanataev A.K., Ryabov G.A., Ostapchenko D.A., Durnev A.D., Reshetnyak V.I. Povrezhdeniya DNK i protsessy kletchnoi gibeli leukotsitov u posttradavshikh s tyazheloi travmoi. *Obshchaya Reanimatologiya*. [DNA damages and white blood cell death processes in victims with severe injury. *General Reanimatology*]. 2014; 10 (4): 11–36. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2014-4-11-36>. [In Russ.]

Submitted 10.01.2015