

Экспериментальное обоснование применения коллоидных кровезаменителей при жировой глобулемии

А. Ю. Яковлев¹, М. С. Белоус¹, А. А. Певнев¹, Д. В. Рябиков²

¹ Нижегородская областная клиническая больница им. Н. А. Семашко, Россия, 603126, г. Нижний Новгород, ул. Родионова, д. 190

² Городская клиническая больница № 13, Нижний Новгород, Россия, 603018, г. Нижний Новгород, ул. Патриотов, д. 51

Experimental Justification of the Use of Colloidal Blood Substitutes for Fat Globulemia

Alexey Yu. Yakovlev¹, Mikhail S. Belous¹, Alexey A. Pevnev¹, Dmitry V. Ryabikov²

¹ N. A. Semashko Nizhny Novgorod Regional Clinical Hospital, 190 Rodionova Str., 603126 Nizhny Novgorod, Russia

² City Clinical Hospital № 13, 51 Patriotov Str., 603018 Nizhny Novgorod, Russia

Цель исследования — оценить влияние коллоидных кровезаменителей на жировые глобулы в крови больных с тяжелой сочетанной травмой *in vitro*.

Материалы и методы. Перфторан, 5% раствор альбумина, декстран-40, декстран-60, модифицированный желатин, гидроксиэтилкрахмалы 200/0,5 и 130/0,42 вносили в кровь 19 пострадавших с тяжелой сочетанной травмой в соотношении 1:20, 1:10, 1:5 и 1:3, что соответствовало добавлению к 0,3 мл крови в пробирке 0,015 мл, 0,03 мл, 0,06 мл, 0,1 мл изучаемого кровезаменителя. Микроскопирование препаратов с оценкой количества и площади жировых глобул проводили с помощью микровизора медицинского проходящего света mVizo-101 (ЛОМО, Россия) через 30 минут экспозиции крови и кровезаменителя и последующей окраски препарата суданом IV. Обработку результатов осуществляли с помощью компьютерной программы JMicroVision 1.2.7.

Результаты. Декстран-60, гидроксиэтилкрахмалы 200/0,5 и 130/0,42 *in vitro* приводят к снижению количества жировых глобул в крови пострадавших с тяжелой сочетанной травмой пропорционально степени разведения. Модифицированный желатин, декстран-40, 5% раствор альбумина и перфторан обладают выраженным дополнительным эмульгирующим действием на жировые глобулы. Максимальный эмульгирующий эффект получен при добавлении в кровь Перфторана.

Заключение. Полученные в эксперименте данные о влиянии 5% раствора альбумина, модифицированного желатина, декстрана-40 и Перфторана на жировые глобулы открывают перспективу для их дальнейшего клинического применения для профилактики и лечения жировой эмболии.

Ключевые слова: жировая эмболия; жировые глобулы; перфторан; декстран-40; декстран-60; модифицированный желатин; альбумин; гидроксиэтилкрахмал 200/0,5 и 130/0,42

The purpose of the study is to assess *in vitro* the effect of colloidal blood substitutes on fat globules in the blood of patients with severe polytrauma.

Materials and methods. Perftoran, 5% albumin solution, dextran-40, dextran-60, modified gelatin, hydroxyethyl starches 200/0.5 and 130/0.42 were added to the blood of 19 patients with severe polytrauma at ratios 1:20, 1:10, 1:5 and 1:3, respectively, which corresponded to the addition of 0.015 ml, 0.03 ml, 0.06 ml, 0.1 ml of the blood substitute under test to 0.3 ml of blood in a tube. Microscopy of the samples with assessment of the number and area of fat globules was carried out using a transmitted-light medical microvisor mVizo-101 (LOMO, Russia) 30 minutes after the blood and blood substitute exposure and subsequent staining with Sudan IV. The findings were processed using JMicroVision 1.2.7 software.

Results. Dextran-60, hydroxyethyl starch 200/0.5 and 130/0.42 *in vitro* lead to a decrease in fat globules in the blood of patients with severe polytrauma in proportion to the dilution degree. Modified gelatin, dextran-40, 5% albumin solution and Perftoran have a significant additional emulsifying effect on the fat globules. The maximum emulsifying effect was obtained after addition of Perftoran to the blood.

Conclusion. The experimental data on the effect of 5% albumin solution, modified gelatin, dextran-40, and Perftoran on fat globules justify the prospect for their further clinical application for prevention and treatment of fat embolism in an extended clinical trials.

Keywords: fat embolism; fat globules; Perftoran; dextran-40; dextran-60; modified gelatin; albumin; hydroxyethyl starch 200/0.5 and 130/0.42.

DOI:10.15360/1813-9779-2018-5-50-57

Адресс для корреспонденции:

Алексей Яковлев
E-mail: aritnnru@list.ru

Correspondence to:

Alexey Y. Yakovlev
E-mail: aritnnru@list.ru

Введение

Жировая эмболия (ЖЭ) клиническое состояние, которое характеризуется нарушением функции легких и центральной нервной системы вследствие обтурации микрососудов крупными глобулами жира, наступающее преимущественно после тяжелых травм с переломами длинных трубчатых костей или костей таза [1, 2], но, встречающееся также и при других заболеваниях [3–5].

Несмотря на тот факт, что первые упоминания о наличии жира в капиллярах легких погибшего от торакоабдоминальной травмы датируются серединой XIX века, вопрос этиологии, патогенеза, лечения и профилактики жировой эмболии до сих пор остается открытым [6]. Вследствие того, что пока еще остается неизвестным основной источник появления в крови жировых глобул при тяжелой сочетанной травме, наряду с механической теорией до середины XX века было предложено несколько теорий развития ЖЭ. Одна из них связывает нарушение стабильности эмульсии эндогенных жиров в крови с резким изменением ее коллоидного состава, в том числе и за счет потери альбумина [7].

Результаты клинического применения у больных с тяжелой сочетанной травмой с целью профилактики ЖЭ глюкокортикостероидов, гепарина, этилового спирта, липостабила, эссенциале, препаратов для парентерального питания с разветвленными аминокислотами, декстрана-40 и других препаратов не дают однозначного ответа об эффектах и механизмах действия применяемых препаратов на жировые глобулы [8–11]. Поэтому до сих пор нет четких рекомендаций по лекарственной терапии и профилактики ЖЭ [12]. Инфузионные препараты широко применяются на догоспитальном и раннем госпитальном этапах оказания помощи пострадавшим с тяжелой сочетанной травмой. При выборе инфузионного коллоидного препарата для коррекции гиповолемии при травматическом шоке врачи в первую очередь ориентированы на онкотические характеристики кровезаменителя, его влияние на систему гемостаза и жизненно важные органы без учета воздействия на циркулирующие жировые глобулы [13]. Ранее нами было проведено пилотное экспериментальное исследование влияния 0,9% раствора NaCl, модифицированного желатина, 6% раствора гидроксиэтилкрахмала 130/0,42, декстрана 40 и декстрана 60 на жировые глобулы в соотношении 1мл крови : 0,5 мл исследуемого кровезаменителя [14]. Полученные результаты послужили основанием для детального изучения влияния коллоидных кровезаменителей на жировые глобулы в соотношениях, позволяющих применять исследуемые растворы в клинике без превышения предельной суточной дозировки.

Цель исследования — оценить влияние коллоидных кровезаменителей на жировые глобулы в крови пострадавших с тяжелой сочетанной травмой *in vitro*.

Introduction

Fat embolism (FE) syndrome is a clinical condition characterized by impaired lung and central nervous system functions due to obturation of microvessels by large fat globules; it develops mainly after severe injuries with fractures of long tubular bones or pelvic bones [1, 2], but also develops in other diseases and conditions [3–5].

Despite the fact that the first mentioning of the presence of fat in the lung capillaries of the deceased from thoracoabdominal trauma dates back to the middle of the XIX century, the question of etiology, pathogenesis, treatment and prevention of fat embolism still remains open [6]. Since the main source of fat globules in the blood after severe polytrauma is still unknown, several concepts of the FE have been proposed by the middle of the XX century in addition to the mechanical theory. One of them links the instability of the emulsion of endogenous blood fats with a sharp change in its colloidal composition, including that due to the loss of albumin [7].

Results of the clinical use of glucocorticosteroids, heparin, ethanol, Lipostabil, Essentiale, drugs for parenteral nutrition with branched-chain amino acids, dextran-40 and other drugs in patients with severe polytrauma for prevention of FE did not provide a clear answer about their effects and mechanisms of action on fat globules [8–11]. Therefore, there are still no clear recommendations on the drug treatment and prevention of FE [12]. Infusion drugs are widely used at prehospital and early hospital stages of care for patients with severe polytrauma. When choosing an infusion colloidal drug to correct hypovolemia in traumatic shock, doctors are primarily focused on the oncotic characteristics of the blood substitute, its effect on the hemostatic system and vital organs without taking into account the impact on circulating fat globules [13]. Previously, we conducted a pilot experimental study of the effect of 0.9% NaCl solution, modified gelatin, 6% hydroxyethyl starch solution 130/0.42, dextran-40 and dextran-60 on fat globules at a ratio of 1ml of blood: 0.5 ml of the blood substitute under test [14]. The obtained results became the basis for a detailed study of the effect of colloidal blood substitutes on fat globules at ratios that allow the use of the tested solutions in the clinical practice without exceeding the maximum daily dosage.

The purpose of the study is to assess *in vitro* the effect of colloidal blood substitutes on fat globules in the blood of patients with severe polytrauma.

Materials and Methods

A prospective, randomized, limited clinical study was conducted on 665 specimens obtained from the blood of 19 patients with severe polytrauma. A day after the trauma, 15 ml of blood was sampled from the central vein into vacuum BD Vacutainer tubes (Becton Dickinson and Company, USA) with 3.2% sodium citrate. 7 series of 7 tubes was

Материал и методы

Проспективное рандомизированное исследование провели на 665 препаратах, полученных из крови 19 пострадавших с тяжелой сочетанной травмой. Через сутки после травмы кровь в количестве 15 мл забирали из центральной вены в вакуумные пробирки BD Vacutainer (Becton Dickinson and Company, США) с 3,2 % цитратом натрия. Было сформировано 7 серий по 7 пробирок, в каждую из которых добавляли по 0,3 мл крови. В 1-й серии в кровь добавляли препарат модифицированного желатина («Гелофузин», В. Braun, Германия), во 2-й серии — препарат декстрана-40 («Декстран 40», «Истфарм», Россия), в 3-й серии — препарат декстрана-60 («Полиглюкин», «Биохимик», Россия), в 4-й серии — препарат 6% гидроксиэтилкрахмала (ГЭК) 130/0,42 («Венофундин», В. Braun, Германия), в 5-й серии — препарат 6% ГЭК 200/0,5 («Гемохес», В. Braun, Германия), в 6-й серии — 5% раствор альбумина («Микроген», Россия), в 7-й серии — перфторан (НПФ «Перфторан», Россия). В каждой серии в кровь добавляли исследуемые препараты в следующих соотношениях: 1:20, 1:10, 1:5, 1:3, что соответствовало добавлению к 0,3 мл крови в пробирке 0,015 мл, 0,03 мл, 0,06 мл, 0,1 мл изучаемого кровезаменителя. Препарат и кровь перемешивали путем пятикратного переворачивания пробирки. Экспозиция крови и введенного препарата в пробирке составляла 30 минут. После этого кровь в течение 10 минут центрифугировали при 2 тыс. оборотах. Из самого поверхностного слоя микропипеткой забирали 50 мкл плазмы и вносили ее в пробирку с 50 мкл красителя судан IV. Проводили смешивание плазмы и красителя трехкратным переворачиванием пробирки. Через 1 минуту из полученной смеси забирали 10 мкл, наносили на предметное стекло и исследовали препарат под микроскопом в луче дневного света. При увеличении в 100 раз данное количество препарата образует в среднем 16 полей зрения. Для микроскопического исследования проводили цифровое микрофотографирование всех полей зрения с помощью микровизора медицинского проходящего света mVizo-101 (ЛОМО, Россия) с обработкой результатов с помощью компьютерной программы JMicroVision 1.2.7.

Проводили подсчет всех жировых глобул размером более 1 мкм, дифференцированный подсчет глобул размером 1–7 мкм, 8–20 мкм, 21–50 мкм и более 50 мкм. Отдельно проводили подсчет эмболоопасных глобул размером более 7 мкм, а также суммарной площади жировых глобул размером более 1 мкм.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью программ Microsoft Excel и Statistica 6.0 по критериям непараметрической статистики, используя критерий сравнения Шапиро Уилка. Разницу считали статистически значимой при $p \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение

Проведенные исследования показали, что при добавлении в кровь больных препаратов декстран-60, ГЭК 200/0,5 и ГЭК 130/0,42 происходило снижение количества жировых глобул только пропорционально возникающей гемодилюции (табл. 1).

Следовательно, можно сделать вывод об отсутствии дополнительного эмульгирующего влияния этих препаратов на жировую глобулемию и перспектив их целенаправленного использования для

formed; 0.3 ml of blood was added to each of them. In the 1st series, a modified gelatin preparation was added to blood («Gelofusine», B. Braun, Germany); in the 2nd series, dextran-40 («Dextran 40», «East Pharm», Russia); in the 3rd series, a dextran-60 preparation («Polyglucin», «Biokhimik», Russia); in the 4th series, 6% hydroxyethyl starch (HES) 130/0.42 («Venofundin», B. Braun, Germany); in the 5th series, 6% HES 200/0.5 («Hemohes», B. Braun, Germany); in the 6th series, 5% albumin solution («Microgen», Russia); and in the 7th series, Perftoran was added (NPF «Perftoran», Russia). In each series, the drugs under test were added to the blood at the following ratios: 1:20, 1:10, 1:5 and 1:3, respectively, which corresponded to the addition of 0.015 ml, 0.03 ml, 0.06 ml, 0.1 ml of the blood substitute under test to 0.3 ml of blood in a tube. The drug and blood were mixed by a five-fold inversion of the tube. The exposure of blood and the introduced drug in the test tube was 30 minutes. After that, the blood was centrifuged for 10 minutes at 2 thousand rpm. 50 µl of plasma was taken from the surface layer with a micropipette and introduced into a test tube with 50 µl of Sudan IV. The plasma was mixed with the stain by a three-fold inversion of the tube. 10 µl of the obtained mixture was taken in a minute, then it was applied onto a slide, and the specimen was examined by a microscope in a beam of daylight. This amount of the drug forms an average of 16 fields of vision at the 100-fold magnification. Digital microphotography of all fields of vision was carried out for microscopic examination using a medical transmitted-light microvisor mVizo-101 (LOMO, Russia) with subsequent processing of the findings using JMicroVision 1.2.7 software.

All fat globules larger than 1 µm were counted; differential count of globules with a size of 1–7 µm, 8–20 µm, 21–50 µm and 50 µm was carried out. Globules with embolic potential larger than 7 µm and the total area of fat globules larger than 1 µm were calculated separately.

The statistical processing of the findings was performed by means of Microsoft Excel and Statistica 6.0 software by non-parametric statistics criteria using Shapiro Wilk test. Differences were considered to be statistically significant at $P \leq 0.05$.

Results and Discussion

Studies have shown that the addition of dextran-60, HES 200/0.5 and HES 130/0.42 to patient's blood resulted in a decrease in the number of fat globules only in proportion to the hemodilution (table).

Therefore, it can be concluded that there is no additional emulsifying effect of these drugs on fat globulemia and there are no prospects of their targeted use for the prevention and treatment of fat embolism in severe polytrauma, because the daily dosage of these drugs permitted in the clinic is less than the ratio of 1:3 studied in the experiment.

After *in vitro* addition of modified gelatin, dextran-40 and 5% albumin solution to the blood, we observed approximately the same effect on reduction of the number of large globules larger than 50 µm and 21–50 µm. A decrease in the number of globules larger than 50 µm after introduction of modified gelatin to the blood at a ratio of 1:3 was equal to 79%, after addition of dextran-40 and 5% albumin solution it was 85.7% and 79.7%, respectively. At that, the number of

Влияние инфузионных сред на состояние жировых глобул *in vitro*.
The effect of infusion media on the state of fat globules *in vitro*.

Series	Infusion drug	Values of parameters				
		Baseline	Infusion drug: blood ratio			
			1:20	1:10	1:5	1:3
The number of globules larger than 1 µm in the sample, pcs.						
1	Modified gelatin	105.6±11.6	111.3±14.5 ³⁴⁵⁷	116.7±10.5 ³⁴⁵⁷	149.8±16.8 ^{*3457}	183.2±20.2 ^{*M}
2	Dextran-40	104.7±10.5	116.4±14.0 ³⁴⁵⁷	123.0±11.1 ^{*3457}	151.0±18.1 ^{*3457}	179.8±18.0 ^{*3457}
3	Dextran-60	106.5±7.5	101.2±10.1 ¹²⁶⁷	95.9±8.6 ^{*1267}	85.2±8.5 ^{*1267}	74.6±5.2 ^{*1267}
4	HES 130/0.42	102.8±13.4	97.7±12.7 ¹²⁶⁷	92.5±8.3 ^{*1267}	82.2±10.7 ^{*1267}	72.0±9.4 ^{*1267}
5	HES 200/0.5	103.8±12.5	98.6±7.9 ¹²⁶⁷	93.4±8.4 ¹²⁶⁷	83.0±6.6 ^{*1267}	72.7±8.7 ^{*1267}
6	5% albumin solution	106.8±13.9	110.7±13.3 ³⁴⁵⁷	119.8±10.2 ³⁴⁵⁷	141.3±17.0 ^{*3457}	155.8±20.3 ^{*3457}
7	Perftoran	103.1±13.4	190.5±17.1 ^{*123456}	270.3±24.3 ^{*123456}	471±42.4 ^{*123456}	605.2±78.7 ^{*123456}
The number of globules larger than 50 µm in the sample, pcs.						
1	Modified gelatin	11.4±1.1	9.9±1.2 ^{*3457}	8.4±0.8 ^{*3457}	4.8±0.6 ^{*345}	2.4±0.2 ^{*345}
2	Dextran-40	12.9±0.9	10.5±1.1 ^{*3457}	9.0±0.8 ^{*3457}	5.1±0.5 ^{*345}	2.1±0.1 ^{*345}
3	Dextran-60	12.6±1.6	12.0±1.4 ¹²⁶⁷	11.3±1.0 ¹²⁶⁷	10.1±1.3 ^{*1267}	8.8±1.1 ^{*1267}
4	HES 130/0.42	13.1±1.6	12.4±1.0 ¹²⁶⁷	11.8±1.1 ¹²⁶⁷	10.5±0.8 ^{*1267}	9.2±1.1 ^{*1267}
5	HES 200/0.5	11.4±1.5	10.8±1.3 ¹²⁶⁷	10.3±0.9 ¹²⁶⁷	9.1±1.1 ^{*1267}	8.0±0.8 ^{*1267}
6	5% albumin solution	12.3±1.6	10.7±1.0 ^{*3457}	9.1±0.8 ^{*3457}	4.9±0.4 ^{*345}	2.5±0.3 ^{*345}
7	Perftoran	11.5±1.3	5.1±0.7 ^{*123456}	1.3±0.1 ^{*123456}	—	—
The number of 21–50 µm globules in the sample, pcs.						
1	Modified gelatin	14.3±1.0	12.8±1.3 ³⁴⁵⁷	11.3±1.0 ^{*3457}	6.5±0.6 ^{*3457}	3.1±0.2 ^{*3457}
2	Dextran-40	14.9±1.9	13.4±1.7 ³⁴⁵⁷	11.9±1.1 ^{*3457}	7.5±1.3 ^{*3457}	4.3±1.1 ^{*3457}
3	Dextran-60	15.7±1.8	14.9±1.2 ¹²⁶⁷	14.1±1.3 ¹²⁶⁷	12.6±1.0 ^{*1267}	11.0±1.3 ^{*1267}
4	HES 130/0.42	15.4±2.0	14.6±1.8 ¹²⁶⁷	13.9±1.2 ^{*1267}	12.3±1.5 ^{*1267}	10.8±1.4 ^{*1267}
5	HES 200/0.5	15.9±2.1	15.1±1.4 ¹²⁶⁷	14.3±1.3 ^{*1267}	12.7±1.1 ^{*1267}	11.1±1.4 ^{*1267}
6	5% albumin solution	15.2±1.7	13.7±1.8 ³⁴⁵⁷	10.9±1.1 ^{*3457}	7.7±1.0 ^{*3457}	4.5±0.4 ^{*3457}
7	Perftoran	14.4±1.4	10.1±1.2 ^{*123456}	4.5±0.4 ^{*123456}	1.7±0.2 ^{*123456}	0.5±0.1 ^{*123456}
The number of 8–20 µm globules in the sample, pcs.						
1	Modified gelatin	25.6±3.3	24.5±3.2*	23.4±2.1*	21.2±2.8*	19.0±2.5*
2	Dextran-40	25.9±3.1	24.5±2.0*	23.1±2.1*	20.3±1.6*	17.5±2.1*
3	Dextran-60	26.1±3.4	24.8±3.0*	23.5±2.1*	20.9±2.5*	18.3±2.4*
4	HES 130/0.42	26.4±3.4	25.1±2.3*	23.8±2.1*	21.1±1.9*	18.5±2.4*
5	HES 200/0.5	26.8±2.9	25.5±3.3*	24.1±2.2*	21.4±2.8*	18.8±2.1*
6	5% albumin solution	27.1±2.8	26.0±3.1*	24.9±2.2*	22.7±2.7*	20.5±2.1*
7	Perftoran	25.7±2.8	35.0±3.5 ^{*123456}	41.4±3.7 ^{*123456}	22.1±2.2*	15.2±1.1 ^{*123456}
The number of 1–7 µm globules in the sample, pcs.						
1	Modified gelatin	54.3±6.5	64.1±5.1 ^{*3457}	73.6±6.6 ^{*3457}	117.3±9.4 ^{*3457}	158.7±19.0 ^{*3457}
2	Dextran-40	51.0±6.6	68.0±8.2 ^{*3457}	79.0±7.1 ^{*3457}	118.1±14.2 ^{*3457}	155.9±17.1 ^{*3457}
3	Dextran-60	52.1±6.8	49.5±4.5 ^{*1267}	46.9±4.2 ^{*1267}	41.7±3.8 ^{*1267}	36.5±4.7 ^{*1267}
4	HES 130/0.42	47.9±5.3	45.5±5.9 ^{*1267}	43.13.9 ^{*1267}	38.3±5.0 ^{*1267}	33.5±3.3 ^{*1267}
5	HES 200/0.5	49.7±5.0	47.2±5.7 ^{*1267}	44.7±4.0 ^{*1267}	39.8±4.8 ^{*1267}	34.8±3.4 ^{*1267}
6	5% albumin solution	52.2±3.9	60.3±6.0 ^{*3457}	79.6±6.2 ^{*3457}	106.0±10.1 ^{*3457}	128.3±10.0 ^{*3457}
7	Perftoran	51.5±6.7	124.3±16.2 ^{*123456}	190.5±17.1 ^{*123456}	417.3±54.2 ^{*123456}	573.7±74.6 ^{*123456}
The number of globules larger than 7 µm in the sample, pcs.						
1	Modified gelatin	51.3±6.7	47.2±5.7	43.1±3.9 ^{*345}	32.5±3.9 ³⁴⁵⁷	24.5±3.2 ³⁴⁵⁷
2	Dextran-40	53.7±7.0	48.4±4.4	44.0±4.0 ^{*345}	32.9±3.0 ³⁴⁵⁷	23.9±3.1 ^{*3457}
3	Dextran-60	54.4±6.0	51.7±6.7	49.0±4.8 ^{*1267}	43.5±5.7 ^{*1267}	38.1±4.0 ^{*1267}
4	HES 130/0.42	54.9±5.5	52.2±6.3	49.4±4.6 ^{*1267}	43.9±5.3 ^{*1267}	38.4±3.8 ^{*1267}
5	HES 200/0.5	54.1±3.8	51.4±5.1	48.7±4.5 ^{*1267}	43.3±4.3 ^{*1267}	37.7±3.7 ^{*1267}
6	5% albumin solution	54.6±7.1	50.4±6.6	42.4±5.5 ^{*345}	35.3±4.6 ^{*3457}	27.5±2.9 ^{*3457}
7	Perftoran	51.6±6.2	50.2±4.0	38.4±4.6 ^{*12345}	23.8±1.9 ^{*123456}	15.7±1.9 ^{*123456}

Note. * — statistical significance in relation to the baseline; ¹²³⁴⁵⁶⁷ — statistical significance in relation to the corresponding experimental series at the same study stages.

Примечание. Для табл. и рис.: Series — серии; Infusion drug — инфузионный препарат; Baseline — исходные значения; blood — кровь; ratio — соотношение; Values of parameters — значения параметров; The number of globules ... in the sample, pcs. — количество глобул размером ... в препарате, шт.; larger than — более чем; Modified gelatin — модифицированный желатин. * — статистическая значимость относительно исходного состояния; ¹²³⁴⁵⁶⁷ — статистическая значимость относительно соответствующей серии эксперимента на одинаковых этапах исследования.

профилактики и лечения жировой эмболии при тяжелой сочетанной травме, так как разрешенные в клинике суточные дозировки этих препаратов меньше изучаемого соотношения 1:3 в эксперименте.

При добавлении *in vitro* в кровь препарата модифицированного желатина, декстрана-40 и 5%

globules larger than 1 µm increased by 73.5%, 71.7% and 45.9%, respectively. The growth in the number of globules was due to an increase in the number of small globules ranging in size from 1 to 7 µm, which confirms the emulsifying effect of the studied drugs. The number of globules with embolic potential larger than 7 µm de-

раствора альбумина нами отмечено примерно одинаковое влияние на снижение количества крупных глобул размером более 50 мкм и 21–50 мкм. При введении препарата модифицированного желатина в кровь в соотношении 1:3 снижение количества глобул размером более 50 мкм составило 79%, декстрана-40 — 85,7 и 5% раствора альбумина — 79,7%. При этом количество глобул размером более 1 мкм увеличилось на 73,5, 71,7 и 45,9% соответственно. Рост числа глобул произошел за счет увеличения количества мелких глобул размером от 1 до 7 мкм, что подтверждает эмульгирующее действие изучаемых препаратов. Количество потенциально эмболоопасных глобул размером более 7 мкм при добавлении модифицированного желатина в кровь в соотношении 1:3 уменьшилось на 52,3%, декстрана-40 — на 55,5 и 5% раствора альбумина — на 49,7%. Учитывая, что при добавлении в кровь препарата модифицированного желатина общая суммарная площадь жировых глобул размером более 7 мкм в препарате снизилась на 75,3%, можно утверждать, что количество эмболоопасного жира в крови уменьшилось соответственно полученному результату. Сходную динамику получили при добавлении в кровь декстрана-40 и 5% раствора альбумина.

Основное действие на жировые глобулы препарата модифицированного желатина, декстрана-40 и 5% раствора альбумина возможно основано на связывании доменами желатина, декстрана и альбумина свободных жирных кислот, входящих в состав жировых глобул и участвующих в слиянии глобул с увеличением их размера [15]. Альбумин участвует в мицеллярном катализе вазоактивных форм оксида азота. Каталитическая способность альбумина при связывании со свободными жирными кислотами снижается. В результате этого уменьшается количество низкомолекулярных S-нитрозотиолов, что может приводить к усугублению нарушений микроциркуляции в клинике [16, 17].

При добавлении *in vitro* Перфторана в кровь в соотношении 1:3 нами отмечено снижение количества глобул размером более 7 мкм на 69,6%. При соотношении 1:10 количество крупных глобул размером более 50 мкм уменьшилось на 88,5%, а при увеличении соотношения препарат:кровь — наиболее опасные в отношении эмболии артериол системы микроциркуляции крупные глобулы не определялись. Эмульгирующее действие Перфторана на жировые глобулы *in vitro* многократно превысило таковое у препарата модифицированного желатина, декстрана-40 и 5% раствора альбумина. Количество глобул размером более 1 мкм увеличилось в 2,6 раза за счет пропорционального снижения количества глобул размером более 7 мкм, с резким увеличением глобул размером от 1 до 7 мкм. Снижение суммарной площади крупных глобул после добавления Перфторана в кровь в соотношении 1:10 было сопоставимо с результатами,

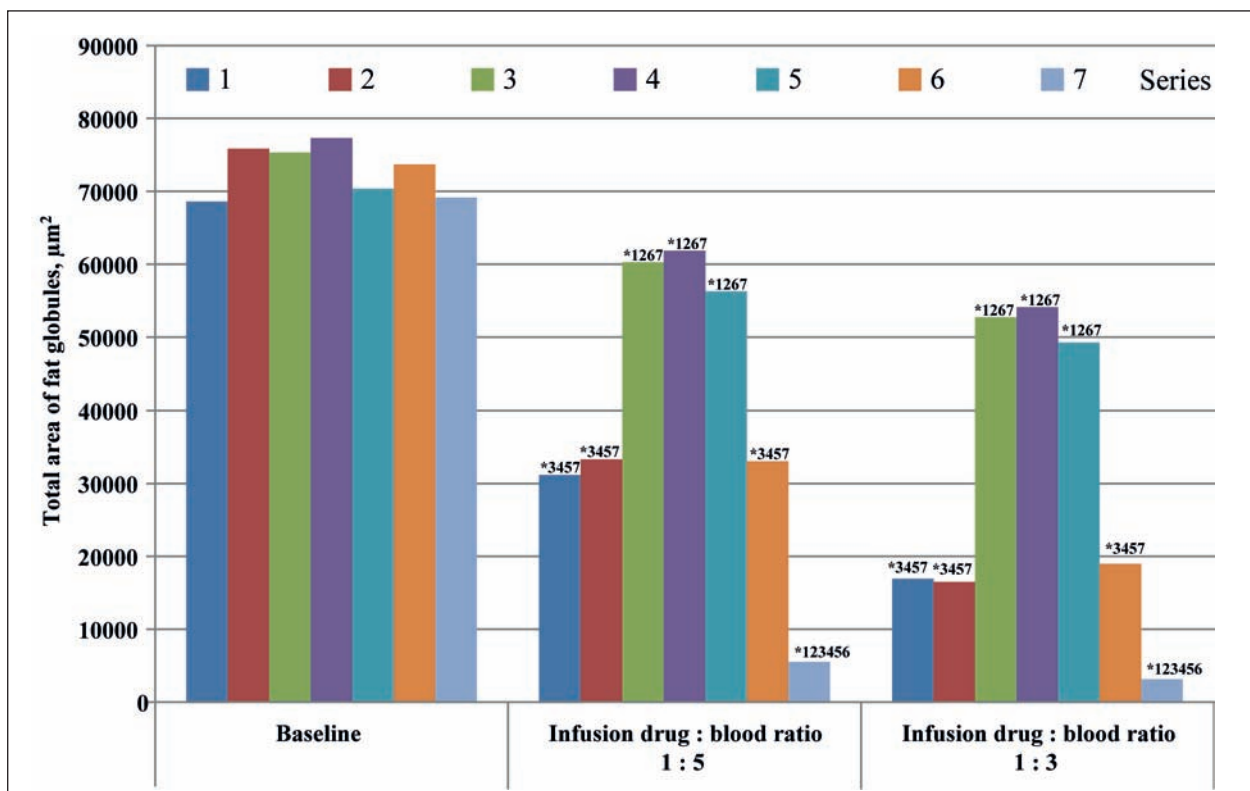
increased by 52.3% after addition of modified gelatin to the blood at a ratio of 1:3, by 55.5% after addition of dextran-40 and by 49.7% after 5% albumin solution. Since the total area of fat globules larger than 7 μm in the specimen decreased by 75.3 % after addition of modified gelatin to the blood, it can be concluded that the number fat with the embolic potential in the blood decreased in accordance with the obtained result. Similar dynamics was obtained after adding dextran-40 and 5% albumin solution to the blood.

The main effect of modified gelatin, dextran-40 and 5% albumin solution on fat globules is possibly based on the binding of free fatty acids (that are part of the fat globules and involved in merging of globules with a subsequent increase in their size) by gelatin, dextran and albumin domains [15]. Albumin is involved in the micellar catalysis of vasoactive forms of nitric oxide. The catalytic ability of albumin is reduced while binding to free fatty acids. As a result, the amount of low molecular weight S-nitrosothiols decreases that can worsen microcirculatory disorders in the clinical practice [16, 17].

When Perftoran is *in vitro* added to the blood at a ratio of 1: 3, we observed a 69.6% decrease in the number of globules larger than 7 μm . At a ratio of 1:10, the number of large globules larger than 50 μm decreased by 88.5%; and with an increase in the drug:blood ratio, large globules which were the most dangerous ones for the embolism of the arterioles of the microcirculation system were not determined. The emulsifying effect of Perftorane on fat globules *in vitro* exceeded that of modified gelatin, dextran-40, and 5% albumin solution manifold. The number of globules larger than 1 μm increased 2.6-fold due to a proportional decrease in the number of globules larger than 7 μm , with a sharp increase in globules ranging in size from 1 to 7 μm . The decrease in the total area of large globules after the addition of Perftoran to the blood at a ratio of 1:10 was comparable to the results obtained with the introduction of modified gelatin, dextran-40 and 5% albumin solution in the blood at a ratio of 1:3.

The effect of colloidal preparations on the total area off fat globules is presented in the figure.

A significantly more pronounced emulsifying effect of Perftoran found in the study can be associated not only with the binding of free fatty acids, but also with the presence of the superficially active substance proxanol-286 in the drug formulation [18]. In addition to the basic oxygen-transport properties of perfluorocarbon compounds, their corrective action on RBC membranes is known, thus preventing the development of the hypercoagulation phase of DIC syndrome [19, 20]. The reduction of the total area of fat globules after addition of modified gelatin, dextran-40, 5% albumin solution, and especially of Perftoran is a direct evidence of the reduction of the amount of fat with embolic potential in the blood, despite the increase in the number of globules larger than 1 μm .



Влияние коллоидных препаратов на суммарную площадь жировых глобул в препарате, мкм².

The effect of colloidal preparations on the total area off fat globules in a sample, µm².

Note. * — statistical significance in relation to the baseline; ¹²³⁴⁵⁶⁷ — statistical significance in relation to the corresponding experimental series at the same study stages.

Примечание. Total area of fat globules, µm² — суммарная площадь жировых глобул, мкм². * — статистическая значимость относительно исходного состояния; ¹²³⁴⁵⁶⁷ — статистическая значимость относительно соответствующей серии эксперимента на одинаковых этапах исследования.

полученными при введении модифицированного желатина, декстрана-40 и 5% раствора альбумина в кровь в соотношении 1:3.

Влияние коллоидных препаратов на суммарную площадь жировых глобул в препарате представлено на рисунке.

Обнаруженный достоверно более выраженный эмульгирующий эффект Перфторана может быть связан не только со связыванием свободных жирных кислот, но и с наличием в составе препарата поверхностно активного вещества проксанол-286 [18]. Помимо основных кислороднотранспортных свойств перфторуглеродных соединений известно их корригирующее действие на мембраны эритроцитов, препятствующее развитию гиперкоагуляционной фазы ДВС-синдрома [19, 20]. Уменьшение суммарной площади жировых глобул при добавлении препарата модифицированного желатина, декстрана-40, 5% раствора альбумина и особенно Перфторана является прямым свидетельством уменьшения количества потенциально эмболоопасного жира в крови, несмотря на увеличение количества глобул размером более 1 мкм. В прогностическом плане данная ситуация потенциально намного благоприятнее для пострадавших

From the prognostic point of view, this situation is potentially much more favorable for patients with severe polytrauma and other conditions dangerous for the development of fat embolism. When using colloidal drugs for the prevention and treatment of fat embolism, it is necessary to take into account not only the possibility of their potential impact on fat globules, but also the impact on systemic hemodynamics, hemostasis, organ dysfunction and the maximum permitted dosage of blood substitutes in the clinical practice.

Conclusion

Dextran-60, hydroxyethyl starch 200/0.5 and 130/0.42 *in vitro* lead to a decrease in fat globules in the blood of patients with severe polytrauma in proportion to the dilution degree. Modified gelatin, dextran-40, 5% albumin solution and Perftrpran have a pronounced additional emulsifying effect on the fat globules. Addition of 5% albumin solution, modified gelatin and dextran-40 to the blood at a ratio of 1: 3 leads to a decrease in the number of fat globules with embolic potential larger than 7 µm by 52.3%, 55.5% and 49.7%, respectively, which opens up prospects for the use of these colloidal blood substitutes for the early prevention of fat embolism in patients with se-

с тяжелой сочетанной травмой и другими состояниями, опасными в отношении развития жировой эмболии. При использовании коллоидных препаратов для предупреждения и лечения жировой эмболии необходимо учитывать не только возможность их потенциального воздействия на жировые глобулы, но и воздействие на системную гемодинамику, гемостаз, органную дисфункцию и максимально разрешенные в клинике дозировки кровезаменителей.

Заключение

Препараты декстран-60, ГЭК 200/0,5 и ГЭК 130/0,42 *in vitro* приводят к снижению количества жировых глобул в крови пострадавших с тяжелой сочетанной травмой пропорционально степени разведения. Модифицированный желатин, декстран-40, 5% раствор альбумина и перфторан обладают выраженным дополнительным эмульгирующим действием на жировые глобулы. Добавление 5% раствора альбумина, модифицированного желатина и декстрана-40 в кровь в соотношении 1:3 приводит к снижению количества потенциально эмболоопасных жировых глобул размером более 7 мкм соответственно на 52,3, 55,5 и 49,7%, что открывает перспективы применения этих коллоидных кровезаменителей с целью ранней профилактики жировой эмболии у больных с тяжелой сочетанной травмой с

vere polytrauma, taking into account the maximum permitted daily dosage of the drug. Among the studied drugs, *in vitro* Perfthoran has the maximum emulsifying effect, reducing the amount of fat globules larger than 7 μm by 69.6% when added to the blood at a ratio of 1:3 and completely emulsifying globules larger than 50 μm , which allows to continue the research on the clinical efficacy of this drug not only for the prevention of fat embolism, but also for its treatment.

The obtained results open up new opportunities for targeted use of infusion drugs in patients with severe polytrauma.

учетом максимально разрешенной суточной дозировки препарата. Перфторан обладает максимальным эмульгирующим действием среди изученных препаратов *in vitro*, снижая количество жировых глобул размером более 7 мкм при добавлении в кровь в соотношении 1:3 на 69,6%, полностью эмульгируя глобулы размером более 50 мкм, что позволяет продолжить исследования клинической эффективности этого препарата не только с целью профилактики жировой эмболии, но и для ее лечения.

Полученные результаты открывают новые возможности целенаправленного применения инфузионных препаратов у пострадавших с тяжелой сочетанной травмой.

Литература

1. Kwiatt M.E., Seamon M.J. Fat embolism syndrome. *Int. J. Crit. Illn. Inj. Sci.* 2013; 3 (1): 64–68. DOI: 10.4103/2229-5151.109426. PMID: 23724388
2. Kosova E., Bergmark B., Piazza G. Fat embolism syndrome. *Circulation.* 2015; 131 (3): 317-320. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.114.010835. PMID: 25601951
3. George J., George R., Dixit R., Gupta R.C., Gupta N. Fat embolism syndrome. *Lung India.* 2013; 30 (1): 47-53. DOI: 10.4103/0970-2113.106133. PMID: 23661916
4. Cárdenas-Camarena L., Gerardo L. P. A., Durán H., Bayter-Marín J. E. Strategies for reducing fatal complications in liposuction. *Plast. Reconstr. Surg. Glob. Open.* 2017; 5 (10): e1539. DOI: 10.1097/GOX.0000000000001539. PMID: 29184746
5. Dhakal L.P., Bourgeois K., Barrett K.M., Freeman W.D. The "starfield" pattern of cerebral fat embolism from bone marrow necrosis in sickle cell crisis. *Neurohospitalist.* 2015; 5 (2): 74-76. DOI: 10.1177/1941874414554300. PMID: 25829988
6. Zenker F.A. Beitrage zur anatomie und physiologie der lunge. *J. Braunsdorf.* 1861.
7. Lehman E.P., Moore R.M. Fat embolism, including experimental production without trauma. *Arch. Surg.* 1927; 14: 621. DOI: 10.1001/archsurg.1927.01130150002001
8. Agarwal A.K., Sen R., Tripathy S.K., Aggarwal S., G N., Gupta D. Is there any role of inhalational corticosteroids in the prophylaxis of post-traumatic fat embolism syndrome? *Cureus.* 2015; 7 (9): e332. DOI: 10.7759/cureus.332. PMID: 26543690
9. Sen R.K., Tripathy S.K., Krishnan V. Role of corticosteroid as a prophylactic measure in fat embolism syndrome: a literature review. *Musculoskelet Surg.* 2012; 96 (1): 1-8. DOI: 10.1007/s12306-011-0156-1. PMID: 21773697
10. Sen R.K., Prakash S., Tripathy S.K., Agarwal A., Sen I.M. Inhalational Ciclesonide found beneficial in prevention of fat embolism syndrome and improvement of hypoxia in isolated skeletal trauma victims. *Eur. J. Trauma Emerg. Surg.* 2016; 43 (3): 313-318. DOI: 10.1007/s00068-016-0633-1. PMID: 26781645
11. Liu X.M., Huang J.C., Wang G.D., Lan S.H., Wang H.S., Pan C.W., Zhang J.P., Cai X.H. Clinical effectiveness analysis of dextran 40 plus dexamethasone on the prevention of fat embolism syndrome. *Int. J. Clin. Exp. Med.* 2014; 7 (8): 2343-2346. PMID: 25232433

References

1. Kwiatt M.E., Seamon M.J. Fat embolism syndrome. *Int. J. Crit. Illn. Inj. Sci.* 2013; 3 (1): 64–68. DOI: 10.4103/2229-5151.109426. PMID: 23724388
2. Kosova E., Bergmark B., Piazza G. Fat embolism syndrome. *Circulation.* 2015; 131 (3): 317-320. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.114.010835. PMID: 25601951
3. George J., George R., Dixit R., Gupta R.C., Gupta N. Fat embolism syndrome. *Lung India.* 2013; 30 (1): 47-53. DOI: 10.4103/0970-2113.106133. PMID: 23661916
4. Cárdenas-Camarena L., Gerardo L. P. A., Durán H., Bayter-Marín J. E. Strategies for reducing fatal complications in liposuction. *Plast. Reconstr. Surg. Glob. Open.* 2017; 5 (10): e1539. DOI: 10.1097/GOX.0000000000001539. PMID: 29184746
5. Dhakal L.P., Bourgeois K., Barrett K.M., Freeman W.D. The "starfield" pattern of cerebral fat embolism from bone marrow necrosis in sickle cell crisis. *Neurohospitalist.* 2015; 5 (2): 74-76. DOI: 10.1177/1941874414554300. PMID: 25829988
6. Zenker F.A. Beitrage zur anatomie und physiologie der lunge. *J. Braunsdorf.* 1861.
7. Lehman E.P., Moore R.M. Fat embolism, including experimental production without trauma. *Arch. Surg.* 1927; 14: 621. DOI: 10.1001/archsurg.1927.01130150002001
8. Agarwal A.K., Sen R., Tripathy S.K., Aggarwal S., G N., Gupta D. Is there any role of inhalational corticosteroids in the prophylaxis of post-traumatic fat embolism syndrome? *Cureus.* 2015; 7 (9): e332. DOI: 10.7759/cureus.332. PMID: 26543690
9. Sen R.K., Tripathy S.K., Krishnan V. Role of corticosteroid as a prophylactic measure in fat embolism syndrome: a literature review. *Musculoskelet Surg.* 2012; 96 (1): 1-8. DOI: 10.1007/s12306-011-0156-1. PMID: 21773697
10. Sen R.K., Prakash S., Tripathy S.K., Agarwal A., Sen I.M. Inhalational Ciclesonide found beneficial in prevention of fat embolism syndrome and improvement of hypoxia in isolated skeletal trauma victims. *Eur. J. Trauma Emerg. Surg.* 2016; 43 (3): 313-318. DOI: 10.1007/s00068-016-0633-1. PMID: 26781645
11. Liu X.M., Huang J.C., Wang G.D., Lan S.H., Wang H.S., Pan C.W., Zhang J.P., Cai X.H. Clinical effectiveness analysis of dextran 40 plus dexamethasone on the prevention of fat embolism syndrome. *Int. J. Clin. Exp. Med.* 2014; 7 (8): 2343-2346. PMID: 25232433

12. Плaxотина Е.Н., Боcharов С.Н., Творогова С.С., Дмитриева Л.А., Родионова Л.В., Кинаш И.Н. Эффективность лечения экспериментальной жировой эмболии наиболее часто применяемыми в клинической практике препаратами. *Бюл. ВСНЦ СО РАМН*. 2005; 6: 157–161.
13. Li S., Zou D., Qin Z., Liu N., Zhang J., Li Z., Shao Y., Deng K., Chen Y., Huang P. Non fracture-associated pulmonary fat embolism after blunt force fatality: case report and review of the literature. *Am. J. Forensic. Med. Pathol.* 2015; 36 (2): 61–65. DOI: 10.1097/PAF.0000000000000142. PMID: 25651164
14. Певнев А.А., Белоус М.С., Чистяков С.И., Яковлев А.Ю. Влияние коллоидных инфузионных растворов на жировые глобулы *in vitro*. *Соврем. технологии в медицине*. 2016; 8 (4): 306–308.
15. Титов В.Н., Рожкова Т.А., Амелюшкина В.А. Жирные кислоты, триглицериды, гипертриглицеридемия, гипергликемия и инсулин (патогенез, диагностика и лечение). М.: Инфра-М; 2016: 198. ISBN 978-5-16-011325-8
16. Rafikova O., Sokolova E., Rafikov R., Nudler E. Control of plasma nitric oxide bioactivity by perfluorocarbons: physiological mechanisms and clinical implications. *Circulation*. 2004; 110 (23): 3573–3580. DOI: 10.1161/01.CIR.0000148782.37563.F8. PMID: 15557364
17. Rafikova O., Rafikov R., Nudler E. Catalysis of S-nitrosothiols formation by serum albumin: the mechanism and implication in vascular control. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2002; 99 (9): 5913–5918. DOI: 10.1073/pnas.092048999. PMID: 11983891
18. Мороз В.В., Молчанова Л.В., Герасимов Л.В., Остапченко Д.А., Ершова Л.И., Лиховецкая З.М., Горбунова Н.А. Влияние перфторана на гемореологию и гемолиз у больных с тяжелой травмой и кровопотерей. *Общая реаниматология*. 2006; 2 (1): 5–11. DOI: 10.15360/1813-9779-2006-1-5-11
19. Мороз В.В., Рыжков И.А. Острая кровопотеря: регионарный кровоток и микроциркуляция (обзор, часть I). *Общая реаниматология*. 2016; 12 (2): 66–89. DOI: 10.15360/1813-9779-2016-2-56-65
20. Мороз В.В., Новодержкина И.С., Афанасьев А.В., Заржецкий Ю.В., Рыжков И.А., Козлова Е.К., Черныш А.М. Влияние перфторана на наноструктуру мембран дискоцита и стоматоцита после острой кровопотери. *Общая реаниматология*. 2017; 13 (2): 32–39. DOI: 10.15360/1813-9779-2017-2-32-39
12. Plakhotina E.N., Bocharov S.N., Tvorogova S.S., Dmitrieva L.A., Rodionova L.V., Kinash I.N. The effectiveness of experimental fat embolism treatment with preparations more often used in clinical practice. *Byulleten VSNTs SO RAMN*. 2005; 6: 157–161. [In Russ.]
13. Li S., Zou D., Qin Z., Liu N., Zhang J., Li Z., Shao Y., Deng K., Chen Y., Huang P. Non fracture-associated pulmonary fat embolism after blunt force fatality: case report and review of the literature. *Am. J. Forensic. Med. Pathol.* 2015; 36 (2): 61–65. DOI: 10.1097/PAF.0000000000000142. PMID: 25651164
14. Pevnev A.A., Belous M.S., Chistyakov S.I., Yakovlev A.Yu. *In vitro* effect of colloid infusion solutions on fat globules. *Sovremennye Tekhnologii v Meditsine*. 2016; 8 (4): 306–308. [In Russ.]
15. Titov V.N., Rozhkova T.A., Amelyushkina V.A. Fatty acids, triglycerides, hypertriglyceridemia, hyperglycemia and insulin (pathogenesis, diagnosis and treatment). Moscow: Infra-M; 2016: 198. ISBN 978-5-16-011325-8. [In Russ.]
16. Rafikova O., Sokolova E., Rafikov R., Nudler E. Control of plasma nitric oxide bioactivity by perfluorocarbons: physiological mechanisms and clinical implications. *Circulation*. 2004; 110 (23): 3573–3580. DOI: 10.1161/01.CIR.0000148782.37563.F8. PMID: 15557364
17. Rafikova O., Rafikov R., Nudler E. Catalysis of S-nitrosothiols formation by serum albumin: the mechanism and implication in vascular control. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2002; 99 (9): 5913–5918. DOI: 10.1073/pnas.092048999. PMID: 11983891
18. Moroz V.V., Molchanova L.V., Gerasimov L.V., Ostapchenko D.A., Yershova L.I., Likhovetskaya Z.M., Gorbunova N.A. Blood rheological and hemolytic effects of perfluorane in patients with severe injury and blood loss. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2006; 2 (1): 5–11. DOI: 10.15360/1813-9779-2006-1-5-11. [In Russ., In Engl.]
19. Moroz V.V., Ryzhkov I.A. Acute blood loss: regional blood flow and microcirculation (review, part I). *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2016; 12 (2): 66–89. DOI: 10.15360/1813-9779-2016-2-56-65. [In Russ., In Engl.]
20. Moroz V.V., Novoderzhkina I.S., Afanasyev A.V., Zarzhetsky Y.V., Ryzhkov I.A., Kozlova E.K., Chernysh A.M. Effect of perfloran on membrane nanostructure of discocyte and stomatocyte after acute blood loss. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2017; 13 (2): 32–39. DOI: 10.15360/1813-9779-2017-2-32-39. [In Russ., In Engl.]

Поступила 02.04.18

Received 02.04.18

МЕЖДУНАРОДНЫЙ КАЛЕНДАРЬ КОНФЕРЕНЦИЙ АНЕСТЕЗИОЛОГОВ-РЕАНИМАТОЛОГОВ 2019

17–19 мая

XVI Всероссийская научно-образовательная конференция
«Рекомендации и индивидуальные подходы в анестезиологии и реаниматологии»
Геленджик, Россия • www.conf-airkuban.ru

1–3 июня

ЕВРОАНЕСТЕЗИЯ 2019 — Euroanaesthesia 2019 (Европейский анестезиологический конгресс)
Вена, Австрия • www.esahq.org

22–23 июня

Беломорский симпозиум VIII Всероссийская конференция с международным участием
Архангельск, Россия • www.anesth.ru

4–6 сентября

ЕАСТА Annual Congress 2019
Гент, Бельгия • www.eacta.org

4–6 октября

III съезд анестезиологов-реаниматологов северо-запада с участием медицинских сестер анестезистов
и IX Балтийский форум «Актуальные проблемы анестезиологии и реаниматологии»
Санкт-Петербург, Россия • www.anesth.ru

ноябрь

XI Euro Neuro
www.euroneuro2019.org