

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ЭРИТРОЦИТОВ У БОЛЬНЫХ С ТЯЖЕЛОЙ СОЧЕТАННОЙ ТРАВМОЙ

В. В. Мороз, Е. А. Мягкова, В. А. Сергунова, О. Е. Гудкова,
Д. А. Остапченко, А. М. Черныш, В. И. Решетняк

НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского РАМН, Москва

Morphological Features of Red Blood Cells In Patients With Severe Concomitant Injury

V. V. Moroz, E. A. Myagkova, V. A. Sergunova, O. E. Gudkova,
D. A. Ostapchenko, A. M. Chernysh, V. I. Reshetnyak

V. A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow

Цель исследования — выявить изменения структуры и формы эритроцитов в зависимости от объема кровопотери у больных, перенесших тяжелую сочетанную травму. **Материалы и методы.** Обследовано 18 больных (9 мужчин, 9 женщин) в возрасте $48,6 \pm 16,1$ лет, перенесших тяжелую сочетанную механическую травму (ТСТ) с различными объемами потери крови и нарушениями гемодинамики. В зависимости от объема кровопотери пострадавшие были разделены на две группы: 1-я группа — 7 пострадавших — объем потери крови < 750 мл ($5,7 \pm 1,9$ мл/кг) — кровопотеря (КП) I степени тяжести (СТ); 2-я группа — 11 пострадавших — объем потери крови > 2000 мл ($37,5 \pm 5,1$ мл/кг) — КП IV СТ. В группу сравнения вошли 5 практически здоровых добровольцев, средний возраст которых составил $26,4 \pm 2,7$ года. Исследование форм и размеров эритроцитов проводили методами светооптической и атомно-силовой микроскопии (АСМ). Для изучения состава эритроцитов десять микролитров цельной крови наносили на предметное стекло и готовили монослои эритроцитов с помощью прибора «V-sampler». Сканирование поверхности мембраны методом АСМ проводили в полуконтактном резонансном режиме. Использовали кантилеверы NSGL 01-A с резонансной частотой в диапазоне 80–200 кГц, радиус зонда — 10 нм, число точек сканирования 512 и 1024, поля сканирования 100×100 мкм, 10×10 мкм. Изображения получали в плоском формате и в формате 3D. **Результаты.** В группе сравнения при подсчете 1000 клеток методами светооптической микроскопии и АСМ получены достоверные отличия количества макро- и микроцитов. В поле 100×100 мкм выявлены соответственно следующие формы эритроцитов: дискоциты ($97,9 \pm 1,5\%$ и $96 \pm 5\%$), эхиноциты ($2,1 \pm 0,9\%$ и $3 \pm 1\%$), плоские клетки ($0,1 \pm 0,02\%$ и $1 \pm 0,5\%$). В первые сутки после травмы в группе пострадавших снижено количество нормоцитов; увеличено количество макроцитов и микроцитов по отношению к группе сравнения. При АСМ в поле 100×100 мкм у пострадавших с ТСТ в день поступления в реаниматологическое отделение выявлено достоверное уменьшение количества дискоцитов и увеличение количества эхиноцитов, стоматоцитов и плоских клеток относительно группы сравнения. Плоские клетки, вероятнее всего, являются разновидностью молодых форм эритроцитов. Анизоцитоз и пойкилоцитоз зависел от степени кровопотери. Значительное увеличение количества макроцитов и плоских клеток на 5-й день наблюдения, вероятнее всего, отражает компенсаторное усиление эритропоэза в ответ на кровопотерю. При изучении форм эритроцитов в первые сутки после травмы в поле АСМ выявлены дискоциты с углубленным пэллером и выростом в центре. Выявлены существенные изменения наноструктуры мембран эритроцитов в первый день после травмы: среднее значение высоты первого порядка (h_1) повышено почти в 9 раз, второго порядка (h_2) — в 1,5 раза, третьего порядка (h_3) — в 3 раза. Величина изменений h_1 и h_3 зависит от объема кровопотери. **Заключение.** У пострадавших с тяжелой сочетанной травмой наблюдается ярко выраженный анизоцитоз и пойкилоцитоз. Изменения связаны с объемом кровопотери. Были обнаружены дискоциты с углубленным пэллером и выростом в центре. Обнаружены изменения высот наноструктуры мембран эритроцитов. **Ключевые слова:** тяжелая сочетанная травма, кровопотеря, атомно-силовая микроскопия, светооптическая микроскопия, наноструктура мембран эритроцитов.

Objective: to reveal changes in the structure and shape of red blood cells depending on blood loss (BL) volume in patients with severe concomitant injury (SCI). **Subjects and methods.** Eighteen patients (9 men, 9 women) aged 48.6 ± 16.1 years who had sustained severe concomitant mechanical injury (CMI) with different BL volumes and hemodynamic disorders were examined. According to the volume of BL, the patients were divided into two groups: 1) 7 victims with a BL volume of < 750 ml (5.7 ± 1.9 ml/kg), grade 1 BL; 2) 11 victims with a BL volume of > 2000 ml (37.5 ± 5.1 ml/kg), grade 4 BL. A comparison group consisted of 5 apparently healthy volunteers whose mean age was 26.4 ± 2.7 years. The shapes and sizes of red blood cells were examined by light optical and atomic force microscopy (AFM). To study the composition of red blood cells, ten microliters of whole blood were applied to the slides and red

blood cell monolayers were prepared using a V-sampler. The membrane surface was scanned by semicontact resonance AFM. The investigators used NSGL 01-A cantilevers with a resonance frequency in the range of 80–200 kHz, a probe radius of 10 nm, 512 and 1024 scanning points, and 100×100 μ m and 10×10 μ m scanning fields.

Адрес для корреспонденции (Correspondence to):

Мягкова Екатерина Александровна (Myagkova E. A.)
E-mail: ball.87@mail.ru

Planar and 3D images were obtained. **Results.** Calculation of 1000 cells by light optical microscopy and AFM showed significantly different counts of macro- and microcytes in the comparison group. The 100×100- μm field exhibited the following types of red blood cells: discocytes (97.9±1.5% and 96±5%), echinocytes (2.1±0.9% and 3±1%), and squamous cells (0.1±0.02% and 1±0.5%). Within the first 24 hours after injury, the victim group displayed lower normocyte counts and higher counts of macrocytes and microcytes than the control group. AFM in the 100×100- μm field revealed that the victims with SMI when admitted to an intensive care unit exhibited a significant decrease in the counts of discocytes counts and increases in those of echinocytes, stomatocytes, and squamous cells, as compared to the controls. Anisocytosis and poikilocytosis was found to depend on the degree of BL. The squamous cells are most likely to be a variety of young erythrocytes. An appreciable increase in macrocytes and squamous cells on day 5 most likely reflects enhanced compensatory erythropoiesis in response to BL. Examination of red blood cell shapes within the first 24 hours after injury in the AFM field revealed profound discocytes with a protuberance in the center. On day 1 of injury changes in the nanostructure of red blood cell membranes included: 9-fold increase of first-order height (h_1); 1.5-fold and 3-fold increase of second- and third-order heights (h_2 and h_3), respectively. The magnitude of changes in h_1 , h_2 and h_3 depended on the volume of BL and tended to decrease within the first two weeks of injury. **Conclusion.** The victims with SMI were observed to possess significant anisocytosis and poikilocytosis. The changes were associated with the volume of BL and included profound discocytes with a protuberance in the center as well as changes in heights of nanostructural patterns of red blood cell membranes. **Key words:** severe concomitant injury, blood loss, atomic force microscopy, light optical microscopy, nanostructure of red blood cell membranes.

Введение

Острая массивная кровопотеря (КП), сопровождающая травму, часто является причиной развития критических состояний. Кровопотеря приводит к уменьшению количества эритроцитов, играющих важную роль в транспорте кислорода в организме, что приводит к гипоксии, имеющей смешанный характер [1]. Состав и структура эритроцитов при массивной кровопотере может меняться, что влияет на их функциональное состояние. При тяжелой сочетанной травме, сопровождающейся КП, наблюдаются изменения формы эритроцитов, влияющие на транспорт кислорода, который находится в зависимости от величины вязкости крови и гематокрита [2–5]. В раннем посттравматическом периоде наблюдаются нарушения микрореологических свойств крови, которые определяют состояние ее текучести на уровне капилляров и зависят от формы и размеров, а также состояния мембраны эритроцитов [6]. Вследствие этого происходит нарушение движения эритроцитов через капилляры, что усиливает выраженность гипоксии.

Bessis (1965) выделил, в зависимости от формы, различные виды эритроцитов [7]. У здорового человека чаще всего встречаются дискоциты, эхиноциты, стоматоциты. Для исследования форм и размеров красных клеток крови в настоящее время широко используются светооптическая и атомно-силовая микроскопии (АСМ) [8–10]. Каждый из этих методов имеет свои преимущества и недостатки. Основным недостатком светооптической микроскопии является сложность выявления атипичии, что связано с разрешающей способностью светооптического микроскопа, которая ограничена длиной волны видимой области спектра излучения света (500–600 нм). Поэтому для распознавания атипичии клеток более перспективным методом является атомно-силовая микроскопия с разрешающей способностью до 30×10^{-10} метра (30 ангстрем). Недостатком метода АСМ является небольшой размер поля сканирования (150×150 микрон) [11–14]. Суть метода АСМ заключается в регистрации межатомного взаимодействия между измерительным зондом микроскопа (кантилелевром) и структурными молекулами, составляющими по-

верхность мембраны. Метод позволяет получать как планарное, так и трехмерное изображение наноповрежденности исследуемой мембраны [15–18].

Цель исследования — выявить изменения структуры и формы эритроцитов в зависимости от объема кровопотери у больных, перенесших тяжелую сочетанную травму.

Материал и методы

Обследовано 18 больных (9 мужчин, 9 женщин) в возрасте $48,6 \pm 16,1$ лет, перенесших тяжелую сочетанную механическую травму с различными объемами потери крови (от 300 до 3000 мл) и нарушениями гемодинамики. С учетом веса больных среднее значение потери крови составило $23,5 \pm 15,9$ мл/кг (от 3,3 до 46,1 мл/кг). Примерную оценку потери крови учитывали в зависимости от локализации и объема травмы, по показателям шокового индекса Альговера и с учетом артериального давления, центрального венозного давления, частоты сердечных сокращений, частоты дыхательных движений, почасового диуреза, уровня сознания, также по номограмме Дисенкина. Кровопотерю во время оперативного вмешательства определяли гравиметрическим методом: вычитание веса сухого операционного материала из веса материала, смоченного кровью, плюс аспирированная из раны кровь.

Время от получения травмы до госпитализации в стационар составило $7,1 \pm 2,2$ (4–10) часа.

Все больные в зависимости от объема кровопотери [19] были разделены на две группы:

1-я группа — 7 пострадавших (4 — выживших, 3 — умерших; 1 пострадавший с тяжелой сочетанной травмой (ТСТ), 5 пострадавших с черепно-мозговой травмой (ЧМТ), 1 пострадавший с ТСТ+ЧМТ). Объем потери крови < 750 мл ($5,7 \pm 1,9$ мл/кг) — кровопотеря (КП) I степени тяжести (СТ).

2-я группа — 11 пострадавших (5 — выживших, 6 — умерших; 5 пострадавших с ТСТ+ЧМТ, 5 пострадавших с ТСТ, 1 пострадавший с ЧМТ). Объем потери крови > 2000 мл ($37,5 \pm 5,1$ мл/кг) — КП IV СТ.

Тяжесть состояния оценивали в баллах по шкале АРАСНЕ II в течение всего периода пребывания в реаниматологическом отделении. Среднее значение тяжести состояния всех пострадавших при поступлении составило: для всей группы $22,9 \pm 2,8$ балла, в группе с кровопотерей I степени тяжести — $22,5 \pm 3,3$ балла; в группе с кровопотерей IV степени тяжести — 23 ± 3 балла. В группе выживших больных — $21,8 \pm 2,9$ балла; в группе умерших больных — $24,5 \pm 1,5$ балла; в группе с ЧМТ — $23,4 \pm 2,8$ балла; с ТСТ — $22,0 \pm 3,1$ балла; с ЧМТ+ТСТ — $23,8 \pm 2,8$ балла.

Всем больным на догоспитальном этапе проводили инфузию кристаллоидов в объеме от 400 до 800 мл, а в реаниматоло-

гическом отделении — многокомпонентное комплексное интенсивное лечение, включающее инфузионно-трансфузионную терапию, антибактериальную терапию (при поступлении — антибактериальные препараты цефалоспоринового ряда 3-го поколения; в дальнейшем проводили коррекцию антибактериальной терапии в соответствии с полученным результатом микробиологического исследования бронхоальвеолярных смывов), профилактику образования язв (церукал, омез) и тромботических осложнений (гепарин, клексан), респираторную поддержку.

Основные оперативные вмешательства: лапаротомия, остановка внутрибрюшного кровотечения, ушивание разрывов поврежденных органов, трепанация черепа, удаление внутричерепной гематомы, стабилизация костных отломков с наложением гипсовой лонгеты, формирование скелетного вытяжения выполняли в первые сутки. При стабилизации состояния больным проводили остеосинтез.

Всем пострадавшим с момента поступления в стационар, проводили респираторную поддержку с помощью аппарата Drager Savina (Dräger, Германия). Ее средняя продолжительность составила $11,7 \pm 6,1$ суток. В группе больных с КП I СТ продолжением респираторной поддержки составила $15,2 \pm 6,1$ суток; с КП IV СТ — $11,4 \pm 5,1$ суток; в группе выживших — $13,3 \pm 6,5$ суток, в группе умерших — $9,7 \pm 5,3$ суток (все больные до момента смерти находились на аппарате ИВЛ). Для улучшения санации трахеобронхиального дерева на фоне продленной искусственной вентиляции легких всем больным на третьи сутки была выполнена срединная трахеостомия.

В зависимости от объема кровопотери и вида дисгидрии всем больным вводили эритроцитарную массу и свежемороженную плазму, сбалансированные солевые растворы (дисоль, трисоль) для коррекции электролитов крови и коллоидные растворы (гидроксиполкрахмал, волювен, гиперХАЕС) для восполнения объема циркулирующей крови и поддержания осмотического давления. Для восполнения энергетических потерь организма пострадавшим с тяжелой сочетанной травмой ежедневно вводили 10% раствор глюкозы. Основная масса вводимых растворов приходилась на первые трое суток пребывания больных в отделении.

Начиная со 2-х суток, все больные получали энтеральное питание сбалансированными смесями (Нутриэн Стандарт из расчета 2–2,5 л в сутки, дробно, с контролем усвоения).

При поступлении в стационар всем пострадавшим проводили исследование крови: гематологическое (гематологический анализатор — ABX Micros 60, Heriba ABX Diagnostics, Франция) — эритроциты, гемоглобин, гематокрит, лейкоциты. Концентрацию глюкозы и лактата в плазме крови определяли электрохимическим методом на анализаторе Biosen-S-Line (EKF Diagnostics, Германия) с использованием чип-сенсоров.

Динамику клинико-лабораторных показателей оценивали с учетом данных, полученных на 1, 3, 5, 7 и 15 сутки.

В группу сравнения вошли 5 практически здоровых добровольцев, возраст которых составил $26,4 \pm 2,7$ ($p < 0,05$ относительно группы пострадавших) лет. Со слов добровольцев, до взятия анализа, они не принимали никаких препаратов, алкогольных напитков и отрицали факт наличия каких-либо заболеваний. Данные, полученные методом светооптической и атомно-силовой микроскопии в группе сравнения, приняты за норму.

Забор крови для исследования эритроцитов под светооптическим микроскопом и методом атомно-силовой микроскопии проводили в группе сравнения однократно из локтевой вены, у пострадавших — из подключичной вены в дни исследования.

Для изучения состава красных клеток крови десять микролитров цельной крови наносили на предметное стекло и готовили монослой эритроцитов с помощью прибора «V-sampler» (Vision, Австрия). Анализ клеток крови проводили методом светооптической микроскопии (OLYMPUS CX 41, Япония) и АСМ («NTEGRA prima» (NT-MDT), Россия). Сканирование поверхности мембраны методом АСМ проводили

в полуконтактном резонансном режиме. Использовали кантилеверы NSGL 01-A с резонансной частотой в диапазоне 80–200 кГц. Радиус зонда — 10 нм, число точек сканирования 512 и 1024, поля сканирования 100×100 мкм, 10×10 мкм. Для каждого отдельного исследования анализировали не менее 100 клеток. Изображения получали в плоском формате и в формате 3D.

Количественные оценки изменений наноструктуры мембран получены с помощью пространственного преобразования Фурье [13]. Для каждой группы строили изображения фрагментов поверхностей мембран трех порядков, измеряли пространственные периоды L_i и высоты h_i для каждого порядка данной клетки. Методика разложения поверхности мембраны на три порядка описана ранее [11].

В группе сравнения и у пострадавших проводили количественную оценку распределения эритроцитов по размерам [20] и по форме [21].

Исследование выполняли с согласия этического комитета НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского РАМН.

Статистическую обработку проводили на персональном компьютере с помощью пакета программ Microsoft Excel и Statistica 6.0 с использованием современных принципов математического анализа медико-биологических исследований и согласно современным требованиям к обработке медицинских данных [22]. Для полученных данных распределение, которых в вариационном ряду носило нормальный характер, были использованы среднее арифметическое (M) и стандартное отклонение (σ), а для данных, не отвечающих нормальному распределению, определяли медиану (Md) и междуквартильный размах ($q_3 - q_1$). Для проверки статистических гипотез был использован непараметрический критерий Вилкоксона. Для всех критериев и тестов критический уровень значимости принимался равным 5%.

Результаты и обсуждение

I. Группа сравнения. Светооптическая микроскопия и АСМ. В таблице 1 представлено распределение эритроцитов по размерам при анализе в поле 1000, 300, 200 и 100 клеток с помощью светооптической микроскопии и АСМ.

В группе сравнения при анализе в поле 1000 клеток методом светооптической и атомно-силовой микроскопии получено соответственно следующее распределение эритроцитов по размерам: нормоциты ($63,8 \pm 4,1\%$ и $60,0 \pm 2,4\%$), макроциты ($19,0 \pm 4,6\%$ и $30,7 \pm 1,7\%$, $p < 0,05$), микроциты ($16,8 \pm 3,8\%$ и $8,3 \pm 0,9\%$, $p < 0,05$).

Светооптическая микроскопия. Количество нормоцитов в поле, содержащем 300 клеток, составило $71,6 \pm 3,4\%$ и достоверно отличалось от количества нормоцитов, выявленное при подсчете в поле 1000 ($63,5 \pm 4,1\%$, $p < 0,05$) и 200 ($61,4 \pm 4,5\%$, $p < 0,05$) клеток. Количество макроцитов в поле, содержащем 1000 и 300 клеток, составило соответственно $19 \pm 4,6\%$ и $20,0 \pm 3,0\%$, что достоверно отличалось от количества макроцитов, выявленное при подсчете в поле 200 ($29,2 \pm 3,8\%$, $p < 0,05$) и 100 ($26,8 \pm 9,9\%$, $p < 0,05$) клеток. Количество микроцитов в поле, содержащем 1000 клеток, составило $16,5 \pm 3,8\%$ и достоверно отличалось от количества микроцитов, выявленное при подсчете в поле 300 ($7,4 \pm 3,1\%$, $p < 0,05$) и 200 ($8,4 \pm 1,1\%$, $p < 0,05$) клеток.

Атомно-силовая микроскопия. Методом АСМ в поле 100, 200, 300 и 1000 клеток не выявлено достоверных отличий при подсчете нормоцитов (от 60,0 до

Распределение эритроцитов по размерам ($M \pm \sigma$), полученное при подсчете 100, 200, 300 и 1000 клеток с помощью светооптической и атомно-силовой микроскопии

Эритроциты различных размеров (мкм)	Распределение эритроцитов по размерам, %							
	светооптическая микроскопия,				атомно-силовая микроскопия,			
	при подсчете 1000		при подсчете 300		при подсчете 200		при подсчете 100	
Нормоциты (7,0–8,2)	63,5±4,1	71,6±3,4	61,4±4,5	63,0±9,2	60,0±2,4	63,0±2,6	70,2±3,4	73,5±3,1
Макроциты (8,3–9,9)	19,0±4,6*	20,0±3,0	29,2±3,8	26,8±9,9	30,7±1,7*	29,4±3,3	22,4±2,9	18,2±2,2
Микроциты (5,5–6,9)	16,5±3,8*	7,4±3,1	8,4±1,1	9,2±3,8	8,3±0,9*	6,2±0,9	6,4±1,9	7,0±1,8
Мегалоциты (свыше 10,0)	1,0±0,0	1,0±0,0	1,0±0,0	1,0±0,0	1±0,0	1,4±0,6	1,0±0,0	1,3±0,5

Примечание. * – $p < 0,05$ – достоверные различия показателей при исследовании методами светооптической и АСМ микроскопии.

73,5%) и микроцитов (от 6,2 до 8,3%) в тех же мазках крови. Количество макроцитов в поле, содержащем 1000 и 300 клеток, составило соответственно 30,7±1,7% и 29,4±3,3%, что достоверно отличалось от количества макроцитов, выявленном при подсчете в поле 100 (18,2±2,2%, $p < 0,05$) клеток.

Количество мегалоцитов не превышало 1,5% как при АСМ, так и при светооптической микроскопии независимо от количества подсчитываемых клеток в поле.

В группе сравнения при светооптической микроскопии и АСМ в поле 100×100 мкм выявлены соответственно следующие формы эритроцитов: дискоциты (97,9±1,5 и 96±5%), эхиноциты (2,1±0,9 и 3±1%), плоские клетки (0,1±0,02 и 1±0,5%).

При исследовании эритроцитов с помощью атомно-силовой микроскопии дискоциты имеют двояковогнутую форму, диаметром от 7,0 до 8,2 мкм, толщиной от 350 до 550 нм, с углублением в центре (пэллор) от 10 до 270 нм. Эхиноциты имеют форму шиповидных дисков толщиной от 280 до 840 нм, без углубления в центре. Плоские клетки имели форму дисков с гладкой ровной поверхностью диаметром от 8,5 до 9,5 мкм, толщиной от 300 до 390 нм, без углубления в центре.

Высокая разрешающая способность метода АСМ позволила выявить на порядок большее количество плоских клеток у здоровых добровольцев, чем при светооптической микроскопии.

II. Характеристика группы пострадавших. Все пострадавшие поступали в реаниматологическое отделение в состоянии травматического шока, сопровождавшемся гемодинамическими нарушениями ($A_{D_{cp}} < 45$ мм рт. ст.), коматозным состоянием (<8 баллов по шкале Глазго), снижением напряжения кислорода (59,4±21,8 мм рт. ст.) в артериализированной капиллярной крови, смещением рН крови (7,34±0,10) в сторону ацидоза, нарастанием дефицита оснований ($BE = -4,7 \pm 6,6$; от -11,3 до 1,9 мМ/л), уменьшением уровня гемоглобина (102,1±36,9; от 65,2 до 139 г/л), гематокрита (29,7±11,0%; от 18,7 до 40,7%), количества эритроцитов ($3,4 \pm 1,3 \times 10^{12}$ от $2,1 \times 10^{12}$ до $4,7 \times 10^{12}$), повышенным содержанием лактата (5,8±3,3; от 2,5 до 9,1 мМ/л), сниженным содержанием 8-гидрокси-2-дезоксигуанозина (1,3±0,7 нг/л; от 0,6 до 2,0 нг/л).

На 3-и и 5-е сутки после травмы, у всех пострадавших соответственно отмечено снижение уровня ге-

моглобина (77,5±19,3 и 88,3±12,9, относительно первых суток 102,1±36,9 г/л), гематокрита (23±6 и 25±3%, относительно первых суток 30±11%) и количества эритроцитов ($2,6 \pm 0,6 \times 10^{12}$ и $3,0 \pm 0,4 \times 10^{12}$, относительно первых суток $3,4 \pm 1,3 \times 10^{12}$), что обусловлено гемодилюцией, за счет проведения массивной инфузии и трансфузии. На фоне проведения искусственной вентиляции легких, введения буферных растворов отмечается нормализация рН до 7,43±0,11 (3-й день) и 7,46±0,11 (5-й день), напряжения кислорода (96,7±38,5 (3-й день) и 93,6±48,3 (5-й день), мм рт. ст.), коррекция дефицита оснований ($BE = -1,8 \pm 5,9$, от -7,7 до 4,1 (3-й день) и -0,7±5,5, от -4,8 до 6,2 (5-й день) мМ/л). Адекватность лечения оценивали величиной напряжения кислорода, рН, сдвигом буферных оснований, концентрацией лактата.

На 7-е сутки отмечается нарастание уровня гемоглобина (93,2±14,2 г/л), гематокрита (27±5%), эритроцитов ($3,2 \pm 0,5 \times 10^{12}$), за счет проводимой трансфузии; снижение уровня гликемии до 6,9±2,1 мМ/л. Снижение напряжения кислорода на 7-е сутки до 77,1±38,3 мм рт. ст. на фоне ИВЛ относительно 5-х суток обусловлено, скорее всего, развитием нозокомиальной пневмонии. Снижение напряжения кислорода до 69,6±17,8 мм рт. ст. на 15-е сутки относительно 7-х суток (77,1±38,3 мм рт. ст.) обусловлено переводом больных на самостоятельное дыхание. Концентрация лактата в первые две недели наблюдения постепенно снижается и к 15-м суткам достигает нормальных значений – 1,9±0,5 мМ/л.

Содержание 8-гидрокси, 2-дезоксигуанозина в сыворотке крови в период наблюдения имеет тенденцию к увеличению. Динамика 8-гидрокси, 2-дезоксигуанозина зависит от степени кровопотери, исхода и вида травмы. В первые сутки после травмы при кровопотере I степени тяжести концентрация 8-гидрокси, 2-дезоксигуанозина в плазме крови составила 1,7±0,9; от 0,8 до 2,6 нг/л, а при КП IV CT – 1,1±0,5; от 0,6 до 1,6 нг/л. Различия обусловлены за счет группы умерших больных. Значения 8-гидрокси, 2-дезоксигуанозина у умерших первой группы (преимущественно больные с ЧМТ) составили 2,7±1,1 нг/л (с тенденцией к последующему снижению), а у умерших 2-ей группы (больные с ТСТ) – 0,9±0,4 нг/л (с постепенным возрастанием показателя). Содержание 8-гидрокси, 2-дезоксигуанозина у вы-

Процентное распределение эритроцитов по размеру ($M \pm \sigma$), полученное с помощью светооптической микроскопии у пострадавших с травмой и кровопотерей различной степени тяжести

Группы пострадавших	Процентное распределение эритроцитов по размеру на этапах исследования, сутки				
	1-е	3-и	5-е	7-е	15-е
	Нормоциты (7,0–8,2 мкм)				
КП I СТ.	46,0±1,2	51,3±4,7	49,3±0,6	44,5±0,7	
КП IV СТ.	45,4±6,8	48,4±3,1	44,8±1,6	48,0±6,0	43,0
	Макроциты (8,3–9,9 мкм)				
КП I СТ.	36,5±11,6	27,7±8,6	34,0±7,5	36,0±12,7	
КП IV СТ.	34,4±12,4	31,4±5,1	31,8±9,2	27,3±3,5	46,0
	Микроциты (5,5–6,9 мкм)				
КП I СТ.	17,0±11,6	20,7±11,6	16,0±7,5	18,5±12,0	
КП IV СТ.	19,2±10,1	19,6±6,7	22,4±10,6	24,0±8,7	10,0
	Мегалоциты (свыше 10,0 мкм)				
КП I СТ.	1,0±0,0	1,0±0,0	1,0±0,0	1,0±0,0	
КП IV СТ.	1,3±0,5	1,0±0,0	1,3±0,6	1,0±0,0	

Примечание. КП I СТ: 1-е сутки – число пострадавших ($n=7$); 3-и сутки – $n=7$; 5-е сутки – $n=6$; 7-е сутки – $n=4$. КП IV СТ: 1-е сутки – число пострадавших ($n=11$); 3-и сутки – $n=10$; 5-е сутки – $n=9$; 7-е сутки – $n=7$; 15-е сутки – $n=4$.

живших 1-й группы на 3-и, 7-е и 15-е сутки в 2 раза ниже, чем у выживших 2-й группы. И лишь на 5-е сутки, в период присоединения инфекции, 8-гидрокси, 2-дезоксигуанозин составил соответственно $1,6 \pm 0,6$; от 1,0 до $2,2$ и $1,4 \pm 0,9$; от 0,5 до 2,3 нг/мл выживших первой и второй групп. Сниженное содержание 8-гидрокси, 2-дезоксигуанозина в крови пострадавших относительно группы сравнения связано, по-видимому, с его потерей организмом при кровопотере.

Динамика большинства рассматриваемых показателей у больных 1-й группы с минимальной степенью тяжести кровопотери стремится к нормализации. На 15 сутки наблюдения во 2-й группе больных (с максимальной степенью тяжести кровопотери) напряжение кислорода ($57,0 \pm 9,9$ мм рт. ст.) и концентрация лактата ($3,1 \pm 0,6$ мМ/л) в плазме крови остаются существенно измененными.

В 1-е сутки после травмы получены достоверные различия между соответственно 1-й и 2-й группами пострадавших по концентрации лактата в крови ($3,5 \pm 2,2$ ммоль/л против $7,7 \pm 2,9$ ммоль/л, $p < 0,05$). У больных с различной степенью тяжести кровопотери в 1-е сутки после травмы отмечаются более выраженные нарушения исследуемых показателей во 2-й группе пострадавших с большим объемом кровопотери.

Группа пострадавших. Осложнения.

У большинства пострадавших на 3–5 сутки после травмы развились инфекционные осложнения: у 15 (80%) больных был диагностирован гнойный трахеобронхит; у 16 (85%) больных клинически и рентгенологически была подтверждена нозокомиальная пневмония. У больных с инфекционными осложнениями отмечалась гипертермия до $38,3$ – $38,7^\circ\text{C}$, большое количество слизисто-гнойного отделяемого из трахеобронхиального дерева, хрипы в заднебазальных отделах легких, лейкоцитоз с палочко-ядерным сдвигом.

У одного больного с изолированной черепно-мозговой травмой ранний послеоперационный период (3-и сутки, больному была выполнена декомпрессивная тре-

панация черепа, удаление гематомы) осложнился развитием вторичного гнойного менингита. У 5-х из 10 пострадавших с черепно-мозговой травмой по клиническим данным и результатам компьютерной томографии головного мозга был выявлен отек и дислокация головного мозга.

III. Группа пострадавших. Размеры и формы эритроцитов. Светооптическая микроскопия и АСМ. В таблицах 2 и 3 представлены данные по изменению размера и формы эритроцитов в группе пострадавших, полученные с помощью светооптической и атомно-силовой микроскопии.

В первые сутки после травмы в группе пострадавших снижено, количество нормоцитов ($46,2 \pm 4,5\%$ – светооптическая микроскопия и $44,8 \pm 18,3\%$ – АСМ) по отношению к контролю ($63,6 \pm 9,2$ и $73,5 \pm 3,1$); увеличено количество макроцитов ($34 \pm 11,3$ и $33,4 \pm 19,2\%$) по отношению к контролю ($27,0 \pm 9,9$ и $18,2 \pm 2,2$); и количество микроцитов ($19,2 \pm 10,1$ и $25,6 \pm 15,2\%$) по отношению к контролю ($9,2 \pm 3,8$ и $7,0 \pm 1,8$).

Увеличение количества макроцитов после травмы связано, по всей видимости, с выходом молодых форм эритроцитов из красного костного мозга и кровяных депо в ответ на кровопотерю, а микроцитов – со снижением рН, нарастанием дефицита оснований и увеличением уровня лактата в крови. Достоверных различий по отношению к контролю не выявлено.

К 15-м суткам наблюдения отмечается увеличение количества макроцитов до $40,5 \pm 7,8\%$ при светооптической микроскопии и до $45,3 \pm 23,7\%$ при АСМ, связанное, вероятнее всего, с усилением эритропоэза; а также снижение количества микроцитов до $13,5 \pm 4,9\%$ (светооптическая микроскопия) и $12,7 \pm 8\%$ (АСМ), связанное, по-видимому, с обратным переходом их в нормоциты в связи с нормализацией рН и ВЕ плазмы крови.

Анизоцитоз, выявленный методом АСМ, зависел от степени кровопотери. Количество нормоцитов при кровопотере I степени тяжести составило 58,0 (43,5; 62,5), а при КП IV СТ – 39 (30; 54); количество макроцитов при КП

Таблица 3

Процентное распределение эритроцитов по размеру и форме, полученное с помощью атомно-силовой микроскопии у пострадавших с травмой и кровопотерей I и IV степени тяжести

Группа	Процентное распределение эритроцитов по размеру (M _d (q ₃ ; q ₁)) на этапах исследования, сутки					Процентное распределение эритроцитов по форме (M _d (q ₃ ; q ₁)) на этапах исследования, сутки				
	1-е	3-и	5-е	7-е	15-е	1-е	3-и	5-е	7-е	15-е
КП I CT	58,0 (43,5; 62,5)	51,0 (45,5; 56,5)	54 (51; 57)	51,5 (48,8; 54,2)	33 (33; 33)	70,5 (54,0; 81,8)	70 (58,2; 86,2)	69 (69; 89)	82 (78; 84)	98 (98; 98)
КП IV CT	39 (30; 54)	47,0 (40,7; 51,0)	42 (31; 46)	47,0 (40,0; 48,5)	39,5 (28,7; 50,2)	72 (61; 78)	75,0 (49,7; 90,3)	63,0 (47,5; 66,0)	55 (51; 65)	54 (36; 72)
КП I CT	22,0 (20,5; 45,5)	54 (54; 54)	35,5 (28,2; 42,7)	41 (41; 41)	55 (55; 55)	4,0 (1,7; 10,5)	11 (3; 12)	30 (16; 33)	10,5 (9,0; 16,5)	2 (2; 2)
КП IV CT	27,0 (23,0; 37,5)	45,0 (41,0; 53,2)	51,5 (46,2; 61,5)	47,0 (44,5; 55,0)	53,5 (43,7; 63,7)	6,0 (3,5; 13,7)	6,0 (3,5; 27,2)	27,5 (18,7; 34,7)	39 (37; 41)	45,5 (27,3; 63,8)
КП I CT	11,0 (6,5; 17,0)	22 (14; 30)	10,5 (6,2; 14,7)	7,5 (4,7; 10,2)	12 (12; 12)	5 (3; 10)	2,5 (2,0; 4,0)	6,5 (3,5; 29,7)	8,0 (6,5; 9,5)	—
КП IV CT	29 (19; 32)	8 (8; 8)	7,0 (3,5; 10,2)	6,5 (5,7; 7,2)	5 (5; 5)	11,5 (5,0; 19,0)	32 (2; 34)	15 (10; 27)	9,0 (5,5; 29,5)	—
КП I CT	—	—	—	—	—	24 (20; 34)	5 (2; 36)	8 (2; 22)	6,5 (6,0; 8,0)	—
КП IV CT	—	—	8 (8; 8)	2,5 (1,7; 3,2)	9 (9; 9)	12,5 (9,0; 32,2)	7,0 (6,5; 7,5)	7,5 (6,0; 11,2)	9,0 (5,5; 24,5)	1 (1; 1)

Примечание. КП I CT: 1-е сутки — число пострадавших $n=7$; 3-и сутки — $n=6$; 7-е сутки — $n=4$; КП IV CT: 1-е сутки — число пострадавших $n=11$; 3-и сутки — $n=10$; 5-е сутки — $n=9$; 7-е сутки — $n=7$; 15-е сутки — $n=4$.

I CT составило 22,0 (20,5; 45,5), а при КП IV CT — 27,0 (23,0; 37,5); количество микроцитов при КП I CT составило 11,0 (6,5; 17,0), а при КП IV CT — 29 (19; 32).

При АСМ в поле 100×100 мкм у пострадавших с ТСТ в день поступления в реаниматологическое отделение выявлены достоверные отличия: количество дискоцитов составило 72 (50; 84), $p < 0,05$ относительно контроля (96 (91; 101)); эхиноцитов — 7,0 (5,0; 13,2), $p < 0,05$ относительно контроля (3 (2; 4)); стоматоцитов — 15 (5; 29), $p < 0,05$ относительно контроля (0,50 (0,49; 0,51)); плоских клеток — 6,0 (2,5; 17,5), $p < 0,05$ относительно контроля (1 (0,5; 1,5)).

В группе пострадавших с кровопотерей I степени тяжести количество дискоцитов постепенно нарастает в динамике и к 15-му дню наблюдения достигает нормальных значений (98 (98; 98)) у выживших больных, в то время как в группе с КП IV CT — количество дискоцитов остается сниженным на всем протяжении наблюдения.

Количество плоских клеток при поступлении пострадавших в стационар составило 6% (2,5; 17,5), что в 6 раз превышает нормальные значения. Динамика изменения содержания плоских клеток и макроцитов имеет сходную тенденцию к увеличению в первые две недели после травмы (рис. 1, а)

На 5-й день наблюдения выявлено резкое увеличение количества плоских клеток (28,0% (18,0; 35,5)) у пострадавших. Размеры плоских клеток (8,5–9,5 мкм) и тенденция к значительному увеличению их количества в период компенсаторного активирования эритропоэза в ответ на кровопотерю (5-е сутки) в результате травмы [23] позволяют с большой долей вероятности отнести их к разновидности молодых форм эритроцитов. Отмечено увеличение количества макроцитов (табл. 3) и плоских клеток (рис. 1, б) в динамике в первые две недели после травмы у пострадавших с КП IV CT. Почти 30 кратное возрастание количества плоских клеток на 5-й

день после травмы связано, скорее всего, с выраженным компенсаторным усилением процессов эритропоэза у больных второй группы [23]. У пострадавших с КП I СТ в первые пять дней после травмы наблюдается увеличение как количества макроцитов (табл. 3), так и количества плоских клеток (рис. 1, б). Начиная с 7 дня наблюдения отмечено снижение содержания плоских клеток (рис. 1, б) у пострадавших с КП I СТ. К 15 суткам наблюдения количество плоских клеток у пострадавших с КП I СТ приближается к нормальным значениям. Выявленные отличия в динамике количества плоских клеток в первой и второй группах больных обусловлены степенью тяжести кровопотери (рис. 1, б) и разными видами травмы (рис. 1, в). Полученные данные косвенным образом свидетельствуют, что активность эритропоэза у пострадавших с ЧМТ и КП I СТ менее выражена, чем у больных с ТСТ и КП IV СТ.

На рисунке 2 представлены неокрашенные мазки крови донора и пострадавшего от ТСТ при светооптической и атомно-силовой микроскопии. Количество эритроцитов в мазке крови, взятой у пострадавших при поступлении в отделение, в поле 100×100 мкм, полученное методами АСМ и светооптической микроскопии на $42,6 \pm 11,8\%$ меньше, чем в группе сравнения.

В группе пострадавших при атомно-силовой микроскопии выявлены структурно измененные, дискоциты с углубленным пэллором и выростом в центре (рис. 2).

При изучении форм эритроцитов в первые сутки после травмы в группе пострадавших с тяжелой сочетанной травмой в поле АСМ выявлено $7,5 \pm 2,5\%$ (КП I СТ) и $8,3 \pm 4,2\%$ (КП IV СТ) дискоцитов с углубленным пэллором и выростом в центре. Углубление в центре составляет 500 нм, при нормальном значении углубления дискоцита до 270 нм.

Такая форма эритроцита позволяет увеличить его поверхность. Каково функциональное значение появления таких эритроцитов пока остается неясным. Можно предположить, что это компенсаторная реакция эритроцита на гипоксию, изменение рН, ВЕ и содержание лактата в крови, направленная на сохранение его жизнеспособности в критической ситуации.

Основная функция эритроцита — это транспорт газов крови. Этим вызваны особенности строения красных клеток крови: отсутствие ядра, митохондрий и анаэробный путь восполнения клетки энергетическим материалом через глюкозо-6-фосфатный цикл.

Для поддержания жизнеспособности и выработки энергии АТФ, эритроцит использует глюкозу и имеющееся в плазме крови небольшое количество растворенного кислорода. Возможно, в связи со снижением напряжения кислорода в крови сразу после травмы и кровопотери происходит компенсаторное увеличение поверхности дискоцита, что позволяет более эффективно использовать сниженное количество в крови кислорода для обеспечения жизнеспособности эритроцита.

Отмечаемая обратная зависимость (рис. 3) количества дискоцитов с углубленным пэллором и выростом в центре от напряжения кислорода и ВЕ крови, а

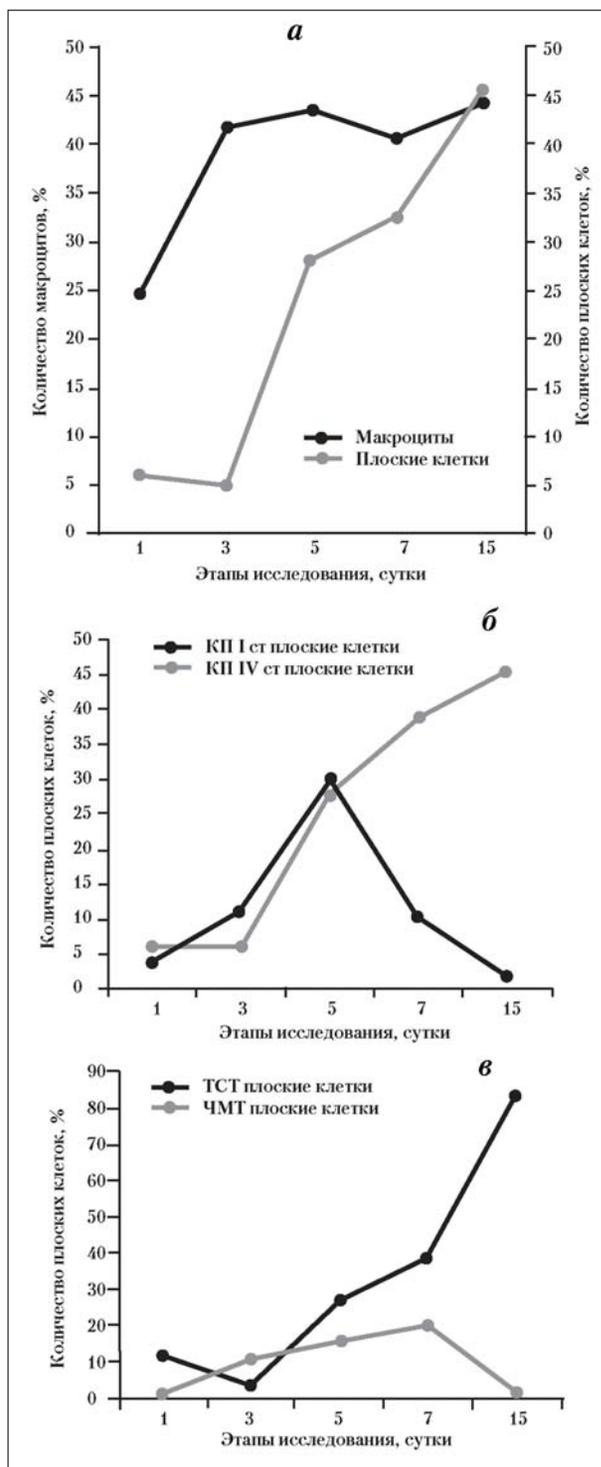


Рис. 1. Процентное количество макроцитов (а) и плоских клеток (а, б, в) у пострадавших с тяжелой травмой на этапах исследования в общей группе (а), у пострадавших с КП I и IV СТ (б), с ТСТ и ЧМТ (в).

КП — кровопотеря; СТ — степень тяжести; ТСТ — тяжелая сочетанная травма; ЧМТ — черепно-мозговая травма.

также прямая зависимость от уровня лактата крови могут служить косвенными признаками высказанного предположения.

Из рисунка 4 видно, что ВЕ у выживших больных с третьего дня наблюдения держится выше нулевых значений, в то время как в группе умерших — этот пока-

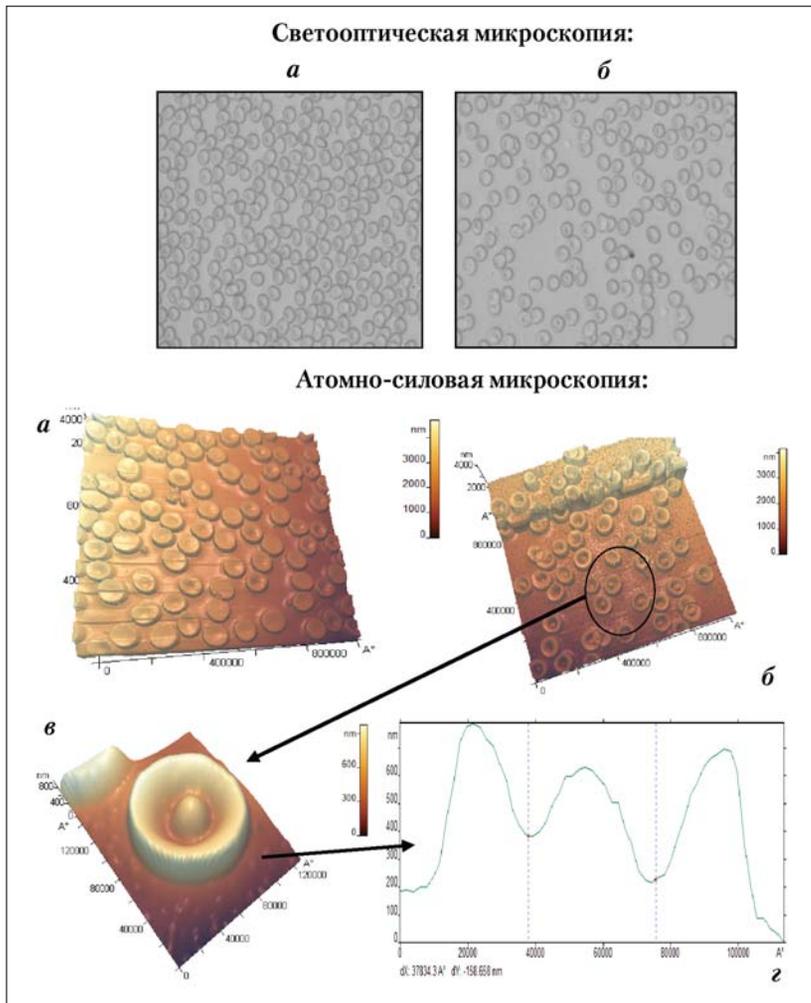


Рис. 2. Изображение эритроцитов здорового донора (а) и пострадавшего от тяжелой сочетанной травмы (б) при светооптической и атомно-силовой в формате 3D микроскопии в поле 100×100 мкм. Структура одиночного эритроцита (в) в поле 10×10 мкм пострадавшего от тяжелой сочетанной травмы и его графический профиль (z), полученные с помощью атомно-силовой микроскопии.

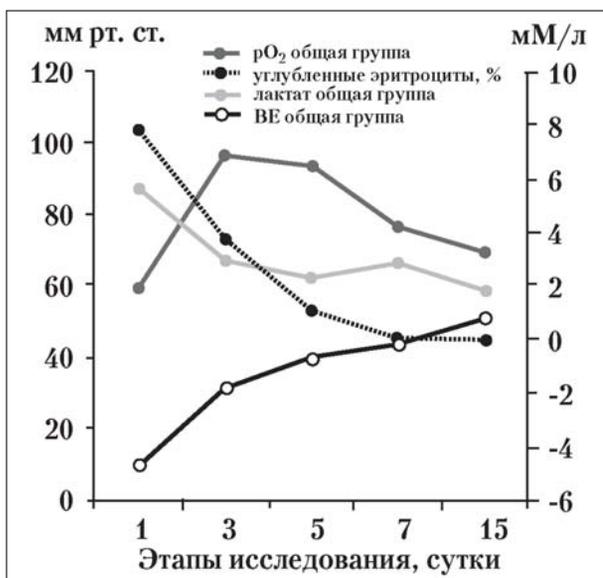


Рис. 3. Количество дискоцитов с углубленным паллором и выросом в центре, рO₂, ВЕ и концентрация лактата в крови пострадавших.

затель остается ниже нормального уровня (< -2 мм/л). Сохранение значения ВЕ ниже -4 мм/л в первые три дня наблюдения могут быть неблагоприятным прогностическим признаком, что требует восполнения объема циркулирующей крови и ее буферной емкости за счет введения пострадавшим буферных растворов, способных поддерживать рН и ВЕ лучше, чем кристаллоиды и коллоиды.

IV. Наноструктура мембран дискоцитов в группе пострадавших.

При поступлении пострадавших с различными видами травмы в стационар отмечали значительные изменения наноструктуры мембраны эритроцитов: средние значения высоты первого порядка у всей группы пострадавших возрастает по сравнению с контролем почти в 9 раз, высоты второго порядка — в 1,5 раза, высоты третьего порядка — в 3 раза. Учитывая, что в момент поступления больного в реаниматологическое отделение массивная инфузионно-трансфузионная терапия еще не проводилась, то выявленные изменения являются следствием травмы, массивной кровопотери, гипоксии, гемодинамических нарушений.

Значительное повышение высоты первого порядка ($9,3 \pm 5,5$ нм) в первые сутки после травмы во всей группе пострадавших сопровождается увеличением уровня глюкозы ($10,6 \pm 3,5$ мм/л) в крови почти в 2 раза и лактата ($5,79 \pm 5,3$ мм/л) в 2,5 раза. Молочная кислота (лактат) и пируват — вещества, образующиеся в процессе метаболизма глюкозы в реакциях гликолиза. Лактат является конечным продуктом гликолиза и гликогенолиза и яв-

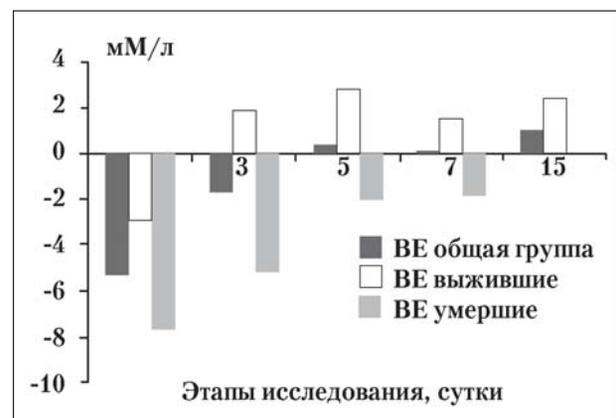


Рис. 4. Средние значения ВЕ (мм/л) крови пострадавших на этапах исследования.

ляется показателем адекватной доставки кислорода эритроцитами к органам и тканям, и позволяет оценить «кислородное голодание» тканей. Увеличение уровня лактата свидетельствует об усилении анаэробного пути метаболизма в организме в условиях гипоксии, в том числе и в эритроцитах. Возрастание содержания глюкозы в крови, возможно, является компенсаторной реакцией организма и, также как появление эритроцитов с углубленным пэллором и выростом в центре, направлено на поддержание жизнеспособности оставшихся после кровопотери эритроцитов.

В 1-е сутки после травмы выявлена тенденция к возрастанию значений высот первого и третьего порядков в зависимости от степени кровопотери: $h_1 - 6,7 \pm 5,0$ нм при КП I СТ; $10,8 \pm 6,0$ нм при КП IV СТ; $h_3 - 0,39 \pm 0,26$ нм при КП I СТ; $0,63 \pm 0,47$ нм при КП IV СТ. Высота второго порядка не зависит от степени тяжести кровопотери и составляет при КП I СТ $1,45 \pm 0,48$ нм; при КП IV СТ — $1,50 \pm 0,56$ нм.

В первые две недели после травмы высоты всех трех порядков имеют тенденцию к снижению. Средние значения высоты первого и третьего порядка в первые две недели после травмы снижаются примерно в общей группе пострадавших относительно первого дня на 36% и 12% соответственно. Высоты 1-го и 3-го порядков к 15-м суткам после травмы остаются повышенными: $7,2 \pm 6,2$ (от 1 до 13,4) нм и $0,46 \pm 0,18$ (от 0,28 до 0,64) нм соответственно. При этом высота второго порядка на 15-е сутки наблюдения достигает нормальных значений — $0,98 \pm 0,09$ нм.

Выявленные изменения свидетельствуют о влиянии степени гипоксии на наноструктуру мембран эритроцитов. Кровопотеря и гипоксия, являющиеся следствием травмы, влияют на все наноструктуры мембраны эритроцита, но в большей степени на фосфолипидный бислой (h_1) и белковые компоненты (h_3) мембраны, при незначительном влиянии на спектриновый матрикс (h_2). Изменение h_1 связанное с тяжелой травмой и кровопотерей, по-видимому, направлено на увеличение поверхности мембраны эритроцита, способствующее увеличению площади газообмена в связи со снижением напряже-

ния кислорода в плазме крови. Данные изменения, по-видимому, направлены на сохранение функциональной способности эритроцита и его выживаемости в критической ситуации.

Выводы

В первые сутки после тяжелой сочетанной травмы с выраженной кровопотерей при светооптической микроскопии и АСМ наблюдается выраженный анизоцитоз и пойкилоцитоз, характеризующийся снижением уровня нормоцитов, дискоцитов, повышением уровня макро-, микроцитов, эхиноцитов и плоских клеток. Выраженность анизоцитоза и пойкилоцитоза зависит от степени кровопотери. При этом, около 8% дискоцитов имели аномальные углубления с выростами в центре. Имеется взаимосвязь их появления с рН, ВЕ, уровнем напряжения кислорода и содержанием лактата в крови пострадавших.

Плоские клетки, вероятнее всего, являются разновидностью молодых форм эритроцитов. Значительное увеличение количества макроцитов и плоских клеток на 5-й день наблюдения, по-видимому, отражает компенсаторное усиление эритропоэза в ответ на кровопотерю.

Количественно оценена степень изменения наноповышения мембран эритроцитов в динамике у больных с тяжелой травмой и различной степенью кровопотери. Выявлены существенные изменения наноструктуры мембран эритроцитов у пострадавших в первый день после травмы: среднее значение высоты первого порядка (h_1) повышено почти в 9 раз, второго порядка (h_2) — ~ в 1,5 раза, третьего порядка (h_3) — ~ в 3 раза. Величина изменений h_1 и h_3 зависит от объема кровопотери. h_1 и h_2 имеет динамику снижения в первые две недели после травмы.

Авторы выражают благодарность: к. б. н. Жанатаеву Алий Курмановичу старшему научному сотруднику лаборатории патологии клетки при критических состояниях за определение 8-гидрокси, 2-дезоксигуанозина у исследуемых больных; к. м. н. Новодержкиной Ирине Сергеевне старшему научному сотруднику лаборатории патофизиологии критических состояний за ценные советы и активное обсуждение полученных результатов.

Литература

1. Рябов Г.А. Гипоксия критических состояний. М.: Медицина; 1988.
2. Герасимов Л.В., Саморуков В.Ю., Мороз В.В., Иванова Г.П. Применение эритропоэтина у больных с травмой и кровопотерей. *Общая реаниматология*. 2012; 8 (5): 11–18.
3. Мороз В.В., Атауллаханов Ф.И., Радаев С.М., Остапенко Д.А. Влияние перфторана на морфологию и реологические свойства эритроцитов у больных с тяжелой травмой и кровопотерей. *Анестезиология и реаниматология*. 2001; 6: 22–25.
4. Еликов А.В., Цапков П.И. Оксидантный баланс в эритроцитах у больных с переломами костей голени и бедра в зависимости от срока иммобилизации. *Казанский мед. журн.* 2011; 92 (4): 508–510.
5. Chien S., Skalak R., Chen P.H. Effect of hematocrit and rouleaux on apparent viscosity in capillaries. *Biorheology*. 1972; 9 (2): 67–82.
6. Радаев С.М., Остапенко Д.А., Розенберг Ю.М., Лисовская И.Л., Мороз В.В., Атауллаханов Ф.И. Влияние перфторана на структурные и функциональные свойства эритроцитов у больных с травмой и кровопотерей. *Биомедицинский журнал*. 2004; 5 (27): 104–108.
7. Bessis M. Atlas of red blood cell shapes. Berlin, Heidelberg, New York: Springer-Verlag; 1974: 21–101.
8. Мороз В.В., Черныш А.М., Яминский И.В., Козлова Е.К., Киселёв Г.А., Филонов А.С., Богусевич М.С., Гудкова О.Е. Перспективы применения методов атомной силовой микроскопии в реаниматологии. *Общая реаниматология*. 2008; 4 (4): 51–54.
9. Бахтизин Р.З. Сканирующая туннельная микроскопия – новый метод изучения поверхности твердых тел. *Соросовский образовательный журн.* 2000; 6 (11): 1–7.
10. Lapshin R.V. Rapid communication, availability of feature-oriented scanning probe microscopy for remote controlled measurements on board a space laboratory or planet exploration rover. *Astrobiology*. 2009; 9 (5): 437–442.
11. Мороз В.В., Черныш А.М., Козлова Е.К., Курсанова А.К., Новодержкина И.С., Александрин В.В., Борщевская П.Ю., Ближнюк У.А., Рысаева Р.М. Атомная силовая микроскопия структуры мембран эритроцитов при острой кровопотере и реинфузии. *Общая реаниматология*. 2009; 5 (5): 5–9.
12. Темпаненко Н.Ю., Галайченко Е.Н., Рожницкий Н.Н. Атомно-силовой микроскоп как инструмент исследования структуры поверхности эритроцитов. *Вост.-Евр. журн. передовых технологий*. 2009; 4/10 (40): 7–10.
13. Moroz V.V., Chernysh A.M., Kozlova E.K., Borshegovskaya P.Yu., Bliznjuk U.A., Rysaeva R.M., Gudkova O.Y. Comparison of red blood cell membrane

- microstructure after different physicochemical influences: atomic force microscope research. *J. Crit. Care*. 2010; 25 (3): 512–531.
14. Мороз В.В., Черныш А.М., Козлова Е.К., Сергунова В.А., Гудкова О.Е., Федорова М.С., Кирсанова А.К., Новодержкина И.С. Нарушения наноструктуры мембран эритроцитов при острой кровопотере и их коррекция перфторуглеродной эмульсией. *Общая реаниматология*. 2011; 7 (2): 5–9.
 15. Мороз В.В., Голубев А.М., Черныш А.М., Козлова Е.К., Васильев В.Ю., Гудкова О.Е., Сергунова В.А., Федорова М.С. Изменения структуры поверхности мембран эритроцитов при длительном хранении донорской крови. *Общая реаниматология*. 2012; 8 (1): 5–12.
 16. 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.
 17. Мороз В.В., Козлова Е.К., Черныш А.М., Гудкова О.Е., Бушуева А.В. Изменения структуры мембран эритроцитов при действии гемина. *Общая реаниматология*. 2012; 8 (6): 5–10.
 18. 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.
 19. Воробьев А.И., Городецкий В.М., Шулуток Е.М., Васильев С.А. Острая массивная кровопотеря. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2001.
 20. Гольдберг Д.И., Гольдберг Е.Д. Справочник по гематологии с атласом микрофотограмм. Томск: ТГУ; 1971.
 21. Горюнов А.С., Борисова А.Г., Рожков С.П., Суханова Г.А., Рожкова Н.Н. Морфология и агрегация эритроцитов в нанодисперсиях углерода. *Экспериментальная биология*. 2009; 3: 30–37.
 22. Гланц С. Медико-биологическая статистика. М.: Практика; 1999.
 23. Леонова Е.В., Чантурия А.В., Висмонт Ф.И. Патология системы крови Минск: БГМУ; 2009: 13.
 5. Bakhtizin R.Z. Skaniruyushchaya tunnelnaya mikroskopiya – novyi metod izucheniya poverkhnosti tverdykh tel. [Scanning tunnel microscopy is a new method to study the surface of solid bodies]. *Sorosovskiy Obrazovatelnyy Zhurnal*. 2000; 6 (11): 1–7. [In Russ.]
 10. Lapshin R.V. Rapid communication, availability of feature-oriented scanning probe microscopy for remote controlled measurements on board a space laboratory or planet exploration rover. *Astrobiology*. 2009; 9 (5): 437–442.
 11. Moroz V.V., Chernysh A.M., Kozlova E.K., Kirsanova A.K., Novoderzhkina I.S., Aleksandrin V.V., Borshchegovskaya P.Yu., Bliznyuk U.A., Rysaeva R.M. Atomnaya silovaya mikroskopiya struktury membran eritrotsitov pri ostroi krovopotere i reinfuzii. [Atomic force microscopy of the structure of red blood cell membranes in acute blood loss and reinfusion]. *Obshchaya Reanimatologiya*. 2009; 5 (5): 5–9. [In Russ.]
 12. Getmanenko N.Yu., Galaichenko E.N., Rozhitsky N.N. Atomno-silovoi mikroskop kak instrument issledovaniya struktury poverkhnosti membran eritrotsitov. [An atomic force microscope as a tool to study the surface structure of red blood cell membranes]. *Vostochno-Evropeyskiy Zhurnal Peredovykh Tekhnologii*. 2009; 4/10 (40): 7–10. [In Russ.]
 13. Moroz V.V., Chernysh A.M., Kozlova E.K., Borshchegovskaya P.Yu., Bliznyuk U.A., Rysaeva R.M., Gudkova O.Y. Comparison of red blood cell membrane microstructure after different physicochemical influences: atomic force microscope research. *J. Crit. Care*. 2010; 25 (3): 512–531.
 14. Moroz V.V., Chernysh A.M., Kozlova E.K., Sergunova V.A., Gudkova O.E., Fedorova M.S., Kirsanova A.K., Novoderzhkina I.S. Narusheniya nanostuktury membran eritrotsitov pri ostroi krovopotere i ikh korrektsiya perftoruglerodnoi emulsiie. [Impairments in the nanostructure of red blood cell membranes in acute blood loss and their correction with perfluorocarbon]. *Obshchaya Reanimatologiya*. 2011; 7 (2): 5–9. [In Russ.]
 15. Moroz V.V., Golubev A.M., Chernysh A.M., Kozlova E.K., Vasilyev V.Yu., Gudkova O.E., Sergunova V.A., Fedorova M.S. Izmeneniya struktury poverkhnosti membran eritrotsitov pri dlitelnom khraneniі donorskoі krovi. [Structural changes in the surface of red blood cell membranes during long-term donor blood storage]. *Obshchaya Reanimatologiya*. 2012; 8 (1): 5–12. [In Russ.]
 16. 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]. *Obshchaya Reanimatologiya*. 2012; 8 (1): 52–60. [In Russ.]
 17. Moroz V.V., Kozlova E.K., Chernysh A.M., Gudkova O.E., Bushueva A.V. Izmeneniya struktury membran eritrotsitov pri deistvii gemina. [Hemin-induced changes in the red blood cell membrane structure]. *Obshchaya Reanimatologiya*. 2012; 8 (6): 5–10. [In Russ.]
 18. 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 biokhimicheskikh pokazatelei konservirovannoi tselnoi krovi v razlichnye sroki khraneniya. [Time course of morphological changes in red blood cells and of biochemical parameters of stored whole blood in different storage periods]. *Obshchaya Reanimatologiya*. 2013; 9 (1): 5–13. [In Russ.]
 19. Vorobyev A.I., Gorodetsky V.M., Shulutko E.M., Vasilyev S.A. Ostraya massivnaya krovopoterya. [Acute massive blood loss]. Moscow: GEOTAR-Media; 2001. [In Russ.]
 20. Goldberg D.I., Goldberg E.D. Spravochnik po gematologii s atlasom mikroftogramm. [Handbook of hematology with an atlas of microphotograms]. Tomsk: TGU; 1971. [In Russ.]
 21. Gorionov A.S., Borisova A.G., Rozhkov S.P., Sukhanova G.A., Rozhkova N.N. Morfologiya i agregatsiya eritrotsitov v nanodispersiyakh ugleroda. [Red blood cell morphology and aggregation in carbon nanodispersions]. *Ekspierimentalnaya Biologiya*. 2009; 3: 30–37. [In Russ.]
 22. Glanz S. Mediko-biologicheskaya statistika. [Medico-biological statistics]. Moscow: Praktika; 1999. [In Russ.]
 23. Leonova E. Chanturia A.V., Vismont F.I. Patofiziologiya sistemy krovi. [Blood system pathology]. Minsk: BGMU; 2009: 13 [In Russ.]

Поступила 20.05.13