

Влияние трансфузии и гипоксии на клетки модели нейроваскулярной единицы *in vitro*

А. А. Ивкин^{1*}, Е. В. Григорьев¹, Е. Д. Хилажева², А. В. Моргун²

¹ НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний,
Россия, 650002, г. Кемерово, Сосновый бульвар, д. 6

² Красноярский государственный медицинский университет
им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава России,
Россия, 660022, Красноярский край, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 1

Для цитирования: А. А. Ивкин, Е. В. Григорьев, Е. Д. Хилажева, А. В. Моргун. Влияние трансфузии и гипоксии на клетки модели нейроваскулярной единицы *in vitro*. *Общая реаниматология*. 2024; 20 (1): 37–42. <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2024-1-2350> [На русск. и англ.]

*Адрес для корреспонденции: Артем Александрович Ивкин, ivkiaa@kemcardio.ru

Резюме

Частота развития послеоперационного делирия при коррекции врожденных пороков сердца (ВПС) достигает 57%. В поиске путей профилактики церебрального повреждения при коррекции ВПС у детей важным является вопрос — что опаснее: гипоксия при отказе от трансфузии или действие повышенного системного воспалительного ответа (СВО) при ее применении. Исследование действия гипоксии и СВО на клетки нейроваскулярной единицы (НВЕ) *in vitro* способствует решению данного вопроса.

Цель исследования — сравнить влияние гипоксии различной выраженности и системного воспалительного ответа на функциональную активность клеток нейроваскулярной единицы.

Материалы и методы. Сформировали *in vitro* модель НВЕ, состоящую из нейронов, астроцитов и эндотелиоцитов. Влияние гипоксии на НВЕ оценивали в контрольной (К) и 4 исследуемых (Г1–Г4) группах. Группы сформировали по содержанию O₂ в среде: К — стандартные условия культивирования: N₂ — 75%, O₂ — 20%, CO₂ — 5%; Г1: N₂ — 99%, O₂ — 1%; Г2: N₂ — 98%, O₂ — 2%; Г3: N₂ — 97%, O₂ — 3%; Г4: N₂ — 96%, O₂ — 4%. Значимость различий составила 0,0125. Влияние содержания интерлейкина-6 (ИЛ-6) на НВЕ определяли при культивировании клеток с добавлением сыворотки крови пациентов детского возраста с минимальным, либо максимальным напряжением СВО. Оценку провели в контрольной и 2 исследуемых группах: «Контроль» — интактная модель НВЕ; группы «Минимум» и «Максимум» — образцы с минимальным либо максимальным содержанием ИЛ-6 в культуре соответственно. Значимость различий составила 0,017. Инкубацию клеток проводили в режиме нормотермии в течение 30 мин. Затем оценивали функциональную активность клеток НВЕ методом измерения трансэндотелиального сопротивления (ТЭС) в течение 24 ч и измерения проницаемости для красителя Lucifer Yellow (LY) через 60 и 90 мин от начала эксперимента.

Результаты. После инкубации в условиях гипоксии изменения ТЭС наступили во всех исследуемых группах клеток. Однако, только в группе с 1% содержанием кислорода в среде они были статистически значимы. Снижения ТЭС в данной группе наблюдали через 2, 4 и 24 ч. Проницаемость клеток для красителя LY изменилась через 60 и 90 мин также только в условиях их инкубации в среде с 1% кислородом. При культивировании клеток НВЕ с сывороткой крови пациентов выявили минимальные значения ТЭС через 4 ч и их дальнейшее повышение через 24 ч для обеих исследуемых групп НВЕ. Проницаемость клеток для LY значительно изменилась к 60-й мин как в группе с минимальным, так и с максимальным содержанием ИЛ-6 в среде. При этом к 90-й мин различий этого показателя в исследуемых группах и в контрольной группе уже не наблюдали.

Заключение. Напряженный СВО оказал более выраженное, но кратковременное действие на модель НВЕ, чем гипоксия. Гипоксия нарушила функциональную активность НВЕ только при концентрации кислорода в среде — 1%.

Ключевые слова: трансфузия; гипоксия; нейроваскулярная единица, системный воспалительный ответ, интерлейкин-6; церебральное повреждение; искусственное кровообращение; дети; кардиохирургия

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: исследование поддержано грантом Российского научного фонда № 22-15-00258, <https://rscf.ru/project/22-15-00258/>.

The Effect of Transfusion and Hypoxia on Cells in an *in vitro* Model of the Neurovascular Unit

Artem A. Ivkin^{1*}, Evgeny V. Grigoriev¹, Elena D. Khilazheva², Andrey V. Morgun²

¹ Research Institute of Complex Problems of Cardiovascular Disease
6 Sosnovy bulvar, 650002 Kemerovo, Russia

Summary

Up to 57% of patients develop postoperative delirium after surgery for congenital heart defects (CHD). To reduce cerebral damage in pediatric patients during CHD surgery it is important to find out what inflicts the worse damage: would it be a systemic inflammatory response (SIR) triggered by transfusion, or hypoxia developed in non-transfused patients? *In vitro* evaluation of hypoxia and SIR effects on the neurovascular unit (NVU) cells might contribute to finding the answer.

The aim of the study was to compare the effect of varying severity hypoxia and SIR on the functional activity of NVU cells *in vitro*.

Materials and methods. An *in vitro* NVU model was designed including neurons, astrocytes and endothelial cells. The effect of hypoxia on NVU was evaluated in the control (C) and 4 study groups (H 1–4), formed based on O₂ content in the medium. The C group NVU were cultivated in standard conditions: N₂ — 75%, O₂ — 20%, CO₂ — 5%; H1: N₂ — 99%, O₂ — 1%; H2: N₂ — 98%, O₂ — 2%; H3: N₂ — 97%, O₂ — 3%; H4: N₂ — 96%, O₂ — 4%. The significance of the differences was 0.0125. The effect of interleukin-6 (IL-6) content on NVU was measured by adding to culture medium pediatric patients' serum with known minimal or maximal SIRS-response. The assessment was made in the Control — an intact NVU model, and 2 study groups — «Minimum» and «Maximum», i. e. samples with minimum or maximum IL-6 content in culture, respectively. The significance of the differences was 0.017. The cells were incubated at a normothermia regimen for 30 minutes. Then, the functional activity of NVU cells was evaluated by measuring transendothelial resistance (TER) for 24 hours and Lucifer Yellow (LY) permeability test at 60 and 90 minutes after the start of the experiment.

Results. After incubation under hypoxic conditions, TER changes occurred in all studied groups. However, they were statistically significant only in the group with 1% oxygen content in the medium. TER decrease in this group was observed after 2, 4 and 24 hours. LY permeability also changed at 60 and 90 minutes, similarly — in NVU cultivated with 1% oxygen in the medium. Minimal TER values were documented at 4 hours after patients' serum was added to NVU cells culture medium, and TER increased at 24 hours in both study groups. Cellular permeability to LY changed significantly after 1 hour exposure in both groups — with minimum and maximum IL-6 content in the medium. Although at 90 minutes, there was no difference between the 3 groups in LY permeability tests.

Conclusion. Intensive SIR demonstrated short-term but more deleterious than hypoxia, effect on cells in the NVU model. Hypoxia disrupted functional activity of NVU cells only at 1% O₂ concentration in the medium.

Keywords: transfusion; hypoxia; neurovascular unit; systemic inflammatory response; interleukin-6; cerebral damage; cardiopulmonary bypass; children; cardiac surgery

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Funding. The research was supported by No. 22-15-00258; <https://rscf.ru/project/22-15-00258/> grant from the Russian Science Foundation.

Read the full-text English version at www.reanimatology.com

Введение

Современная кардиохирургия и кардионаркология развиваются быстрыми темпами и все большее количество операций проводятся с использованием мини-инвазивных или эндоваскулярных технологий. Однако, коррекция врожденных пороков сердца (ВПС) у детей во многих случаях требует большого объема операции и применения искусственного кровообращения (ИК). Такие оперативные вмешательства несут угрозу повреждения головного мозга ребенка за счет большого количества патогенных факторов, исходящих, в первую очередь, от ИК. Воздействие ИК может быть, как непосредственным (эмболия, гипоксия, гемодинамические сдвиги), так и опосредованным, через инициацию системного воспалительного ответа (СВО) из-за контакта крови с экстракорпоральным контуром, гемолиза и нарушений нормального терморегуляционного режима [1–4]. Более того, головной мозг ребенка, особенно первого года жизни, имеет большое количество особенностей — в нем происходит активный

процесс дифференцировки нейронов и синаптогенеза, активный рост глиальных клеток и миелинизация, он обладает высокой гидрофильностью и скоростью метаболизма [5, 6]. Все это делает мозг уязвимым к любым патологическим факторам, чем и обусловлена такая высокая частота послеоперационных когнитивных расстройств. К примеру, частота развития послеоперационного делирия при коррекции ВПС достигает 57% [7]. Имеет немаловажное значение и то, что пока почти неизученным остается вопрос влияния какого-либо повреждения и дисфункции головного мозга в детском возрасте на дальнейшее развитие ребенка. При этом существуют исследования, доказывающие снижение когнитивных способностей у детей, перенесших кардиохирургическую операцию через год после нее [8].

Таким образом, актуальным является поиск путей профилактики церебрального повреждения при коррекции ВПС у детей. Одним из перспективных направлений является минимизация периоперационного использования

трансфузий. Данная стратегия основана на том, что компоненты донорской крови иницируют у пациента СВО, который в головном мозге реализуется как нейровоспаление с дальнейшим повреждением всей нейроваскулярной единицы (НВЕ), то есть комплекса из нейронов, астроцитов и эндотелиоцитов [2, 9]. Однако, необходимо понимать, что, отказываясь от трансфузии эритроцитсодержащих компонентов донорской крови, мы допускаем риск развития гемической гипоксии из-за гемодилюции, возникающей во время ИК. По этой причине важным является вопрос — что опаснее для НВЕ: гипоксия при отказе от трансфузии или действие повышенного СВО при ее применении? Ответ на этот вопрос невозможно получить в клиническом исследовании, так как оно представляет опасность для пациентов. Тем не менее, решение есть, и это — использование клеточной модели *in vitro* [10] для сравнения влияния гипоксии различной выраженности и системного воспалительного ответа на функциональную активность клеток НВЕ, что и явилось целью нашего исследования.

Материал и методы

В распоряжении имелась коллекция сыворотки крови 78 пациентов детского возраста — от 1 мес. до 6,5 лет (13 [9–23] мес.) с массой тела от 3,3 до 21,5 кг (8,7 [6,9–11,0] кг), которым проводилась оперативная коррекция септальных врожденных пороков сердца в условиях ИК на базе НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний. В каждом образце определили концентрацию интерлейкина-6 (ИЛ-6), как одного из главных показателей СВО [11]. На этап исследования *in vitro* отобрали по 3 образца сыворотки из данной коллекции с наибольшей и наименьшей концентрацией ИЛ-6. Замороженную сыворотку транспортировали с соблюдением температурной цепочки в Красноярский государственный медицинский университет им. профессора В. Ф. Войно-Ясенецкого (КрасГМУ).

В лаборатории КрасГМУ разработали способ оценки повреждения головного мозга при кардиохирургических операциях на основе клеточной модели нейроваскулярной единицы, которая может культивироваться в различных условиях, имитирующих факторы интраоперационного периода.

Получение первичных культур клеток головного мозга *in vitro*. Использовали первичные культуры клеток эндотелия, астроцитов и нейронов головного мозга, полученных из крыс линии Wistar. Животных содержали в клетках со свободным доступом к корму и воде. Поддерживали постоянную температуру $21 \pm 1^\circ\text{C}$. Световой цикл составлял 12 ч день/12 ч ночь. Исследования на животных проводили в соответствии с соблюдением принципов гуманности, изложенных в Директиве Европейского сообщества

(2010/63/EC). Общее количество животных — $n=10$.

Для получения клеточной модели НВЕ *in vitro* потребовалось несколько этапов:

1. Выделение церебральных эндотелиоцитов.
2. Выделение и культивирование нейросфер.
3. Получение астроцитов и нейронов из полученных нейросфер путем направленной дифференцировки в астроциты и нейроны.

4. Формирование модели НВЕ *in vitro*. Для этого смесь эндотелиоцитов и нейронов помещали на дно лунок культурального планшета, затем устанавливали культуральные вставки (Corning-Costar, США), на которые помещали астроциты. Смесь клеток культивировали в среде, состоящей из DMEM с FBS, глутамином, смесью антибиотиков при 37°C с 5% CO_2 [12].

После формирования клеточной модели НВЕ проводили основной эксперимент.

Схема эксперимента. Для определения эффектов ИЛ-6 на клеточную модель НВЕ *in vitro* в культуральную среду добавляли образцы сыворотки крови с минимальной и максимальной концентрацией ИЛ-6.

Сформировали группы в зависимости от концентрации ИЛ-6 в образце:

1. «Контроль» — интактная модель НВЕ.
2. «Минимум» — образцы с минимальным содержанием ИЛ-6 в культуре.
3. «Максимум» — образцы с максимальным содержанием ИЛ-6 в культуре.

Число повторности в группах инкубации с сывороткой — 10.

В соответствии с условиями гипоксической инкубации НВЕ сформировали группы:

1. Контрольная (К), стандартные условия культивирования:
 N_2 — 75%, O_2 — 20%, CO_2 — 5%.
2. Гипоксия 1 (Г1):
 N_2 — 99%, O_2 — 1%, CO_2 — 0%.
3. Гипоксия 2 (Г2):
 N_2 — 98%, O_2 — 2%, CO_2 — 0%.
4. Гипоксия 3 (Г3):
 N_2 — 97%, O_2 — 3%, CO_2 — 0%.
5. Гипоксия 4 (Г4):
 N_2 — 96%, O_2 — 4%, CO_2 — 0%.

Число повторности в группах гипоксической инкубации — 5.

Длительность инкубации — 30 мин. Температурный режим — нормотермия ($37,0^\circ\text{C}$).

Оценка функционирования НВЕ. Для оценки воздействия гипоксии и сыворотки крови с различным содержанием ИЛ-6 на клеточную культуру регистрировали трансэндотелиальное сопротивление и проницаемость эндотелиального слоя в модели НВЕ, как показателей функционирования гематоэнцефалического барьера.

Регистрацию трансэндотелиального сопротивления (ТЭС) в клеточной модели *in vitro* проводили через 1, 2, 4 и 24 ч культивирования. Непосредственное измерение трансэндотелиального электрического потенциала (TEER) производили эпителиальным

Таблица 1. Показатели ТЭС при инкубации клеток в условиях гипоксии.

Этапы измерения	Значения ТЭС в группах				
	К	Г1	Г2	Г3	Г4
0 ч	199,5 [197,25–201,5]	197,0 [196,75–199,25] $p=0,1533$	197,5 [196,25–199,25] $p=0,3316$	192,5 [190,75–195,0] $p=0,0407$	195,0 [194,75–196,5] $p=0,1169$
1 ч	204,25 [202,75–206,0]	191,0 [189,75–193,0] $p=0,03$	191,0 [189,5–192,5] $p=0,031$	191,0 [189,75–193,25] $p=0,033$	193,0 [191,5–195] $p=0,034$
2 ч	200,0 [196,75–203,5]	185,0 [182,25–187,25] $p=0,0105$	191,5 [188,75–194,75] $p=0,0407$	192,0 [187,5–195,0] $p=0,066$	193,0 [190,75–194,5] $p=0,0408$
4 ч	194,5 [193–195,75]	175,5 [174,5–176,75] $p=0,0105$	177,0 [175,75–178,25] $p=0,0151$	183,5 [182,0–185,5] $p=0,0329$	189,0 [187,5–191,25] $p=0,1441$
24 ч	203,0 [200,75–205,5]	141,0 [138,75–143,0] $p=0,0105$	162,0 [160,0–164,0] $p=0,021$	179,5 [175,0–183,25] $p=0,0152$	192,0 [191,0–192,75] $p=0,0531$

Примечание. Для табл. 1, 3, рис. 1, а: К — контрольная группа; Г — группы «гипоксия» 1–4.

вольтметром EVOM2 с использованием электрода STX2 (World Precision Instruments, США).

Для оценки проницаемости в культуральную среду добавляли флуоресцентный краситель Lucifer Yellow (LY) в конечной концентрации 50 мкМ. Через 60 и 90 мин среду собирали из нижнего отсека лунок и оценивали оптическую плотность раствора на спектрофлуориметре-спектрофотометре СМ 2203 («СОЛАР», Беларусь). По изменению концентрации LY в опытных группах по сравнению с контрольной высчитывали относительную проницаемость.

Данные обрабатывали статистически с помощью программы BioStat Pro 5.9.8. Данные в тексте, таблицах и на рисунках представили в виде медианы (Me), верхнего (Q1) и нижнего (Q3) квартилей так как большинство данных имело характер распределения, отличный от нормального (критерий Шапиро–Уилка, $p<0,05$). Количественные переменные сравнивали с использованием одностороннего критерия Манна–Уитни. Статистически значимыми считали различия при $p<0,05$. Для сравнения нескольких групп использовали поправку Бонферони.

Влияние гипоксии на НВЕ оценивали в 4 исследуемых и одной контрольной группе, значимость различий составила 0,0125. Влияние ИЛ-6 на НВЕ — в двух исследуемых группах и одной контрольной, значимость различий составила 0,017.

Результаты и обсуждение

При оценке влияния условий гипоксии на НВЕ (табл. 1, рис. 1, а) через 1 ч от ее воздействия

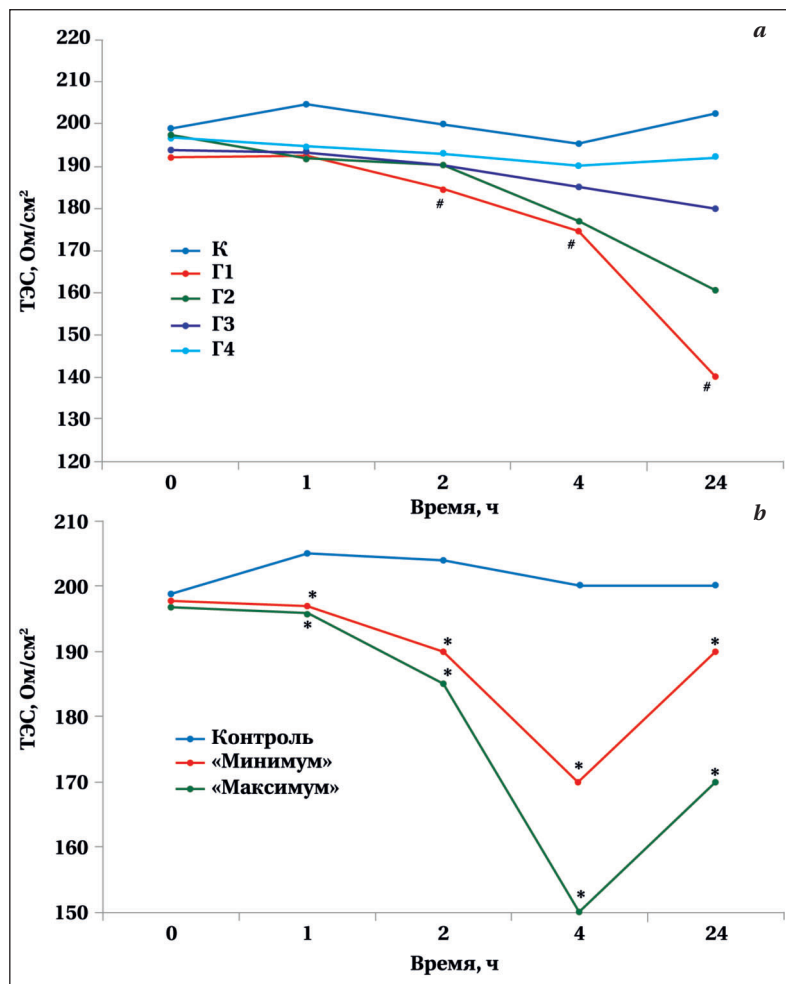


Рис. Влияние гипоксии (а) и сыворотки крови пациентов с различным содержанием ИЛ-6 (б) на показатель трансэндотелиального сопротивления.

Примечание. # — $p<0,0125$, * — $p<0,017$, критерий Манна–Уитни с поправкой Бонферони.

показатель трансэндотелиального сопротивления (ТЭС) не значительно снизился во всех группах, в среднем на 7%.

Через 2, 4 и 24 ч снижение ТЭС фиксировали во всех группах, но статистически значимым оно было только в группе с содержанием кис-

Таблица 2. Показатели ТЭС при инкубации клеток с сывороткой крови.

Этапы измерения	Значения ТЭС в группах		
	Контроль	«Минимум»	«Максимум»
0 ч	198,0 [197,0–200,0]	199,0 [197,0–199,0] $p=0,25$	197,0 [195,0–198,0] $p=0,073$
1 ч	206,0 [205,0–207,0]	197,0 [196,0–198,0] $p=0,00027$	196,0 [196,0–197,0] $p=0,00016$
2 ч	203,0 [202,0–204,0]	190,0 [188,0–192,0] $p=0,00017$	185,0 [185,0–188,0] $p=0,00016$
4 ч	200,0 [196,0–203,0]	168,0 [168,0–170,0] $p=0,00016$	151,0 [148,0–152,0] $p=0,00017$
24 ч	199,0 [198,0–202,0]	190,0 [188,0–192,0] $p=0,00020$	169,0 [169,0–172,0] $p=0,00031$

Таблица 3. Показатели относительной проницаемости (ОП) клеток при инкубации в условиях гипоксии.

Этапы измерения	Значения ОП в группах				
	К	Г1	Г2	Г3	Г4
60 мин	99,5 [98,0–101,5]	121,0 [117,5–124,25] $*p=0,01008$	119,5 [118,5–120,75] $p=0,0140$	100,5 [99,5–101,25] $p=0,44084$	101,0 [100,75–102,5] $p=0,37185$
90 мин	99,5 [99,0–100,0]	146,0 [143,75–148,0] $*p=0,00971$	139,0 [137,5–141,0] $p=0,01942$	110,0 [107,75–112,0] $p=0,03228$	107,0 [106,0–109,0] $p=0,05095$

Примечание. * — $p<0,0125$, критерий Манна–Уитни с поправкой Бонферони.

лорода в среде — 1 %. В данной группе через 2 ч ТЭС было снижено на 7,5%, через 4 ч — на 9,8% и через 24 ч — на 30,5%. В целом это подтверждает факт влияния даже краткосрочной гипоксии на величину ТЭС, однако демонстрирует разную степень влияния гипоксии на НВЕ в зависимости от процентного содержания кислорода в среде. Кроме того, учитывая отсутствие значимых изменений ТЭС в группах с 2, 3 и 4% кислородом, можно предположить, что умеренная краткосрочная гипоксия не нарушала функциональную активность НВЕ.

При оценке влияния ИЛ-6 на показатель ТЭС (рис. 1, б, табл. 2) выявили, что через 2 ч ТЭС в группе «Минимум» статистически значимо уменьшилось на 5%, а в группе «Максимум» — на 7,5%, по сравнению с контролем (рис. 1, б). Через 4 часа после воздействия ИЛ-6 показатель ТЭС снизился, по сравнению с контролем, на 15% в группе «Минимум» и на 25% в группе «Максимум». К 24 ч показатель величины ТЭС увеличился, но оставался статистически значимо ниже, чем в контрольной группе, в группе «Максимум», так и в группе «Минимум». Таким образом, влияние сыворотки крови, содержащей ИЛ-6, заключалось в уменьшении величины ТЭС, однако носило обратимый характер, причем это воздействие по сравнению с гипоксией было более выраженное и быстрое, но кратковременное. При этом отметили статистически значимую разницу показаний ТЭС между группами «Минимум» и «Максимум» в следующих

временных точках: 2 ч ($p=0,00640$), 4 ч ($p=0,00017$), 24 ч ($p=0,00016$), что приводит к заключению о разной степени повреждения НВЕ в зависимости от концентрации ИЛ-6 в среде, а, следовательно, от выраженности системного воспаления.

Величина ТЭС является показателем функционального состояния эндотелия гематоэнцефалического барьера, поэтому, в связи с ее изменениями, провели исследование проницаемости клеток для красителя LY (табл. 3, 4).

Проницаемость клеток для LY под влиянием кратковременной гипоксии увеличилась через 60 мин инкубации на 21,6% и через 90 мин — на 46,7% только в группе Гипоксия 1 (табл. 3).

Результаты оценки проницаемости клеток соотносились с изменениями ТЭС, свидетельствуя,

Таблица 4. Показатели относительной проницаемости (ОП) клеток при инкубации с сывороткой крови.

Этапы измерения	Значения ОП в группах		
	Контроль	«Минимум»	«Максимум»
60 мин	99,5 [98,75–100,5]	119,5 [118,75–121,0] $*p=0,01046$	114,5 [114,0–115,25] $*p=0,01470$
90 мин	99,5,0 [99,0–100,5]	106,5 [105,75–107,25] $p=0,05314$	109,5 [108,75–110,5] $p=0,03291$

Примечание. * — $p<0,017$, критерий Манна–Уитни с поправкой Бонферони.

в целом, о влиянии на НВЕ только предельно низкой концентрации кислорода в среде — 1%.

Влияние сыворотки крови пациентов на проницаемость клеток представили в табл. 4. Через 60 мин от воздействия наблюдали увеличение относительной проницаемости на 15–20% в обеих экспериментальных группах. Интересно, что через 90 мин проницаемость в контрольной и экспериментальных группах уже не различалась, что подтверждает предположение о быстром, но кратковременном и, возможно, обратимом эффекте сыворотки с ИЛ-6. При этом в группе с максимальным содержанием ИЛ-6 в среде значение проницаемости клеток для LY было статистически значимо выше ($p=0,01470$), чем в группе с минимальным его содержанием, что может подтверждать зависимость степени повреждения гематоэнцефалического барьера от выраженности системного воспаления.

Заключение

Исследование на клеточной модели НВЕ показало, что гипоксия продолжительностью 30 минут не оказывает значимого влияния на клетки головного мозга крыс. Изменения ТЭС и проницаемости клеток для LY наступали лишь при концентрации кислорода в среде — 1%. Воздействие сыворотки крови пациентов, содержащей ИЛ-6, приводило к более выраженному, но кратковременному повреждению НВЕ. Выраженность повреждения зависела от концентрации ИЛ-6 в среде, то есть — напряженности воспалительного ответа. Таким образом, можно предположить, что отказ от интраоперационной трансфузии как средство ограничения СВО и

гемическая гипоксия, как его следствие, окажут меньшее повреждающее действие на головной мозг пациента, чем инициированное трансфузией повышение активности системного воспаления.

С помощью исследования ТЭС и проницаемости для LY удалось выявить тенденции воздействия гипоксии и СВО на модель НВЕ.

Продолжение исследований с использованием маркеров функциональной активности НВЕ, таких как белок s100 β , нейронспецифическая енолаза, глиальный фибриллярный кислый белок, окклюдин, клаудин и ряда других, позволит дать подробную характеристику функциональной активности НВЕ под воздействием патологических факторов.

Литература

1. Guenther U., Theuerkauf N., Frommann I., Brimmers K., Malik R., Stori S., Scheidemann M., et al. Predisposing and precipitating factors of delirium after cardiac surgery: a prospective observational cohort study. *Ann Surg.* 2013; 257 (6): 1160–1167. DOI: 10.1097/sla.0b013e318281b01c. PMID: 23426334.
2. Hirata Y. Cardiopulmonary bypass for pediatric cardiac surgery. *Gen Thorac Cardiovasc Surg.* 2018; 66 (2): 65–70. DOI: 10.1007/s11748-017-0870-1. PMID: 29185163.
3. Engelman R., Baker R. A., Likosky D. S., Grigore A., Dickinson T. A., Shore-Lesserson L., Hammon J. W. The Society of Thoracic Surgeons, The Society of Cardiovascular Anesthesiologists, and The American Society of ExtraCorporeal Technology: Clinical practice guidelines for cardiopulmonary bypass — temperature management during cardiopulmonary bypass. *J Cardiothorac Vasc Anesth.* 2015; 29 (4): 1104–1113. DOI: 10.1053/j.jvca.2015.07.011. PMID: 26279227.
4. Борисенко Д. В., Ивкин А. А., Шукевич Д. Л., Корнелюк Р. А. Значение эритроцитсодержащих компонентов донорской крови в объеме первичного заполнения контура искусственного кровообращения в развитии системного воспаления при коррекции врожденных пороков сердца у детей. *Общая реаниматология.* 2022; 18 (3): 30–37. [Borisenko D., Ivkin A., Shukevich D., Kornelyuk R. The effect of erythrocyte — containing donor blood components in the priming of the cardiopulmonary bypass circuit on the development of systemic inflammation during correction of congenital heart defects in children. *General Reanimatology/Obshchaya Reanimatologiya.* 2022; 18 (3): 30–37. (in Russ&Eng.)). DOI: 10.15360/1813-9779-2022-3-30-37.
5. Hansen T. G. Anesthesia-related neurotoxicity and the developing animal brain is not a significant problem in children. *Paediatr Anaesth.* 2015; 25 (1): 65–72. DOI: 10.1111/pan.12548. PMID: 25266176.
6. Jevtovic-Todorovic V. General anesthetics and neurotoxicity: how much do we know? *Anesthesiol Clin.* 2016; 34 (3): 439–451. DOI: 10.1016/j.anclin.2016.04.001. PMID: 27521190.
7. Alvarez R. V., Palmer C., Czaja A. S., Peyton C., Silver G., Traube C., Mourani P. M., et al. Delirium is a common and early finding in patients in the pediatric cardiac intensive care unit. *J Pediatr.* 2018; 195: 206–212. DOI: 10.1016/j.jpeds.2017.11.064. PMID: 29395177.
8. Gunn J. K., Beca J., Hunt R. W., Goldsworthy M., Brizard C. P., Finucane K., Donath S., et al. Perioperative risk factors for impaired neurodevelopment after cardiac surgery in early infancy. *Arch Dis Child.* 2016; 101 (11): 1010–1016. DOI: 10.1136/archdischild-2015-309449. PMID: 27272973.
9. Ferraris V. A., Ballert E. Q., Mahan A. The relationship between intraoperative blood transfusion and postoperative systemic inflammatory response syndrome. *Am J Surg.* 2013; 205 (4): 457–465. DOI: 10.1016/j.amjsurg.2012.07.042. PMID: 23414633.
10. Ивкин А. А., Григорьев Е. В., Моргунов А. В. Обоснование защиты нейроваскулярной единицы на клинической модели искусственного кровообращения. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний.* 2022; 11 (4): 177–183. [Ivkin A. A., Grigoriev E. V., Morgun A. V. Substantiation of protection of a neurovascular unit in the clinical model of cardiopulmonary bypass. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases/Kompleksnye Problemy Serdechno-Sosudistyykh Zabolevaniy.* 2022; 11 (4): 177–183. (in Russ.)). DOI: 10.17802/2306-1278-2022-11-4-177-183.
11. Jekarl D. W., Lee S.-Y., Lee J., Park Y.-J., Kim Y., Park J. H., Wee J. H., et al. Procalcitonin as a diagnostic marker and IL-6 as a prognostic marker for sepsis. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2013; 75 (4): 342–347. DOI: 10.1016/j.diagmicrobio.2012.12.011. PMID: 23391607
12. Khilazheva E. D., Boytsova E. B., Pozhilenkova E. A., Solonchuk Yu. R., Salmina A. B. Obtaining a three-cell model of a neurovascular unit *in vitro.* *Cell Tiss Biol.* 2015; 9 (6): 447–451. DOI: 10.1134/S1990519X15060048

Поступила 07.06.2023

Принята 11.12.2023

Онлайн 14.12.2023