



www.reanimatology.com

www.niiorramn.ru

ISSN 18139779 (print) ISSN 24117110 (online)

ОБЩАЯ РЕАНИМАТОЛОГИЯ GENERAL REANIMATOLOGY

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ
Scientific-and-Practical Journal

Том 11

Volume 11

№ 3

Москва
Moscow

2015

Новейшая система терапевтической контролируемой гипотермии Arctic Sun 5000 – Medivance (США) оказывает протективное действие на жизненно важные органы, позволяет снизить скорость и интенсивность метаболических процессов, уменьшая потребность тканей в кислороде.

На сегодняшний день технология системы **Arctic Sun 5000** обеспечивает наиболее точный и быстрый уровень контроля температуры пациента за счет циркуляции воды в каналах манжет на гидрогелевой основе, имитирующих эффект погружения тела пациента в воду и обеспечивающих высокоэффективный, быстрый теплообмен, за счет полного и непрерывного контакта манжеты с кожей пациента.

Применение искусственной гипотермии позволяет улучшить исход у пациентов с:

- Остановкой сердца (постреанимационная болезнь)
- Травматическими повреждениями головного мозга
- Инсультом
- Печеночной энцефалопатией
- Медикаментозно не купируемой лихорадкой
- Инфарктом миокарда с подъемом ST



novalung®

Система экстракорпоральной мембранной вентиляции iLA (interventional Lung Assist) – Novalung

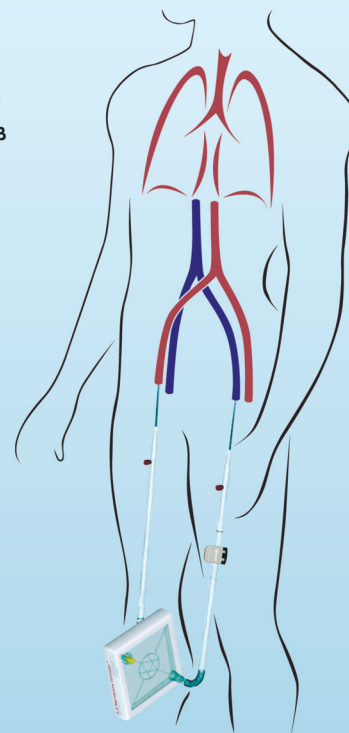
Система iLA обеспечивает эффективную оксигенацию и элиминацию CO_2 , за счет высокотехнологичной мембраны Novalung с уникальным покрытием, позволяющим в течение 29 дней протезировать функцию легких у пациентов с тяжелыми формами дыхательной недостаточности, не поддающимися лечению традиционными режимами ИВЛ.

Система iLA служит мостом к выздоровлению у пациентов с тяжелым: РДСВ, не прибегая к агрессивным режимам вентиляции.

iLA позволяет успешно лечить пациентов с не купируемым астматическим статусом, эффективно удаляя CO_2 из организма в протективных режимах вентиляции.

Подсоединение **системы iLA** осуществляется пункционным методом через бедренную артерию/бедренную вену, поток крови обеспечивается за счет артерио-венозной разницы давлений, без насоса, что делает данную процедуру относительно простой и доступной в широкой клинической практике.

Объем заполнения системы составляет 250 мл.
 Поток крови регулируемый: от 0,5 до 4,5 л/мин.



www.schag.ru

– эксклюзивный дистрибьютор в России

ЗАО «ШАГ»
 119002, г. Москва,
 Карманицкий пер., д. 9
 Арбат Бизнес Центр, офис 501А
 т. +7 (495) 956-13-09,
 ф. +7 (495) 956-13-10

ООО «ШАГ Северо-Запад»
 193318, г. Санкт-Петербург,
 ул. Ворошилова, д. 2
 Бизнес Центр «Охта», офис 206
 т. +7 (812) 440-92-21,
 ф. +7 (812) 440-73-90

ООО «ШАГ-Юг»
 344091,
 г. Ростов-на-Дону,
 пр-кт Стачки, д. 245
 т. +7 (863) 298-00-76,
 т./ф. +7 (863) 266-74-36

ОБЩАЯ РЕАНИМАТОЛОГИЯ

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

Заслуженный деятель науки РФ, член-корреспондент РАН,
профессор **В. В. МОРОЗ**

*Директор Научно-исследовательского института
общей реаниматологии им. В. А. Неговского*

ЗАМЕСТИТЕЛИ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА

Академик РАН, профессор

Г. А. РЯБОВ

*Главный научный сотрудник
Научно-исследовательского института
общей реаниматологии им. В. А. Неговского*

Заслуженный деятель науки РФ,
профессор **А. М. ГОЛУБЕВ**

*Заместитель директора по научной работе
Научно-исследовательского института общей
реаниматологии им. В. А. Неговского*

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Профессор **И. Г. БОБРИНСКАЯ**

*Профессор кафедры анестезиологии-реаниматологии
Московского государственного
медико-стоматологического университета*

Профессор **Л. БОССАРТ**

*Член консультативного комитета
Европейского совета по реанимации, Бельгия*

Академик РАН, профессор, **А. А. БУНЯТЯН**

*Заведующий отделом анестезиологии-реаниматологии
Российского научного центра хирургии
им. Б. В. Петровского*

*Заведующий кафедрой анестезиологии-реаниматологии
Первого Московского государственного медицинского
университета им. И. М. Сеченова*

Профессор **М. А. ВЫЖИГИНА**

*Профессор кафедры анестезиологии-реаниматологии
Первого Московского государственного
медицинского университета им. И. М. Сеченова*

Профессор **О. А. ДОЛИНА**

*Профессор кафедры анестезиологии-реаниматологии
Первого Московского государственного
медицинского университета им. И. М. Сеченова*

Академик РАН, профессор **В. Л. ЗЕЛЬМАН**

*Заведующий отделением нейроанестезиологии,
профессор неврологии и нейрохирургии,
Медицинская школа Кеэк, США*

Доктор медицинских наук **Н. А. КАРПУН**

*Заместитель главного врача по медицинской части
Городской клинической больницы
№ 68 Департамента здравоохранения города Москвы*

Профессор **И. А. КОЗЛОВ**

*Заведующий научно-организационным отделом
Научно-исследовательского института
общей реаниматологии им. В. А. Неговского*

Доктор медицинских наук **А. Н. КОРНИЕНКО**

*Начальник отделения кардиореанимации Центрального
военного клинического госпиталя № 3
им. А. А. Вишневого Министерства обороны России*

Профессор **П. КОХАНЕК**

*Руководитель Центра исследований
проблем реаниматологии им. П. Сафара, Университет
Питтсбурга, США*

GENERAL REANIMATOLOGY

Scientific-and-Practical Journal

EDITOR-IN-CHIEF

V. V. Moroz,

*MD, PhD, DSc, Professor, Corr. Member of RAS,
Honored Scientist of Russia, Director, V. A. Negovsky Scientific
Research Institute of General Reanimatology*

DEPUTY EDITOR-IN-CHIEF

G. A. Ryabov,

*MD, PhD, DSc, Professor, Member of RAS
Chief Scientist, V. A. Negovsky Scientific
Research Institute
of General Reanimatology*

A. M. Golubev,

*MD, PhD, DSc, Professor,
Honored Scientist of Russia,
Deputy Director (Science), V. A. Negovsky Scientific
Research Institute of General Reanimatology*

EDITORIAL COMMITTEE

I. G. BOBRINSKAYA, MD, PhD, DSc, Professor,

*Department of Anesthesiology
and Reanimatology, Moscow Medical
Dental University (Moscow, Russia)*

L. BOSSAERT, MD, Professor, Department of Intensive

*Care and Emergency Medicine, University Antwerp-UIA,
Member, Board of Advisory Committee, European Resuscitation
Council University of Antwerpen (Belgium)*

A. A. BUNYATYAN, MD, PhD, DSc, Professor, Member of RAS,

*Head, Section of Anesthesiology
and Reanimatology, B.V. Petrovsky Russian
Research Surgical Center,
Head, Department of Anesthesiology
and Reanimatology, I. M. Sechenov 1st Moscow
State Medical University (Moscow, Russia)*

M. A. VYZHIGINA, MD, PhD, DSc, Professor,

*Department of Anesthesiology and Reanimatology,
I. M. Sechenov 1st Moscow State Medical University
(Moscow, Russia)*

O. A. DOLINA, MD, PhD, DSc, Professor,

*Department of Anesthesiology and Reanimatology,
I. M. Sechenov 1st Moscow State Medical University
(Moscow, Russia)*

Dr. V. L. ZELMAN, Professor, Member of RAS,

*Director of Neuroanesthesia, Keck School of Medicine,
Professor and Clinical Chair of Anesthesiology,
Keck School of Medicine, Professor of Neurology and Neurological
Surgery, Keck School of Medicine, Member, USC Program
in Neural, Informational and Behavioral Sciences,
Keck Hospital of USC (USA)*

N. A. KARPUN, MD, PhD, DSc,

*Vice-Chairman in Anesthesiology,
the 68th Moscow City Hospital
(Moscow, Russia)*

I. A. KOZLOV, MD, PhD, DSc, Professor,

*Head, the Research managing Section,
V. A. Negovsky Scientific Research Institute
of General Reanimatology (Moscow, Russia)*

A. N. KORNIYENKO, MD, PhD, DSc,

*Head, Cardiac Intensive Care Unit,
the A. A. Vishnevsky Central Military Clinical
Hospital №3, Russian Ministry of Defence (Moscow, Russia)*

P. KOCHANNEK, MD, FCCM, Professor and Vice Chairman

*Department of Critical Care Medicine, Professor of Anesthesiology,
Pediatrics and Clinical and Translational Science, Director,
P. Safar Center for Resuscitation Research,
University of Pittsburgh School of Medicine (USA)*

Профессор Ф. Д. ЛАМБ <i>заведующий кафедрой анестезиологии, Медицинская школа Keck, США</i> Профессор В. В. ЛИХВАНЦЕВ <i>Заведующий реаниматологическим отделом Московского областного научно-исследовательского клинического института им. М. Ф. Владимирского</i> Академик РАН, профессор Е. А. ЛУЖНИКОВ <i>Заведующий научным отделом лечения острых отравлений Научно-исследовательского института скорой помощи им. Н. В. Склифосовского Департамента здравоохранения города Москвы</i> Доктор медицинских наук Ю. В. МАРЧЕНКОВ <i>Заведующий отделением реаниматологии Городской клинической больницы им. С. П. Боткина Департамента здравоохранения города Москвы</i> Профессор Ю. В. НИКИФОРОВ <i>Заведующий клиническим отделом Научно-исследовательского института общей реаниматологии им. В. А. Неговского</i> Член-корреспондент РАН, профессор Г. В. ПОРЯДИН <i>Заведующий кафедрой патологической физиологии Российского национального исследовательского медицинского университет им. Н. И. Пирогова Минздрава России</i> Профессор В. И. РЕШЕТНЯК <i>Ученый секретарь Научно-исследовательского института общей реаниматологии им. В. А. Неговского</i> Член-корреспондент РАН, профессор А. И. САЛТАНОВ <i>Заведующий реаниматологическим отделом Научно-исследовательского института детской онкологии и гематологии Российского онкологического научного центра им. Н. Н. Блохина</i> Профессор Г. СИЛВЕЙ <i>Профессор кафедры анестезиологии, Медицинская школа Mount Sinai, США</i> Академик РАН, профессор Г. А. СОФРОНОВ <i>Директор Научно-исследовательского института экспериментальной медицины, СЗО РАН</i> Доктор медицинских наук С. Е. ХОРОШИЛОВ <i>Начальник отделения гемодиализа Главного военного клинического госпиталя им. Н. Н. Бурденко</i> Профессор А. М. ЧЕРНЫШ <i>Заведующий лабораторией биофизики мембран клеток при критических состояниях Научно-исследовательского института общей реаниматологии им. В. А. Неговского</i> Академик РАН, профессор Ю. Л. ШЕВЧЕНКО <i>Президент Национального медико-хирургического центра им. Н. И. Пирогова</i> Член-корреспондент РАН, профессор И. В. ЯРЕМА <i>Заведующий кафедрой хирургии Московского государственного медико-стоматологического университета</i>	P. D. LUMB, MB, BS, MCCM, Professor of Anesthesiology, Chair, Department of Anesthesiology, Keck Hospital of USC, USC Norris Comprehensive Cancer Center and Hospital (USA) V. V. LIKHVANTSEV, MD, PhD, DSc, Professor, Head, Reanimatology Department, M. F. Vladimirsky Moscow Region Clinical Research Institute (Moscow, Russia) E. A. LUZHNIKOV, MD, PhD, DSc, Professor, Member of RAS, Head, Research Section for the treatment of acute poisoning, N. V. Sklifosofsky Moscow Research Institute of Emergency Medicine, Chief toxicologist, Russian Ministry of Public Health (Moscow, Russia) Yu. V. MARCHENKOV, MD, PhD, DSc, Head, Intensive Care Unit, S. P. Botkin Moscow City Hospital (Moscow, Russia) Yu. V. NIKIFOROV, MD, PhD, DSc, Professor Head of clinical department V. A. Negovsky Scientific Research Institute of General Reanimatology (Moscow, Russia) G. V. PORYADIN, MD, PhD, DSc, Professor, Corr. Member of RAS, Head, Department of Pathological Physiology, N. I. Pirogov's Russian National Research Medical University (Moscow, Russia) V. I. RESHETNYAK, MD, PhD, DSc, Professor, Academic Secretary, V. A. Negovsky Scientific Research Institute of General Reanimatology (Moscow, Russia) A. I. SALTANOV, MD, PhD, DSc., Professor, Corr. Member of RAS, Head, Section of Anesthesiology and Reanimatology, Research Institute of Pediatric Oncology and Hematology, N. N. Blokhin Russian Oncology Research Center (Moscow, Russia) G. SILVAY, MD, Professor, Department of Anesthesiology, Mount Sinai School of Medicine, (New York, USA) G. A. SOFRONOV, MD, PhD, DSc, Professor, Member of RAS, Director Research Institute of Experimental Medicine, (St.Petersburg, Russia) S. E. KHOROSHILOV, MD, PhD, DSc., Head, Extracorporeal Detoxication Unit, N. N. Burdenko Main Clinical Military Hospital, Russian Ministry of Defence (Moscow, Russia) A. M. CHERNYSH, PhD, DSc., Professor, Head, Laboratory of biophysics of cell membranes of critical illness, V. A. Negovsky Scientific Research Institute of General Reanimatology (Moscow, Russia) Yu. L. SHEVCHENKO, MD, PhD, DSc., Professor, Member of RAS, President, N. I. Pirogov National Medical Surgical Center, Russian Ministry of Public Health (Moscow, Russia) I. V. YAREMA, MD, PhD, DSc., Professor, Corr. Member of RAS, Honored Scientist of Russia, Head, Department of Surgery, Moscow Medical Dental University (Moscow, Russia)
НАУЧНЫЕ РЕДАКТОРЫ Профессор В. М. ПИСАРЕВ <i>Заведующий лабораторией молекулярных механизмов критических состояний Научно-исследовательского института общей реаниматологии им. В. А. Неговского</i> Доктор медицинских наук Д. А. ОСТАПЧЕНКО <i>Заведующий отделением реанимации и интенсивной терапии Городской клинической больницы №1 им. Н. И. Пирогова Департамента здравоохранения города Москвы</i>	SCIENTIFIC EDITORS V. M. PISAREV, MD, PhD, DSc, Professor, Head, Laboratory of molecular mechanisms of critical illness, V. A. Negovsky Scientific Research Institute of General Reanimatology (Moscow, Russia) D. A. OSTAPCHENKO, MD, PhD, DSc, Head, Intensive Care Unit N. I. Pirogov Moscow City Hospital №1 (Moscow, Russia)

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

- Академик РАН, профессор **С. Ф. БАГНЕНКО**
Ректор Первого Санкт-Петербургского
государственного медицинского университета
им. академика И. П. Павлова (С.-Петербург)
- Профессор **Г. А. БОЯРИНОВ**
Зав. кафедрой анестезиологии-реаниматологии
Нижегородской государственной
медицинской академии (Н.-Новгород)
- Доктор медицинских наук **Г. В. ГВАК**
Зав. отделением анестезиологии-реаниматологии
Областной детской клинической больницы (Иркутск)
- Профессор **Е. В. ГРИГОРЬЕВ**
Зам. директора по научной и лечебной работе
НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых
заболеваний СО РАН (Кемерово)
- Профессор **А. И. ГРИЦАН**
Зав. кафедрой анестезиологии-реаниматологии
Красноярского государственного медицинского университета
(Красноярск)
- Профессор **В. Т. ДОЛГИХ**
Зав. кафедрой патологической физиологии
с курсом клинической патофизиологии
Омской государственной медицинской академии (Омск)
- Профессор **А. Я. ЕВТУШЕНКО**
Президент Кемеровской государственной
медицинской академии (Кемерово)
- Профессор **М. Н. ЗАМЯТИН**
Зав. кафедрой анестезиологии-реаниматологии
Института усовершенствования врачей
Национального медико-хирургического центра
им. Н. И. Пирогова (Москва)
- Профессор **А. А. ЗВЯГИН**
Главный научный сотрудник Института
хирургии им. А. В. Вишневского, (Москва)
- Профессор **И. Б. ЗАБОЛОТСКИХ**
Зав. кафедрой анестезиологии, реаниматологии
и трансфузиологии Кубанского государственного
медицинского университета (Краснодар)
- Профессор **В. Б. КОШЕЛЕВ**
Зав. кафедрой нормальной и патологической физиологии
факультета фундаментальной медицины
Московского государственного университета
им. М. В. Ломоносова (Москва)
- Профессор **Г. А. ЛИВАНОВ**
Ведущий научный сотрудник
НИИ скорой медицинской помощи
им. И. И. Джанелидзе (С.-Петербург)
- Профессор **В. Н. ЛУКАЧ**
Профессор кафедры анестезиологии-реаниматологии
Омской государственной медицинской академии (Омск)
- Профессор **Р. И. НОВИКОВА**
Профессор кафедры анестезиологии-реаниматологии Донецкого
государственного университета (Донецк, Украина)
- Профессор **И. Ф. ОСТРЕЙКОВ**
Зав. кафедрой анестезиологии, реаниматологии
и токсикологии Российской медицинской академии
последипломного образования (Москва)
- Член-корреспондент РАН, профессор **Ю. С. ПОЛУШИН**
Зав. кафедрой анестезиологии-реаниматологии
Первого Санкт-Петербургского государственного
медицинского университета им. академика И. П. Павлова,
(С.-Петербург)
- Профессор **Д. В. САДЧИКОВ**
Зав. кафедрой анестезиологии-реаниматологии
Государственного медицинского университета (Саратов)

EDITORIAL BOARD

- S. F. BAGNENKO**, MD, PhD, DSc, Professor, Member of RAS,
Chancellor, the Academician I. P. Pavlov St. Petersburg
First Medical State University
(St. Petersburg, Russia)
- G. A. BOYARINOV**, MD, PhD, DSc, Professor,
Head, Department of Anesthesiology and Reanimatology,
Nizhniy Novgorod State Medical Academy
(Nizhniy Novgorod, Russia)
- G. V. GVAK**, MD, PhD, DSc,
Head, Department of Anesthesiology and Reanimatology,
Regional Children's Hospital (Irkutsk, Russia)
- E. V. GRIGORYEV**, MD, PhD, DSc, Professor,
Deputy Director (Science), Research Scientific Institute
of Clinical Studies of complex problems of cardiovascular diseases,
Siberian Branch, RAS (Kemerovo, Russia)
- A. I. GRITSAN**, MD, PhD, DSc, Professor,
Head, Department of Anesthesiology and Reanimatology,
Krasnoyarsk State Medical University
(Krasnoyarsk, Russia)
- V. T. DOLGIH**, MD, PhD, DSc, Professor,
Head, Department of pathological physiology
with the clinical course of pathophysiology,
Omsk State Medical Academy (Omsk, Russia)
- A. Ya. EVTUSHENKO**, MD, PhD, DSc, Professor,
President, Kemerovo State Medical Academy
(Kemerovo, Russia)
- M. N. ZAMYATIN**, MD, PhD, DSc, Professor,
Head, Department of Anesthesiology and Reanimatology,
Institute of Advanced Medical Studies,
N. I. Pirogov National Medical Surgery Center
(Moscow, Russia)
- A. A. ZVYAGIN**, MD, PhD, DSc, Professor,
Chief Scientist, A. V. Vishnevsky Institute of Surgery
(Moscow, Russia)
- I. B. ZABOLOTSKIH**, MD, PhD, DSc, Professor,
Head, Department of Anesthesiology, Resuscitation
and Transfusion Medicine, Kuban State Medical University
(Krasnodar, Russia)
- V. B. KOSHELEV**, MD, PhD, DSc, Professor,
Head, Department of Normal and Pathological Physiology,
Faculty of Fundamental Medicine,
Moscow State University
(Moscow, Russia)
- G. A. LIVANOV**, MD, PhD, DSc, Professor,
Chief Scientist, I. I. Dzhanelidze Institute
of Emergency Medical Care
(St. Petersburg, Russia)
- V. N. LUKACH**, MD, PhD, DSc, Professor,
Department of Anesthesiology and Reanimatology,
Omsk State Medical Academy (Omsk, Russia)
- R. I. NOVIKOVA**, MD, PhD, DSc, Professor,
Department of Anesthesiology and Reanimatology,
Donetsk State University (Donetsk, Ukraine)
- I. F. OSTREYKOV**, MD, PhD, DSc, Professor,
Head Department of Anesthesiology,
Reanimatology and Toxicology, Medical Academy
of Postgraduate Education, (Moscow, Russia)
- Yu. S. POLUSHIN**, MD, PhD, DSc, Professor, Corr. Member of RAS,
Department of Anesthesiology and Reanimatology,
I. P. Pavlov St. Petersburg State Medical University
(St. Petersburg, Russia)
- D. V. SADCHIKOV**, MD, PhD, DSc, Professor,
Head, Department of Anesthesiology and Reanimatology,
State Medical University (Saratov, Russia)

Профессор С. В. СВИРИДОВ
Зав. кафедрой анестезиологии-реаниматологии
Российского национального исследовательского
медицинского университета им. Н. И. Пирогова, (Москва)

Член-корреспондент УАМН, профессор **Л. В. УСЕНКО**
Зав. кафедрой анестезиологии-реаниматологии
Днепропетровской медицинской академии,
(Днепропетровск, Украина)

Профессор **Н. Д. УШАКОВА**
Руководитель отдела экстракорпоральных методов лечения
Ростовского научно-исследовательского
онкологического института, (Ростов-на-Дону)

Профессор **Н. В. ШАПОВАЛОВА**
Профессор кафедры анестезиологии-реаниматологии
Воронежской государственной
медицинской академии (Воронеж)

Технический секретарь Н. В. Голубева

Учредитель и издатель журнала
«Общая реаниматология»

© Научно-исследовательский институт
общей реаниматологии им. В. А. Неговского
© Фонд «Медицина критических состояний»

Адрес редакции:
107031, Москва, ул. Петровка, 25, стр. 2.
Тел./факс: +7-495-694-17-73, +7-495-694-27-08,
+7-495-694-65-05.

E-mail: journal_or@mail.ru.

Отдел рекламы:
Тел./факс: +7-495-694-65-05, +7-495-650-25-20.
E-mail: vasily.reshetnyak@yandex.ru.

Рецензируемый журнал «Общая реаниматология»
зарегистрирован Федеральной службой по надзору
за соблюдением законодательства в сфере массовых
коммуникаций и охране культурного наследия
02 ноября 2004 года.

Свидетельство о регистрации средства массовой информации
ПИ № ФС77-18690

© Оригинал-макет подготовлен в научно-организационном
отделе НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского
Верстка С. В. Шишков

Роспечать:

Индекс 46338 — для индивидуальных подписчиков.

Индекс 46339 — для предприятий и организаций.

ISSN 1813-9779; Установочный тираж 3000 экз.

Отпечатано в типографии г. Рыбинск, тел.: +7 (4855) 26-44-02.

Рецензируемый журнал «Общая реаниматология»
входит в Перечень ВАК периодических научных
и научно-технических изданий, выпускаемых
в Российской Федерации, в которых рекомендуется публикация
основных результатов диссертаций на соискание ученой степени
доктора или кандидата наук. Рукописи публикуются бесплатно

Рецензируемый журнал «Общая реаниматология»
включен в реферативные и справочные издания:
Российский Индекс научного цитирования (РИНЦ),
Index Copernicus International PLC
Каталог периодических изданий Ульрих
Реферативный журнал ВИНИТИ (ВИНИТИ РАН)
Двухлетний импакт-фактор журнала в РИНЦ — 1,822

S. V. SVIRIDOV, MD, PhD, DSc, Professor,
Head, Department of Anesthesiology and Reanimatology,
N. I. Pirogov's Russian National Research Medical University
(Moscow, Russia)

L. V. USENKO, Corr. Member of UAMS, MD, PhD, DSc, Professor,
Head, Department of Anesthesiology and Reanimatology,
Dnepropetrovsk Medical Academy
(Dnepropetrovsk, Ukraine)

N. D. USHAKOVA, MD, PhD, DSc, Professor,
Head, Department of extracorporeal therapies,
Rostov Cancer Research Institute,
(Rostov-on-Don, Russia)

N. V. SHAPOVALOVA, MD, PhD, DSc, Professor,
Department of Anesthesiology and Reanimatology,
Voronezh State Medical Academy
(Voronezh, Russia)

Technical Secretary: N. V. Golubeva

The founder and publisher of the journal
«Obshchaya Reanimatologiya» (General Reanimatology)
© V. A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology
© «Emergency Medicine» Fund

Editorial Office address
25 Petrovka St., Build. 2, Moscow 107031.
Tel./fax: +7-495-694-17-73; +7-495-694-27-08;
+7-495-694-65-05
E-mail: journal_or@mail.ru

Advertising Department
Tel./fax: +7-495-694-65-05; +7-495-650-25-20.
E-mail: vasily.reshetnyak@yandex.ru

Peer-reviewed «General Reanimatology» Journal is registered
in the Federal Inspection Service for the compliance
with the legislation regarding mass media communication
and cultural heritage protection (November 2, 2004).
Registration certificate PI No. FC77-18690
Artwork: Research-Organizational Department,
V. A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology
Page-proof — Sergey V. Shishkov

Index 46338 — for individual subscribers.
Index 46339 — for corporate subscribers.
ISSN 1813-9779.
Circulation — 3000 copies.
Printed in printing house
of the city of Rybinsk, +7 (4855) 26-44-02..

Peer-reviewed «General Reanimatology» Journal is involved
in the Supreme Certifying Commission List
of the Russian periodical and research issues
in which the publication of PhD (candidate and doctoral)
works are recommended.
Manuscripts are published free-of-charge.

Peer-reviewed journal «General Reanimatology»
indexed and abstracted in:
Russian Science Citation Index (RSCI),
Index Copernicus International PLC
Ulrich's Periodicals Directory Abstract Journal
Russian Institute for Scientific
and Technical Information (VINITIRAS)
Two-Year Impact Factor 1.822
(Russian Science Citation Index)

ТРАВМА. КРОВОПОТЕРЯ

INJURY. BLOOD LOSS

- Мороз В. В., Новодержкина И. С., Антошина Е. М.,
Афанасьев А. В., Рыжков И. А., Заржецкий Ю. В.
Коррекция пойкилоцитоза и биохимических показателей
крови при острой кровопотере
Коннов Д. Ю., Коннова Т. Ю.,
Лукьянов С. А., Шаповалов К. Г.
Изменения ритма сердца и дыхания
при острой общей холодовой травме
- 6 Moroz V. V., Novoderzhkina I. S., Antoshina E. M.,
Afanasyev A. V., Ryzhkov I. A., Zarzhetsky Yu. V.
Correction of Poikilocytosis and Blood Biochemical
Indicators in Acute Blood Loss
16 Konnov D. Yu., Konnova T. Yu.,
Lukyanov S. A., Shapovalov K. G.
Changes in Heart Rhythm and Breathing
in Acute Systemic Injury Due to Cold

ПНЕВМОНИЯ.
ОСТРЫЙ РЕСПИРАТОРНЫЙ ДИСТРЕСС-СИНДРОМPNEUMONIA.
ACUTE RESPIRATORY DISTRESS SYNDROME

- Смелая Т. В., Кузовлев А. Н., Мороз В. В.,
Голубев А. М., Белопольская О. Б., Сальникова Л. Е.
Молекулярно-генетические маркеры
нозокомиальной пневмонии
и острого респираторного дистресс-синдрома
- 24 Smelaya T. V., Kuzovlev A. N., Moroz V. V.,
Golubev A. M., Belopolskaya O. B., Salnikova L. E.
Search for Common Molecular Genetic Markers
of Nosocomial Pneumonia
and Acute Respiratory Distress Syndrome

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

ORIGINAL INVESTIGATIONS

- Сергунова В. А., Козлова Е. К.,
Мяжкова Е. А., Черныш А. М.
Измерение упруго-эластических свойств мембраны
нативных эритроцитов *in vitro*
Острова И. В., Аврущенко М. Ш.
Экспрессия мозгового нейротрофического фактора (BDNF)
повышает устойчивость нейронов
к гибели в постреанимационном периоде
Мороз Г. Б., Фоминский Е. В., Шилова А. Н.,
Караськов А. М., Корнилов И. А.,
Пустоветова М. Г., Ломиворотов В. В.
Влияние целенаправленной терапии
различными инфузионными средами
на содержание внесосудистой воды легких
у кардиохирургических больных
- 39 Sergunova V. A., Kozlova E. K.,
Myagkova E. A., Chernysh A. M.
In Vitro Measurement of the Elastic Properties
of the Native Red Blood Cell Membrane
45 Ostrova I. V., Avrushchenko M. Sh.
Expression of Brain-Derived Neurotrophic
Factor (BDNF) Increases the Resistance
of Neurons to Death in the Postresuscitation Period
54 Moroz G. B., Fominsky E. V., Shilova A. N.,
Karaskov A. M., Kornilov I. A.,
Pustovetova M. G., Lomivorotov V. V.
Impact of Goal-Oriented Therapy
with Different Infusion Media
on Pulmonary Extravascular Water Levels
in Cardiac Surgery Patients

В ПОМОЩЬ ПРАКТИКУЮЩЕМУ ВРАЧУ

GUIDELINES FOR PRACTITIONER

- Исмаилов Е. Л., Ералина С. Н.,
Текесбаев Б. Б., Абдрасулов Р. Б.
Методы экстракорпоральной детоксикации
при лечении некротической формы панкреатита
- 65 Ismailov E. L., Eralina S. N.,
Tekesbaev B. B., Abdrasulov R. B.
Extracorporeal Detoxification Methods
in the Treatment of Pancreatic Necrosis

ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ АВТОРОВ

75 INFORMATION FOR AUTHORS

Комиссия Content Selection&Advisory Board (CSAB)
приняла решение о включении журнала
«Общая реаниматология» в базу данных Scopus
(март 2015)

The Content Selection&Advisory Board (CSAB)
has advised that the title General Reanimatology
will be accepted for inclusion in Scopus
(march 2015)

КОРРЕКЦИЯ ПОЙКИЛОЦИТОЗА И БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КРОВИ ПРИ ОСТРОЙ КРОВОПОТЕРЕ

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

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

Correction of Poikilocytosis and Blood Biochemical Indicators in Acute Blood Loss

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

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

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

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

Адрес для корреспонденции:

Ирина Новодержкина
E-mail: novodergkina@yandex.ru

Correspondence to:

Irina Novoderzhkina
E-mail: novodergkina@yandex.ru

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

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

Введение

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

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

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

Introduction

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

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

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

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

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

Материал и методы

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

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

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

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

Materials and Methods

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

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

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

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

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

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

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

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

Результаты и обсуждение

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

Results and Discussion

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Note (примечание): # $P \leq 0.05$ между группами 1 и 2; * $P \leq 0.05$ по сравнению с группой 3; group — группа; 1 — control — контрольная; 2 — test — опытная; 3 — intact — интактные; discocytes distribution according to their size — распределение дискоцитов по размеру; the average size of discocytes — средний диаметр дискоцитов; the percentage of reticulocytes and red blood cells modified forms — процентное содержание ретикулоцитов и измененных эритроцитов; reticulocytes — ретикулоциты; stomatocytes — стоматоциты; echinocytes — эхиноциты; less than — до; more than — более; μm — мкм.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Conclusion

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

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

Выводы

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

Литература

- Gutierrez G., Reines H.D., Wulf-Gutierrez M.E. Clinical review: hemorrhagic shock. *Crit. Care*. 2004; 8 (5): 373–381. PMID: 15469601
- Мороз В.В., Остапченко Д.А., Мещеряков Г.Н., Радаев С.М. Острая кровопотеря. Взгляд на проблему. *Анестезиология и реаниматология*. 2002; 6: 4–9. PMID: 12611147
- Vincent J.L., Baron J.F., Reinhart K., Gattinoni L., Thijs L., Webb A., Meier-Hellmann A., Nollet G., Peres-Bota D.; ABC (Anemia and Blood Transfusion in Critical Care) Investigators. ABC Investigators: anemia and blood transfusion in critically ill patients. *JAMA*. 2002; 288 (12): 1499–1507. PMID: 12243637
- Мороз В.В., Крылов Н.Л., Иваницкий Г.Р., Кайдаш А.Н., Онищенко Н.А. Применение перфторана в клинической медицине. *Анестезиология и реаниматология*. 1995; 6: 12–17. PMID: 8713413
- Воробьев С.И. Биологические и физико-химические свойства неионогенных поверхностно-активных веществ — стабилизаторов эмульсий. *Рос. биотерапевт. журн.* 2009; 8 (3): 3–8.
- Мороз В.В., Голубев А.М., Афанасьев А.В., Кузовлев А.Н., Сергунова В.А., Гудкова О.Е., Черныш А.М. Строение и функция эритроцита в норме и при критических состояниях. *Общая реаниматология*. 2012; 8 (1): 52–60. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2012-1-52>
- Мороз В.В., Мяжкова Е.А., Сергунова В.А., Гудкова О.Е., Остапченко Д.А., Черныш А.М., Решетняк В.И. Морфологические особенности эритроцитов у больных с тяжелой сочетанной травмой. *Общая реаниматология*. 2013; 9 (3): 14–23. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-3-14>
- Preliminary administration of Perftoran increases an average diameter of discocytes and prevents the development of their transformation to echinocytes the day after blood loss and autotransfusion, indicating a lower severity of destructive changes in the cell membrane.
- The day after the blood loss and autotransfusion the suppression of erythropoiesis becomes evident in bone marrow that is manifested by a significant reduction in the content of reticulocytes in peripheral blood. Preliminary administration of Perftoran improves the regenerative capacity of bone marrow, which is manifested by increasing reticulocytes content in the peripheral blood in comparison with intact animals.

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

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

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

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

References

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

Injury. Blood Loss

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

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

Submitted 10.01.2015

ИЗМЕНЕНИЯ РИТМА СЕРДЦА И ДЫХАНИЯ ПРИ ОСТРОЙ ОБЩЕЙ ХОЛОДОВОЙ ТРАВМЕ

Д. Ю. Коннов, Т. Ю. Коннова, С. А. Лукьянов, К. Г. Шаповалов

Читинская государственная медицинская Академия
Россия, 672090, г. Чита, ул. Горького 39-а

Changes in Heart Rhythm and Breathing in Acute Systemic Injury Due to Cold

D. Yu. Konnov, T. Yu. Konnova, S. A. Lukyanov, K. G. Shapovalov

Chita State Medical Academy
39-a, Gorky St., Chita 672090, Russia

Цель работы — выявить закономерности изменения ритма сердца и дыхания у больных с острой общей холодовой травмой в гипотермическом и раннем постгипотермическом периодах. **Материалы и методы.** Обследовано 30 пациентов в возрасте от 18 до 60 лет (3 группы по 10 больных — с легкой, средней и тяжелой степенью холодовой травмы) в гипотермическом и раннем постгипотермическом периодах. Группы больных не отличались по полу, возрасту и массе тела. Всем пациентам при поступлении проводили электрокардиографию высокого разрешения по Холтеру в течение первых 24-часов, с помощью, которой зарегистрированы нарушения ритма сердца и дыхания. **Результаты.** На фоне проводимой терапии, установлено, что у пациентов по мере возрастания степени тяжести острой общей холодовой травмы, снижалась частота сердечных сокращений (от 102 [90; 122] ударов в минуту в 1 группе до 49 [38; 58] ударов в минуту в 3 группе), и возрастал циркадный индекс (от 105 [88; 125]% в 1 группе до 210 [185; 223]% в 3 группе). С увеличением степени гипотермии у пострадавших выявляли прогрессирующие нарушения ритма и электрической проводимости сердца: миграцию наджелудочкового водителя ритма, одиночные и парные наджелудочковые экстрасистолы, пароксизмы предсердной тахикардии, фибрилляции предсердий, желудочковые экстрасистолы. Отмечали снижение вариабельности сердечного ритма во всех исследуемых группах, в наибольшей степени у больных с тяжелой общей холодовой травмой. Поздние потенциалы желудочков были обнаружены у 2 пациентов со средней степенью и у 7 пациентов с тяжелой степенью холодовой травмы. Нарушения дыхания регистрировали во всех группах исследования, причем максимальное повышение частоты и длительности эпизодов апноэ/гипопноэ отмечали у больных с тяжелой формой гипотермии. Летальный исход наступил у 4 из 10 пациентов с критической гипотермией в результате возникновения идиовентрикулярного ритма с переходом в асистолию. **Заключение.** Системная гипотермия сопровождается нарушением ритма и электрической проводимости сердца, а также депрессией дыхания, которые прогрессируют по мере возрастания тяжести острой общей холодовой травмы и в случае критической гипотермии могут привести к летальному исходу. **Ключевые слова:** острая общая холодовая травма, суточное мониторирование ЭКГ, ЭКГ высокого разрешения, вариабельность сердечного ритма, поздние потенциалы желудочков, реопневмограмма.

Objective: to reveal the patterns of a change in heart rhythm and breathing in patients with acute systemic injury due to cold in hypothermic and early posthypothermic periods. **Subjects and methods.** Thirty patients aged 18 to 60 years (3 groups of 10 patients with mild, moderate, and severe cold injury) were examined in hypothermic and posthypothermic periods. The patient groups did not differ in gender, age, and weight. Within the first 24 hours after admission, all the patients underwent high-resolution Holter electrocardiographic monitoring that recorded cardiac arrhythmias and breathing disorders. **Results.** During the therapy performed, as the degree of acute systemic cold injury increased, the patients were found to have a heart rate reduction (from 102 [90; 122] beats/min in Group 1 to 49 [38; 58] beats/min in Group 3) and a circadian index increase (from 105 [88; 125]% in Group 1 to 210 [185; 223]% in Group 3). With increased hypothermia, the victims were detected to have progressive cardiac rhythm and cardiac electrical conduction disturbances, such as supraventricular pacemaker migration, single and paired supraventricular premature beats, paroxysmal atrial tachycardia, atrial fibrillations, and ventricular premature beats. There was decreased heart rhythm variability in all the study groups, to the greatest extent in the patents with severe systemic cold injury. Late ventricular potentials were found in 2 and 7 patients with moderate and severe cold injury, respectively. Breathing disorders were recorded in all the study groups, the greatest increase in the frequency and duration of apnea/hypopnea episodes was noted in the patients with severe hypothermia. A fatal outcome occurred in 4 of the 10 patients with critical hypothermia due to the occurrence of idioventricular rhythm with transition to asystole. **Conclusion.** Systemic hypothermia is accompanied by cardiac rhythm and cardiac electrical conduction disturbances and respiratory depression, which progress with the higher degree of acute systemic cold injury and, in case of critical hypothermia, may lead to a fatal outcome. **Key words:** acute systemic injury due to cold, 24-hour ECG monitoring, high-resolution ECG, heart rhythm variability, late ventricular potentials, rheopneumogram.

DOI:10.15360/1813-9779-2015-3-16-23

Адрес для корреспонденции:

Денис Коннов
E-mail: konnov1917@mail.ru

Correspondence to:

Denys Konnov
E-mail: konnov1917@mail.ru

Введение

Известно, что холодовая травма часто встречается в регионах Сибири и на Крайнем Севере, где поражение организма холодом является краевой патологией. Ежегодно регистрируется значительный уровень летальности в результате действия холода (по данным областного судебно-медицинского бюро г. Читы, в период с 2001 г. по 2010 г. погибло 1472 человека) [1]. Вместе с тем, патогенез и танатогенез холодовой травмы требует уточнения.

При острой общей холодовой травме (ООХТ) минимальная температура тела, совместимая с жизнью, составляет $+24 - +26^{\circ}\text{C}$ [2]. Течение данной патологии зависит от функционального состояния нервных центров (глубокие структуры головного мозга, ретикулярная формация ствола мозга, центры симпатической иннервации) раздражение которых происходит под влиянием глубоких рецепторов (сосредоточенных в гипоталамусе, таламусе, среднем, продолговатом мозге, в верхних отделах спинного мозга), терморецепторов кожи, слизистых оболочек, термических рецепторов сосудов [3]. Холодовой фактор приводит к нарушениям вегетативного статуса, проявляющихся вегетативным дисбалансом, в том числе, нарушениями ритма и электрической проводимости сердца [4,5]. При гипотермии 30°C возникают: синусовая брадикардия, удлинение интервала PQ, комплекса QRS, интервала QT, инверсия зубца T, появление зубца U, может развиваться мерцательная аритмия, атриовентрикулярный узловый ритм, желудочковая тахикардия, смещение сегмента ST вверх и появление зубца Осборна — J wave, а при температуре $29^{\circ}\text{C} - 28^{\circ}\text{C}$ резко возрастает опасность развития фибрилляции желудочков сердца, которая может возникнуть не только в гипотермическом периоде, но и в процессе согревания [6, 7].

В условиях глубокой гипотермии первичной причиной смерти является остановка дыхания [8]. По мере снижения температуры тела возрастает сродство гемоглобина с кислородом, повышается вязкость крови, снижается насосная функция сердца и легочная вентиляция, угнетается активность дыхательных центров [8, 9].

Следует отметить, что проведенные комплексные исследования нарушений сердечного ритма и дыхания касаются, прежде всего, кардиологических и пульмонологических больных. У пациентов с острой общей холодовой травмой подобные исследования единичны. В связи с этим, цель данной работы — выявление закономерностей изменения ритма сердца и дыхания у больных с острой общей холодовой травмой в гипотермическом и раннем постгипотермическом периодах представляется весьма актуальной.

Материал и методы

В исследование включили 30 пациентов в возрасте от 18 до 60 лет (3 группы по 10 больных — с легкой, средней и тяжелой степенью гипотермии), госпитализированных в отделение реанимации центра термической травмы городской клинической больницы №1 г. Читы в гипотермическом периоде ООХТ. Группы больных не отличались по полу, возрасту и массе тела.

Introduction

Injury due to cold (IDC) occurs frequently in the Siberian and Far North areas where it is defined as a regional pathology. A significant mortality level due to cold exposure is registered annually. According to Chita Regional Forensic Bureau, 1472 persons died because of cold injury during the period of 2001–2010 [1]. At present the pathogenesis and thanatogenesis of IDC has not been studied properly despite of numerous research works.

In acute IDC the temperature limits for the human body are $24-26^{\circ}\text{C}$. [2]. The course of this pathology depends on the functional condition of the nerve centers (deep brain structures, reticular formation of the brain stem, sympathetic innervations centers) irritated by deep receptors (concentrated in hypothalamus, thalamus, midbrain, medulla, and in the upper part of the spinal cord), skin and mucosa thermal receptors and those of the blood vessels [3]. It leads to vegetative status disturbance revealed by the vegetative imbalance and cardiac rhythm changes [4]. At the beginning of exposure to low temperature, the changes in autonomic tone type revealed by sympathicotonia are initiated. Cardiac activity increases at the beginning of body cooling and then gradually decreases with lowering of body temperature up to $32-30^{\circ}\text{C}$. Marked bradycardia, decreases of systolic blood pressure and minute and stroke volumes are becoming evident [5, 6]. Various cardiac rhythm disturbances occur when the body temperature falls to 30°C including sinus bradycardia, prolongation of PQ and QT intervals, prolongation of QRS complex, T-wave inversion, emerging of U-wave. Atrial fibrillation, atrioventricular nodal rhythm, ventricular tachycardia are also developed. When the body temperature is $29-28^{\circ}\text{C}$, a danger of ventricular fibrillation sharply increases, which may occur not only during the lowering of body temperature, but also during body warming. The shift of ST segment and emerging of J-wave are an evidence of cardiac fibrillation [6, 7].

Respiratory arrest is an initial cause of death in deep hypothermia [8]. Since the body temperature decreases, the oxygen affinity of hemoglobin as well as blood viscosity increases. Decrease of cardiac activity and pulmonary ventilation is observed. It depresses the respiratory centers, pulmonary ventilation and reduces the blood oxygen saturation and respiratory arrest [8, 9].

It is worth of noting that deep investigations of the changes of heart rhythm concern predominantly the pathology of cardiological and pulmonological profiles. As for the investigations of marked impairments of cardiac activity and respiration in patients with cold injury, there are only some of them. Most of studies dealing with the peculiarities of blood circulation in cold injury consider only the periods of the localized injury to body parts — peripheral cold injury. The purpose of this study was to identify patterns of changes of heart rhythm and respiratory changes in patients with IDC of various severity.

Injury. Blood Loss

Таблица 1. Основные клинические показатели пациентов с общей острой холодовой травмой (ООХТ).
Table 1. Main clinical parameters in patients with acute systemic hypothermia (IDC).

Main clinical parameters	Mild IDC	Moderate IDC	Severe IDC
Rectal temperature (°C)	35.3 [34.2; 36.1]	33.6 [32.4; 35.0]	31.0 [30.1; 32.3]
Consciousness	clear	sopor	coma I–II
Systolic arterial pressure (mm Hg)	136 [122; 145]	112 [101; 120]	75 [63; 88]
Diastolic arterial pressure (mm Hg)	98 [88; 104]	68 [60; 73]	33 [30; 38]
Heart rate (beats per minute)	102 [90; 122]	88 [65; 104]	52 [38; 66]
Respiration rate (breaths per min)	24 [19; 27]	15 [12; 18]	11 [10; 14]
Glycemia (mM/L)	4.2 [3.3; 5.7]	2.6 [2.2; 3.2]	1.7 [1.5; 1.8]

Note (примечание): Main clinical parameters — основные клинические показатели; rectal temperature — температура тела в прямой кишке; consciousness — степень утраты сознания; clear — ясное; sopor — сонор; coma — кома; systolic arterial pressure — систолическое артериальное давление; diastolic arterial pressure (mm Hg) — диастолическое артериальное давление (мм рт. ст.); heart rate (beats per minute) — частота сердечных сокращений (уд./мин.); respiration rate (breaths per min) — частота дыхания (вдохов в минуту); glycemia (mM/L) — уровень гликемии (ммоль/л); mild IDC — легкая степень ООХТ; moderate IDC — средняя степень ООХТ; severe IDC — тяжелая степень ООХТ.

Во всех группах исследования алкогольное опьянения диагностировали в 100% наблюдений; в группах со средней и тяжелой степенью ООХТ — по 2 наблюдения алкогольного опьянения в сочетании с черепно-мозговой травмой; в группе с тяжелой степенью гипотермии — 1 наблюдение алкогольного опьянения в сочетании с эндогенным психотическим расстройством. Критерии исключения из исследования: туберкулез легких, сахарный диабет, кахексия различной этиологии, ХОБЛ, ИБС, заболевания сосудов, ревматизм с поражением сердца, преморбидные нарушения сердечного ритма, исходное удлинение интервала QT, острое нарушение мозгового кровообращения, сепсис, хроническая алкогольная интоксикация. Продолжительность догоспитальной гипотермии составляла до 4 часов. Диагноз и степень тяжести ООХТ устанавливались на основании клинической картины заболевания и оценивались по шкале Сизоненко В. А., 2010 [1] (табл. 1).

Для исследования ритма и электрической проводимости сердца у пострадавших в гипотермическом и раннем постгипотермическом периодах острой общей холодовой травмы использовали электрокардиографию высокого разрешения по Холтеру в течение первых 24-часов. Для этого применяли носимый портативный кардиорегилятор — аппаратно-программный комплекс «Кардиотехника-04» — Vs 3419. ЭКГ регистрировали в 12 общепринятых отведениях и отведениях по Франку. Для исследования дыхания выполняли реопневмограмму. Формирование клинического заключения проводили по данным холтеровского мониторирования [10]. Пациентам применяли респираторную терапию, инфузию теплых растворов, введение глюкозы и вазопрессоров (при гипотонии). В случае остановки сердечной деятельности выполняли реанимационное пособие в соответствии с рекомендациями ECP (2010).

Расшифровку и анализ полученных данных проводили с помощью программы KTResult 2, версия 2.4.143. Статистическую обработку данных выполняли методами непараметрической статистики с использованием критерия Манна-Уитни для количественных показателей, критерия хи-квадрат Пирсона — для качественных. Расчеты осуществляли с помощью программ SPSS 11.0 и Statistica 7.0 [11]. Числовые данные представлены в виде медианы [25; 75 перцентиль]. Статистически значимыми различия показателей в исследуемых группах считались при уровне $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

При оценке средней ЧСС и циркадной динамики выявляли тахикардию до 102 [90; 122] ударов в минуту и снижение циркадного индекса до 105 [88; 125]% у 10 пациентов I группы. У 6 пациентов II группы отмечали тахикардию до 91 [83; 104] удара в минуту со снижени-

Materials and Methods

The study included 30 patients (18–60 years old) subdivided into three groups of injured patients, 10 patients per group, with mild, moderate and severe course of IDC hospitalized in Intensive Care Unit (ICU) of Regional Thermal Injury Center of the First city clinical hospital of the Chita city. Groups did not differ in age, gender and body mass. In a group with a mild hypothermia in 100% of cases the alcohol use was defined; in patients with moderate and severe IDC two cases/each group with alcohol use combined with brain trauma were diagnosed. Excluded from the study were patients with tuberculosis, diabetes mellitus, chronic obstructive pulmonary disease (COPD), ischemic heart disease, cachexy of different etiology, vascular disorders, neuritis, rheumatism, premorbid alterations of the heart rhythm, acute impairment of the cerebral circulation, sepsis. Pre-hospitalization period was established as up to four hours post-hypothermal insult. The severity of IDC was estimated on the basis of V.A. Sizonenko scale [1] (Table 1).

The method of electrophysiological high definition instrumental diagnostics, the ECG Holter monitoring was employed to study the heart rhythm and observe the cardiac activity. The observation lasted for 24 hours. For these purposes a portable cardiorecorder for daily recording of ECG «Kardiotekhnika-04» Vs 3419 was used at a ECG data were routinely recorded in 12 abductions [10]. Patients were receiving respiratory therapy, infusion of warm solutions, glucose solution and vasopressors as needed in hypothermia. In cases of cardiac arrest the resuscitation protocol and recommendations of ECP (2010) was employed.

The interpretation and analysis of the data was assisted by the program KTResult 2, version 2.4.143. Statistical treatment of all data was performed with the aid of non-parametric statistics using Mann-Whitney criterium for quantitative indices and Chi-square for qualitative indices. Data were computed with the aid of SPSS 11.0 and Statistica 7.0 programs [11]. The numeric data were presented as medians (Me) and [25, 75 percentile].

Results and Discussion

Tachycardia up to 102 bpm [90, 122] and a decrease of circadian index up to 105% [88, 125] were revealed in 10 patients of the group 1. Tachycardia was 91 bpm [83, 104] in 6 patients of the group 2. Circadian index decreased up to 116% [98%, 133%]. Normocardia (77 bpm [65, 85]) and a decrease of circadian index (150% [122%, 176%]) were revealed in 4 patients of the group 2. Difference between the daily heart rate and circadian dynamics in patients of the and groups 1 and 2 was significant ($P=0.039$ and $P=0.02$, correspondingly).

Таблица 2. Нарушения ритма и проводимости сердца у пациентов с ООХТ.**Table 2. Alterations of cardiac rhythm and conductivity in IDC patients.**

Alterations of cardiac rhythm and electrical conductivity	Mild degree	Moderate degree	Severe degree
Migration of supraventricular pacemaker	+	+	+
Supraventricular extrasystoles	+	+	+
Paroxysmal supraventricular tachycardia		+	+
Paroxysmal atrial fibrillation		+	+
Ventricular extrasystoles, 2-grade (Ryan)		+	+
Ventricular extrasystoles, 5-grade (Ryan)			+
Idioventricular rhythm			+
Asystole			+

Note (примечание): Alterations of cardiac rhythm and electrical conductivity — нарушения ритма и электрической проводимости сердца; migration of supraventricular pacemaker — миграция наджелудочкового водителя ритма; supraventricular extrasystoles — одиночные и парные наджелудочковые экстрасистолы; paroxysmal supraventricular tachycardia — пароксизмы наджелудочковой тахикардии; paroxysmal atrial fibrillation — пароксизмы фибрилляции предсердий; ventricular extrasystoles, 2-grade (Ryan) — желудочковые экстрасистолы 2 градации по Ryan; ventricular extrasystoles, 5-grade (Ryan) — желудочковые экстрасистолы 5 градации по Ryan; idioventricular rhythm — идиовентрикулярный ритм; asystole — асистолия; mild IDC — легкая степень ООХТ; moderate IDC — средняя степень ООХТ; severe IDC — тяжелая степень ООХТ.

ем циркадного индекса до 116 [98; 133]%. У 4 пациентов этой же группы — нормокардию 77 [65; 85] ударов в минуту и повышение циркадного индекса до 150 [122; 176]%. Выявляли разницу по среднесуточной ЧСС и циркадной динамике между I и II группами: $p=0,039$ и $p=0,02$ соответственно.

У 8-и пациентов III группы регистрировали брадикардию до 49 [38; 58] ударов в минуту и повышение циркадного индекса до 210 [185; 223]%, в то же время у 2-х пациентов данной группы отмечали нормокардию 63, 66 ударов в минуту с циркадным индексом 151, 156%. Таким образом, при тяжелой ООХТ выявляли склонность к брадикардии ($p=0,015$) и увеличению циркадного индекса по сравнению со средней степенью ООХТ ($p=0,04$).

Миграцию наджелудочкового водителя ритма выявили у 3-х пациентов I группы. У 3-х пациентов с легкой формой гипотермии регистрировали также одиночные и парные наджелудочковые (синусовые, предсердные) экстрасистолы. У пострадавших со средней и тяжелой степенью ООХТ выявили прогрессирование нарушений ритма и электрической проводимости сердца по мере возрастания гипотермии: миграция наджелудочкового водителя ритма, одиночные и парные наджелудочковые экстрасистолы (синусовые, предсердные), пароксизмы предсердной тахикардии (с частотой сердечных сокращений от 140 до 180 в минуту), фибрилляция предсердий (брадисистолической формы длительностью от 30 сек. до 1.5 часов и частым рецидивированием), желудочковые экстрасистолы 2, 5 градации по Ryan. У 4-х пациентов с критической гипотермией на фоне гипотонии и инфузии вазопрессоров регистрировали идиовентрикулярный ритм с переходом в асистию. Нарушения ритма и электрической проводимости сердца, обнаруженные у пациентов с различной степенью тяжести ООХТ, приведены в табл. 2

Выявили удлинение скорректированного QT-интервала свыше 450 мс у 4 пациентов I группы в 50 [34; 66]% времени, у 7 пациентов II группы в 80 [58; 90]%

Bradycardia up to 49 bpm [38; 58] and an increase of circadian index up to 210% [185%, 223%] were revealed in 8 patients of the group 3 whereas normocardia of 63–66 bpm and circadian index of 151–156% were determined in two patients of this group. Therefore a clear trend toward bradycardia and circadian index increase were revealed in patients with a severe acute general cold injury compared to the patients with a moderate disease ($P=0.015$ and $P=0.04$, correspondingly).

Sinus rhythm with pacemaker migration was revealed in three patients with mild IDC. The abnormal number of supraventricular arrhythmias was also identified in three patients of this group. In all patients with moderate and severe forms of the disease various heart rhythm disturbances were associated with progression of other disorders, such as pacemaker migration, abnormal number of supraventricular arrhythmias (single, pair), ventricular tachycardia paroxysms, paroxysms of atrial fibrillation of a tachysystolic form combined with sinus rhythm, monomorphic ventricular 2nd Ryan grade extrasystoles, ventricular 5th Ryan grade extrasystoles were determined. Idioventricular rhythm transiting to asystole was revealed in four patients with a severe acute general cold injury (Table 1).

Corrected QT-interval prolongations for more than 450 ms were revealed in 4 patients in group 1 of 50 [34; 66] time%, 7 patients in Group 2 of 80 [58; 90] time%, and in 9 patients of group 3 during the whole observation period that was more often than in patients of groups 1 and 2 ($P=0.019$ and $P=0.033$, respectively). There was an alteration of T-waves in three patients in group 1 during 5 [4; 8]% of the time, in three patients in group 2 — 10 [6; 12]% of the time and in 6 patients in group 3 — 15 [11; 18]% of the time. In patients of group 3 alteration of T-wave observed more frequent compared to groups 1 and 2 ($P=0.015$ and $P=0.041$, respectively).

A reduction in a heart rate variability (SDNN <100 ms) was found in three patients with a mild degree and in six patients with a moderate degree of IDC. Significant

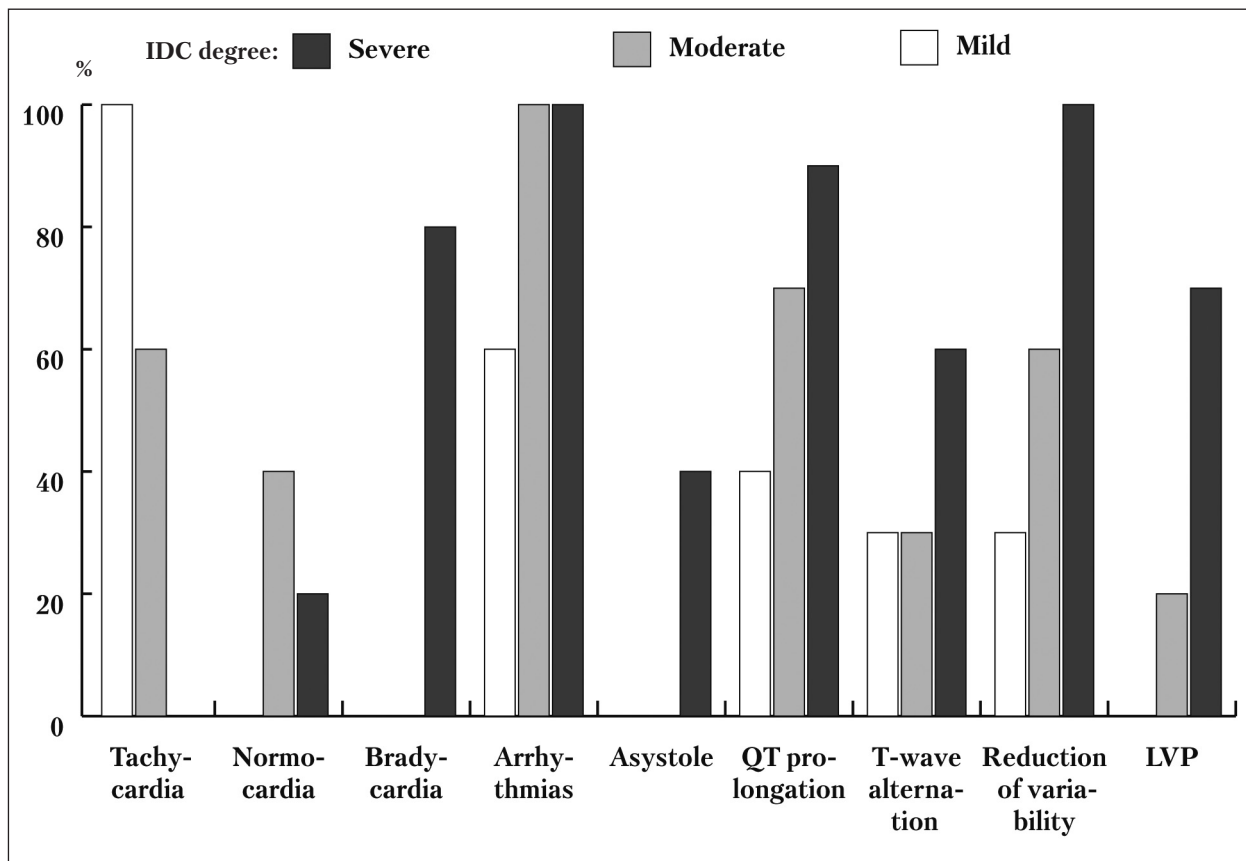


Рис. 1. Вид и общее количество аритмий, изменения желудочкового комплекса QRST, регистрируемые у больных с различной степенью тяжести ООХТ.

Fig. 1. Arrhythmia types and alterations of QRST complex in patients with IDC of various severity.

Note (примечание): Mild IDC — легкая степень ООХТ; moderate IDC — средняя степень ООХТ; severe IDC — тяжелая степень ООХТ; tachycardia — синусовая тахикардия; normocardia — нормокардия; bradycardia — синусовая брадикардия; arrhythmias — нарушения ритма; asystole — асистолия; QT prolongation — удлинение QT; T-wave alternation — альтернация волны T; reduction of variability — снижение вариабельности; LVP (late ventricular potentials) — ППЖ (поздние потенциалы желудочков).

времени и у 9 пациентов III группы на протяжении всего периода наблюдения, что чаще, чем в I и II группах исследования: ($p=0,019$) и ($p=0,033$) соответственно. Альтернацию волны T выявили в течение 5 [4; 8]% времени у 3-х пациентов I группы, в течение 10 [6; 12]% времени — у 3-х пациентов II группы и в 15 [11; 18]% времени — у 6-и пациентов III группы. У пациентов III группы чаще отмечали альтернацию T-волны по сравнению с I ($p=0,015$) и II ($p=0,041$) группами.

Установили снижение вариабельности сердечного ритма (BCP) ($SDNN < 100$ мс) у 3 пациентов с легкой степенью, у 6-и пациентов со средней степенью и значительное снижение вариабельности сердечного ритма у 10-и пациентов с тяжелой степенью ООХТ.

У пациентов III группы чаще отмечали снижение BCP по сравнению с I ($p=0,0049$) и II ($p=0,0293$) группами.

Поздние потенциалы желудочков (ППЖ) ($TotQRS > 114$ мс) обнаружены у 2 пациентов со средней степенью и у 7 пациентов с тяжелой степенью ООХТ ($p=0,0246$). Вид и общее количество аритмий, изменения желудочкового комплекса QRST, регистрировавшихся у больных с ООХТ, в зависимости от сте-

reduction in heart rate variability was noted in 10 patients with severe acute general cold injury. In patients of group 3 a decrease of HRV was more frequently observed than in groups 1 and 2 ($P=0.005$ and $P=0.029$, respectively) d.

Ventricular late potentials (LVP) ($TotQRS > 114$ ms) were found in two patients with moderate ASH and in seven patients with severe IDC (Fig. 1, $P=0.025$). The types, numbers of arrhythmias and alterations of QRST complex depending on the severity of IDC in patients are shown as a percentage in a Fig. 1.

Patients with IDC displayed breathing respiratory disorders including the episodes of apnea/hypopnea Apnea/hypopnea index (AHI) was 6 [4; 9] in patients of group 1, 10 [8; 14] in group 2 and 20 [16; 24] in patients of group 3. The differences in frequency of episodes of apnea / hypopnea between groups 1 and 2 and between groups 2 and 3 were significant ($P=0,047$ and $P=0,023$, respectively) (Fig. 2).

Changes in a heart rhythm is a universal rapid response of the human body to any exogenous signals mainly implemented through the influence on the sinoatrial node of the pacemaker system of the heart [12]. Cardiac rhythm regulation appears to be the multilevel one combining intracardiac and extracardiac mechanisms. The

пени тяжеститравм, представлены в процентном соотношении на рис. 1.

У пациентов с острой общей холодовой травмой регистрировали нарушения дыхания, характерные для эпизодов апноэ/гипопноэ. Индекс апноэ/гипопноэ (ИАГ) составил: 6 [4; 9] — в I группе, 10 [8; 14] — во II группе, и 20 [16; 24] — в группе с критической гипотермией. Выявлена разница по частоте эпизодов апноэ/гипопноэ между I и II группами ($p=0,047$) и между II и III группами соответственно ($p=0,023$) (рис. 2).

Изменение ритма сердца — универсальная реакция организма в ответ на любое экзогенное воздействие, преимущественно реализуемая за счет влияний на синоатриальный узел сердечной мышцы [12]. Известно, что регуляция сердечного ритма является многоуровневой, включающей интра- и экстракардиальные механизмы. Высший контур управления может воздействовать как нейронально (через вегетативную нервную систему), так и гуморально, посредством стимуляции выброса в кровь катехоламинов и других гормонов [13, 14]. Большинство импульсов с периферии, доходя до таламуса, вызывают ответную реакцию через гипоталамус. Возникает интенсивное раздражение гипоталамических ядер, обуславливающее постагрессивную вегетативно — эндокринную ответную реакцию: выделение гормонов задней доли гипофиза, повышение уровня катехоламинов в крови, что ведет к изменению частоты сердечных сокращений [15, 16].

В результате исследования установлено, что по мере возрастания степени тяжести острой общей холодовой травмы, у пострадавших снижалась частота сердечных сокращений и возрастал циркадный индекс. С увеличением степени гипотермии, у пациентов выявляли прогрессирование нарушений ритма и электрической проводимости сердца: от менее опасных (миграция наджелудочкового водителя ритма, наджелудочковые экстрасистолы) до летальных (идиоventрикулярный ритм, асистолия). Значительное снижение вариабельности сердечного ритма, появление поздних потенциалов желудочков, депрессию дыхания чаще отмечали у больных с тяжелой формой гипотермии. По всей видимости, нарушения ритма сердца и дыхания при общей холодовой травме имеют прямые и косвенные взаимосвязи, реализуемые на различных рефлекторных и регуляторных уровнях. Возникающие нарушения ритма и электрической проводимости сердца у пациентов с гипотермией отражают тяжесть патологии, а их прогрессирование является маркером неблагоприятного исхода. Однако, возможно, установленные нарушения определяются не только степенью гипотермии, но и множеством прочих факторов, широкого встречающихся у данной категории больных: алкогольным опьянением, черепно-мозговой травмой, методиками согревания, медикаментозным воздействием, хронической патологией сердца.

Вместе с тем, нужно признать отсутствие в настоящее время необходимого объема сведений о медикаментозной коррекции данного состояния. Изме-

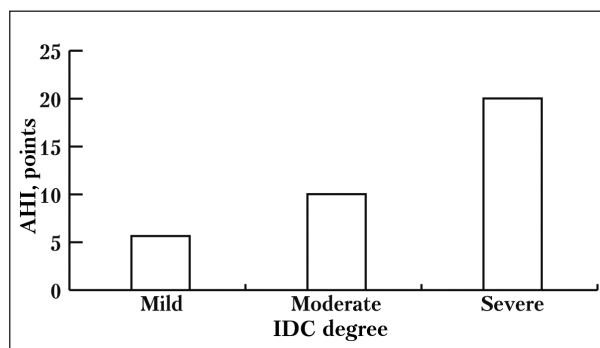


Рис. 2. Индекс апноэ/гипопноэ (ИАГ) у больных с ООХТ, в зависимости от степени тяжести ООХТ.

Fig. 2. Apnoea/hypopnoea index (AHI) in patients with IDC depending on severity of the disease.

Note (примечание): AHI, points (Less than 5 — norm; 5–14 — mild degree of respiratory disorders; 15–29 — moderate degree of respiratory disorders; > 30 — severe degree of respiratory disorders) — ИАГ (Менее 5 — норма; 5–14 — легкая степень; 15–29 — средняя степень нарушения дыхания; более 30 — тяжелая степень нарушения дыхания); mild IDC — легкая степень ООХТ; moderate IDC — средняя степень ООХТ; severe IDC — тяжелая степень ООХТ.

supreme control loop includes both neuronal (through the autonomic nervous system) and humoral (due to the discharge of catecholamines and other hormones into the blood) regulatory mechanisms [13–14]. Most of the impulses reaching thalamus cause the response through hypothalamus. The intensive irritation of hypothalamic nuclei causes hormone excretion from the hypothysis posterior lobe and increase of catecholamine levels in blood. This may result in a heart rate increases [15–16].

The performed study demonstrated that with increasing severity of IDC post-trauma, patients experienced decreased heart rate and increased circadian index. With increasing degree of hypothermia, the progression of arrhythmias and electrical conduction of the heart were detected, from less dangerous (supraventricular pacemaker migration, supraventricular arrhythmias) to lethal (idioventricular rhythm, asystole). A significant reduction in a heart rate variability, the occurrence of ventricular late potentials, respiratory depression became more common in patients with IDC. Apparently, cardiac arrhythmias and breathing with the common cold injury have direct or indirect relationship, implemented in various reflex and regulatory levels. Emerging arrhythmias and electrical conduction of the heart in patients with hypothermia reflect the severity of diseases, and their progression is a marker of poor outcome. However, perhaps these alterations are determined not only by the degree of hypothermia, but also by a variety of other factors that are commonly found in these patients and include alcohol intoxication, traumatic brain injury, rewarming techniques, medication exposure, chronic heart disease.

At the same time, we must recognize the current lack of the required amount of information about drug correction of this condition. Changes in sensitivity of the receptor apparatus, properties of biological membranes, the activity of enzyme systems of the body determine the dubi-

нения чувствительности рецепторного аппарата, свойств биомембран, активности ферментных систем организма определяют сомнительность традиционной лекарственной терапии нарушений сердечной деятельности, выявленных у пациентов с критической гипотермией.

Как следствие, затрудняется применение адекватных подходов к устранению жизнеугрожающих нарушений, возникших у больных с тяжелой формой гипотермии.

Выявленные нарушения сердечной и дыхательной деятельности у пациентов с острой общей холодовой травмой прогрессируют по мере возрастания ее тяжести и в случае критической гипотермии могут привести к летальному исходу.

Выводы

1. У пациентов с легкой степенью тяжести острой общей холодовой травмы в гипотермическом и раннем постгипотермическом периодах регистрируется синусовая тахикардия до 102 [90; 122] ударов в минуту со снижением циркадного индекса до 105 [88; 125]%. У больных с тяжелой формой гипотермии отмечается синусовая брадикардия до 49 [38; 58] ударов в минуту с повышением циркадного индекса до 210 [185; 223]%.

2. По мере возрастания степени тяжести острой общей холодовой травмы, у пострадавших в гипотермическом и раннем постгипотермическом периодах регистрируются нарушения электрической проводимости сердца: удлинение скорректированного QT-интервала свыше 450 мс, возрастание процента времени альтернации волны — T и QT-интервала ЭКГ. Выявляется прогрессирование нарушений ритма сердца от менее опасных до летальных.

3. По мере возрастания степени тяжести острой общей холодовой травмы, у пациентов в гипотермическом и раннем постгипотермическом периодах установлено снижение вариабельности сердечного ритма

ousness of traditional drug therapy of cardiac activity detected in patients with critical hypothermia.

As a result, the limitations occur in implementing adequate approaches to the elimination of life-threatening disorders that arose in patients with severe hypothermia.

The described disorders of the heart and respiratory activity in IDC patients are progressing with increasing of its severity, and in the case of critical hypothermia might lead to death.

Conclusion

1. In patients with mild IDC and alcohol intoxication during hypothermia in the early post-hypothermia periods the sinus tachycardia occurs (up to 102 [90; 122] beats per minute) accompanied by a reduction of circadian index to 105 [88; 125]%. In patients with severe hypothermia sinus bradycardia is defined (up to 49 [38; 58] beats per minute) that is accompanied by increasing the circadian index to 210 [185; 223]%.

2. With the increasing severity of ASH, patients affected in the hypothermia and early post-hypothermia periods the alterations of the electrical conductivity of the heart became evident and include the lengthening of a corrected QT-interval of more than 450 msec, increase in the percentage of time of a wave alteration — T- and QT-intervals on the ECG. The progression of cardiac arrhythmias in IDC patients from less hazardous to the death threatening revealed.

3. With the increasing severity of the IDC in patients in the hypothermia and early post-hypothermia periods a decrease in a heart rate variability (SDNN < 100 ms), an increases in both the incidence of ventricular late potentials (Tot QRS > 114 ms) and episodes of apnea / hypopnea became evident.

(SDNN < 100 мс), увеличение частоты возникновения поздних потенциалов желудочков (TotQRS > 114 мс) и эпизодов апноэ/гипопноэ.

Литература

1. Сизоненко В.А. Холодовая травма. Чита: Экспресс-издательство; 2010: 32–76.
2. Винник Ю.С., Салмина А.Б., Юрьева М.Ю., Теплякова О.В. Локальная холодовая травма: вопросы патогенеза, оценки тяжести и лечения (обзор литературы). *Московский хирургич. журн.* 2011; 1: 42–48.
3. Сизоненко В.А. Холодовая травма в Забайкалье: актуальные проблемы клинической и экспериментальной медицины. Чита: ИИЦ ЧГМА; 2013: 12–18.
4. Олейник Г.А. Патопфизиология холодового шока. *Медицина неотложных состояний.* 2013; 8 (55): 16–21.
5. Абдуллаев Р.Я., Григорьева Т.Г., Олейник Г.Ф., Ефименко С.Г. Ультразвуковая диагностика состояния коротких трубчатых костей при локальной холодовой травме в определении тактики терапии. *Вестн. Харьковского Национального университета им. В.Н. Каразина. Серия: Медицина.* 2010; 20 (918): 13–16.
6. Потапов А.Ф., Алексеев Р.З., Евграфов С.Ю. Эфферентная терапия в комплексном лечении холодовой травмы, осложненной синдромом полиорганной недостаточности. *Якутский мед. журн.* 2012; 2: 114–118.
7. Курбангалеев А.М., Попова О.В., Сорокина В.О. Угрожающие нарушения ритма сердца у больных с термической травмой. СПб.: Медицина; 2011: 21–39.

References

1. Sizonenko V.A. Kholodovaya travma. [Cold injury]. Chita: Express Publishing; 2010: 32–76. [In Russ.]
2. Vinnik Yu.S., Salmina A.B., Yuryeva M.Yu., Teplyakova O.V. Lokalnaya kholodovaya travma: voprosy patogeneza, otsenki tyazhesti i lecheniya. [The local cold-trauma: the problems of pathogenesis, estimation of heaviness and treatment]. *Moskovsky Khirurgichesky Zhurnal.* 2011; 1: 42–48. [In Russ.]
3. Sizonenko V.A. Kholodovaya travma v Zabaikalye: aktualnye problemy klinicheskoi i eksperimentalnoi meditsiny. [Cold injury in Transbaikalia: actual problems of clinical and experimental medicine]. Chita: IITs ChGMA; 2013: 12–18. [In Russ.]
4. Oleinik G.A. Patofiziologiya kholodovogo shoka. [Pathophysiology of cold shock]. *Meditsina Neotlozhnykh Sostoyanii.* 2013; 8 (55): 16–21. [In Russ.]
5. Abdullaev R.Ya., Grigoryeva T.G., Oleinik G.A., Yefimenko S.G. Ultrazvukovaya diagnostika sostoyaniya korotkikh trubchatykh kostei pri lokalnoi kholodovoi travme v opredelenii taktiki terapii. [Ultrasonic diagnostics of the condition of short tubular bones at local cold injury in finding the tactics of therapy]. *Vestnik Kharkovskogo Natsionalnogo Universiteta Imeni V.N. Karazina. Seriya: Meditsina.* 2010; 20 (918): 13–16. [In Russ.]
6. Potapov A.F., Alekseyev R.Z., Evgrafov S.Yu. Efferentnaya terapiya v kompleksnom lechenii kholodovoi travmy, oslozhnennoi sindromom

8. Покровский В.М. (ред.). Сердечно-дыхательный синхронизм в оценке регуляторно-адаптивных возможностей организма. Краснодар: Кубань-Книга; 2010: 222–244.
9. Козинет Г.П., Олейник Г.Ф., Цыганков В.П. Замерзание: патогенез, лечение. *Медицина неотложных состояний*. 2012; 5 (44): 24–28.
10. Тихоненко В.М. Формирование клинического заключения по данным холтеровского мониторирования ИНКАРТ. СПб.: Медицина; 2010: 8–28.
11. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных: применение пакета прикладных программ STATISTICA. М.: Медиа-Сфера; 2009: 280–312.
12. Востриков В.А., Горбунов Б.Б., Гусев А.Н. Компьютерное моделирование воздействия первых фаз дефибрилляционных импульсов биполярной формы на мембрану кардиомиоцита. *Общая реаниматология*. 2014; 10 (1): 25–32. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2014-1-25-32>
13. Ломиворотов В.В., Шмырев В.А., Ефремов С.М., Пономарев Д.Н., Мороз Г.Б., Шахин Д.Г., Корнилов И.А., Шилова А.Н., Ломиворотов В.В., Железнев С.И. Нормотермический или гипотермический режимы искусственного кровообращения у пациентов с приобретенными пороками сердца. *Общая реаниматология*. 2013; 9 (4): 42–49. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-4-42>
14. Востриков В.А., Разумов К.В. Эффективность электрической кардиоверсии пароксизмальной фибрилляции предсердий при использовании биполярного квазисинусоидального импульса у больных ишемической болезнью сердца. *Общая реаниматология*. 2014; 10 (2): 41–49. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2014-2-41-49>.
15. Филатов В.В., Долгих В.Т. Особенности гемодинамики и свертывающей системы крови у больных, оперированных по поводу кровотечений язвенной болезни. *Общая реаниматология*. 2013; 9 (3): 30–34. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-3-30>
16. Лычева Н.А., Киселев В.И., Шахматов И.И., Вдовин В.М. Вклад стрессоров различной природы в формирование ответной гемостатической реакции организма при действии общей гипотермии. *Фундаментальные исследования*. 2014; 7: 106–110.
17. Гостищев В.К., Липатов К.В., Бородин А.В., Маракуца Е.В., Хо Б.О., Стан Е.А. Лечебная тактика при отморожениях. *Хирургия. Журн. им. Н.И. Пирогова*. 2010; 6: 10–15. PMID: 20559217
18. Шаповалов К.Г., Сизоненко В.А., Ковалев В.В., Гордиенко С.П., Михайличенко А.В., Коннов В.А. Интенсивная терапия местной холодовой травмы у детей. *Детская хирургия*. 2009; 1: 36–37.
19. Шаповалов К.Г., Сизоненко В.А. Холодовая травма как причина стойкого изменения состояния микроциркуляторного русла. *Хирургия. Журн. им. Н.И. Пирогова*. 2009; 2: 28–31. PMID: 19365331
20. Tian Y.F., Cheng J.L., Guo S.Y., Tian Y. Pathomechanisms on cold stress induced acute myocardial infarction. *Zhonghua Xin Xue Guan Bing Za Zhi*. 2013; 41 (10): 890–892. PMID: 24377899
- poliorgannoi nedostatochnosti. [Efferent therapy in treatment of cold injury, complicated by multiple organ dysfunction syndrome]. *Yakutsky Meditsinsky Zhurnal*. 2012; 2: 114–118. [In Russ.]
7. Kurbangaleyev A.M., Popova O.V., Sorokin V.O. Ugrozhayushchie narusheniya ritma serdtsa u bolnykh s termicheskoi travmoi. [Threatening cardiac arrhythmias in patients with thermal injury]. Sankt-Peterburg: Medicine Publishers; 2011: 21–39. [In Russ.]
8. Pokrovsky V.M. (red.). Serdechno-dykhatelnyi sinkhronizm v otsenke regulatoryno-adaptivnykh vozmozhnostei organizma. [Cardiorespiratory synchronism in the assessment of the body's regulatory and adaptive capabilities]. Krasnodar: Kuban-Kniga; 2010: 222–244. [In Russ.]
9. Kozinets G.P., Oleinik G.A., Tsygankov V.P. Zamerzanie: patogeneza, lechenie. [Freezing: pathogenesis, treatment]. *Meditsina Neotlozhnykh Sostoyaniy*. 2012; 5 (44): 24–28. [In Russ.]
10. Tikhonenko V.M. Formirovaniye klinicheskogo zaklyucheniya po dannym kholterovskogo monitorirovaniya INKART. [Formation of clinical judgment according to Holter monitoring INKART]. Sankt-Peterburg: Medicine Publishers; 2010: 8–28. [In Russ.]
11. Rebrova O.Y. Statistichesky analiz meditsinskikh dannykh: primeneniye paketa prikladnykh program STATISTICA. [Statistical analysis of medical data: application software package STATISTICA]. Moscow: MediaSfera; 2009: 280–312. [In Russ.]
12. Vostrikov V.A., Gorbunov B.B., Gusev A.N. Kompyuternoe modelirovaniye vozdviystviya pervykh faz defibrillyatsionnykh impulsov bipolyarnoi formy na membranu kardiomyotsita. *Obshchaya Reanimatologiya*. [Computer simulation of cardiomyocyte membrane exposure to first-phase bipolar defibrillation impulses. *General Reanimatology*]. 2014; 10 (1): 25–32. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2014-1-25-32>. [In Russ.]
13. Lomivorotov V.V., Shmyrev V.A., Efremov S.M., Ponomarev D.N., Moroz G.B., Shakhin D.G., Kornilov I.A., Shilova A.N., Lomivorotov V.V., Zheleznev S.I. Normotermicheskiy ili gipotermicheskiy rezhimy iskustvennogo krovoobrashcheniya u patsientov s priobretnennymi porokami serdtsa. *Obshchaya Reanimatologiya*. [Normothermal or hypothermal extracorporeal circulation regimens in patients with acquired heart disease. *General Reanimatology*]. 2013; 9 (4): 42–49. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-4-42>. [In Russ.]
14. Vostrikov V.A., Razumov K.V. Effektivnost elektricheskoi kardioversii paroksizmalnoi fibrillyatsii predserdii pri ispolzovanii bipolyarnogo kvazisinusoidalnogo impulsa u bolnykh ishemicheskoi boleznyu serdtsa. *Obshchaya Reanimatologiya*. [Efficiency of electrical cardioversion of paroxysmal atrial fibrillation in the use of bipolar quasi-sinusoidal impulse in patients with coronary heart disease. *General Reanimatology*]. 2014; 10 (2): 41–49. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2014-2-41-49>. [In Russ.]
15. Filatov V.V., Dolgikh V.T. Osobennosti gemodinamiki i svertyvayushchei sistemy krovi u bolnykh, operirovannykh po povodu krovotocheniy yazvennoi bolezni. *Obshchaya Reanimatologiya*. 2013; 9 (3): 30–34. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-3-30>. [In Russ.]
16. Lycheva N.A., Kiselev V.I., Shakhmatov I.I., Vdovin V.M. Vklad stressorov razlichnoi prirody v formirovaniye otvetnoi gemostaticheskoi reatsii organizma pri deistvii obshchei gipotermii. [Contribution stressors of different nature in the formation of a hemostatic response reaction of the organism under the influence of general hypothermia]. *Fundamentalnye Issledovaniya*. 2014; 7: 106–110. [In Russ.]
17. Gostishchev V.K., Lipatov K.V., Borodin A.V., Maracutsa E.V., Kho B.O., Stan E.A. Lechebnaya taktika pri otmorozheniyakh. [Therapeutic tactics in frostbite]. *Khirurgiya. Zhurnal Imeni N.I.Pirogova*. 2010; 6: 10–15. PMID: 20559217
18. Shapovalov K.G., Sizonenko V.A., Kovalev V.V., Gordienko S.P., Mihailichenko A.V., Konnov V.A. Intensivnaya terapiya mestnoi kholodovoi travmy u detei. [Intensive care of the local cold injury in children]. *Detskaya Khirurgiya*. 2009; 1: 36–37. [In Russ.]
19. Shapovalov K.G., Sizonenko V.A. Kholodovaya travma kak prichina stoikogo izmeneniya sostoyaniya mikrotsirkulyatornogo rusla. [Cold injury as a cause of persistent state changes microvasculature]. *Khirurgiya. Zhurnal Imeni N.I.Pirogova*. 2009; 2: 28–31. PMID: 19365331
20. Tian Y.F., Cheng J.L., Guo S.Y., Tian Y. Pathomechanisms on cold stress-induced acute myocardial infarction. *Zhonghua Xin Xue Guan Bing Za Zhi*. 2013; 41 (10): 890–892. PMID: 24377899

Поступила 25.12.2014

Submitted 25.12.2014

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ НОЗОКОМИАЛЬНОЙ ПНЕВМОНИИ И ОСТРОГО РЕСПИРАТОРНОГО ДИСТРЕСС-СИНДРОМА

Т. В. Смелая¹, А. Н. Кузовлев¹, В. В. Мороз¹,
А. М. Голубев¹, О. Б. Белопольская², Л. Е. Сальникова^{1,2}

¹ НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского, Москва
Россия, 107031, Москва, ул. Петровка, д. 25, стр. 2

² Институт общей генетики им. Н. И. Вавилова, Москва
Россия, 117971, Москва, ул. Губкина, 3

Search for Common Molecular Genetic Markers of Nosocomial Pneumonia and Acute Respiratory Distress Syndrome

T. V. Smelaya¹, A. N. Kuzovlev¹, V. V. Moroz¹, A. M. Golubev¹, O. B. Belopolskaya², L. E. Salnikova^{1,2}

¹ V. A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology, Moscow
Russia, 25, Petrovka St., Build. 2, Moscow 107031

² V. N. Vavilov Institute of General Genetics, Moscow
Russia, 3, Gubkin St., Moscow 117971

Риск развития, особенности течения нозокомиальной пневмонии (НП) и острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС) зависят не только от свойств возбудителя, но и от генетических особенностей больного. Известен значительный вклад генетических факторов в предрасположенность, особенности течения и исхода при инфекционных осложнениях критических состояний. Цель данного исследования — выявление генотипов, сопряженных с риском развития НП и ОРДС. **Материалы и методы.** Были изучены однонуклеотидные полиморфные варианты (SNPs) в генах детоксикации ксенобиотиков и оксидативного стресса (*CYP1A1* (три сайта), *AhR*, *ABCB1*, *SOD2*, *GCLC*, *CAT*), а также в генах сосудистого гомеостаза (*ACE*, *AGT*, *AGTR1*, *NOS3*, *VEGFA* и *MTHFR*) с помощью тетра-праймерной аллельспецифической полимеразной цепной реакции (ПЦР). Были генотипированы 750 человек: 419 больных и пострадавших (81,1% мужчин, в возрасте 42.9 ± 0.9 года), госпитализированных в клинические базы НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского (Москва, Россия). **Результаты.** В группе больных зарегистрированы 268 случаев НП. Индивидуальный SNPs анализ показал, что среди больных НП риск развития ОРДС сопряжен с носительством следующих генотипов: *CYP1A1* rs2606345-T/T ($p=0.0027$, OR=2,38, 95% CI: 1,35–4,17) и *AhR* rs2066853-G/A-A/A ($p=0.0012$, OR=2,94, 95% CI: 1,54–5,60). Частота встречаемости С-аллеля гена *AGTR1* rs5186 была значительно выше среди выживших (в группе НП). Оценка мультипликативной генетической модели генов, которые продемонстрировали наибольшие однолокусные эффекты в связи с риском развития ОРДС, и госпитальной летальности, позволила установить комплексный генотип, включающий сочетание рисков аллелей генов системы детоксикации и сосудистого гомеостаза (*CYP1A1* rs2606345-T – *AhR* rs2066853-A и *ACE* rs4340-D – *AGT* rs699-C – *AGTR1* rs5186-C), ассоциированный с повышенным риском развития как НП, так и ОРДС, а также с вероятностью летального исхода. **Вывод.** Ряд аллельных вариантов генов детоксикации ксенобиотиков сопряжен с риском развития нозокомиальной пневмонии и ОРДС: *CYP1A1* rs2606345-T/T, *AhR* rs2066853 G/A-A/A и *AGT* rs699 C/C *AhR* rs2066853-G/A-A/A. Сочетание двух и более рисков аллелей в генах *CYP1A1*, *AhR*, *ACE*, *AGT* и *AGTR1* у одного и того же больного повышает риск развития НП. Увеличение количества рисков аллелей до четырех и более у больных НП сопряжено с риском развития ОРДС. **Ключевые слова:** полиморфизм генов, гены оксидативного стресса, гены детоксикации ксенобиотиков детоксикации ксенобиотиков, острый респираторный дистресс-синдром, нозокомиальная пневмония.

Genetic predisposition partially accounts for the clinical variability of the course of an infectious process. A total of 750 people, including 419 (81.1%) male patients aged 42.9 ± 0.9 years, admitted to the clinics of the V. A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology (Moscow, Russia), were genotyped to establish the influence of genetic factors on their susceptibility to critical conditions. **Materials and methods.** Tetra-primer allele-specific polymerase chain reaction was used to investigate single-nucleotide polymorphisms (SNP) in the xenobiotic detoxification and oxidative stress genes (*CYP1A1* (three sites), *AhR*, *ABCB1*, *SOD2*, *GCLC* and *CAT*) and in the vascular homeostasis genes (*ACE*, *AGT*, *AGTR1*, *NOS3*, *VEGFA* and *MTHFR*). **Results.** A total of 268 nosocomial pneumonia (NP) cases were registered in a patient group. Individual SNP analysis has shown that among the patients with NP the risk of acute respiratory distress syndrome (ARDS) is associated with the carriage of the following genotypes: *CYP1A1* rs2606345-T/T ($p=0.0027$,

Адрес для корреспонденции:

Артем Кузовлев
E-mail: artem_kuzovlev@mail.ru

Correspondence to:

Artem Kuzovlev
E-mail: artem_kuzovlev@mail.ru

Пневмония. Острый респираторный дистресс-синдром

OR=2.38; 95% CI: 1.35–4.17) and *AhR*rs2066853-G/A-A/A ($p=0.0012$, OR=2.94; 95% CI: 1.54–5.60). The frequency of the C allele of the *AGTR1* gene (rs5186) was much higher among the survivors (in the NP group). The assessment of a multiplicative genetic model of genes that had demonstrated the highest single-locus effects because of a ARDS risk, as well as in-hospital mortality, could establish the complex genotype including a combination of risky alleles of the detoxification and vascular homeostasis genes (*CYP1A1* rs2606345-T – *AhR* rs2066853-A and *ACE* rs4340-D – *AGT* rs699-C – *AGTR1* rs5186-C), which was associated with the increased risk of both NP and ARDS, as well as with the likelihood of a fatal outcome. **Conclusion.** An understanding of the risk factors of NP and ARDS will aid in predicting the outcome of the underlying disease and in developing possible preventive measures. **Key words:** gene polymorphism, oxidative stress genes, xenobiotic detoxification genes, acute respiratory distress syndrome, nosocomial pneumonia.

DOI:10.15360/1813-9779-2015-3-24-38

Введение

У пациентов в отделениях реаниматологии (ОР) среди осложнений нозокомиальная пневмония (НП) по-прежнему занимает лидирующие позиции, обуславливая тем самым высокую летальность [1–3]. Известны данные исследований по изучению вентилятор-ассоциированной пневмонии [4], острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС) и пневмонии новорожденных, где отмечено, что эти заболевания относятся к мультифакториальным (или полигенным) [5]. Современные представления о генетической составляющей мультифакториальных заболеваний (МФЗ) во многом связаны с концепцией подверженности порогового проявления многофакторного фенотипа [6, 7]. Согласно данной концепции предрасположенность к возникновению заболевания наследственно обусловлена, но реализация ее возможна только при взаимодействии с факторами среды.

В развитии различных болезней особое значение имеют исследование системы генов метаболизма ксенобиотиков, поскольку ферментами этой системы осуществляется метаболизм не только большинства разнообразных по химической структуре экзогенных молекул, но и многочисленных эндогенных веществ, например, медиаторов воспаления [8]. Межгенные взаимодействия обусловлены взаимным влиянием генетических вариантов в контексте одного физиологического пути. Применительно к МФЗ предполагается, что отдельный генетический вариант имеет слабый индивидуальный эффект в отношении фенотипа, однако в синергизме с другими вариантами этот эффект может заметно увеличиваться [9]. В случае МФЗ вариантный генотип обладает неполной пенетрантностью (т.е. неполное фенотипическое соответствие генотипу), и риск, ассоциированный с таким вариантом, превышает среднепопуляционный [10]. Поскольку в повреждении сурфактантной системы и нарушении кровообращения в легких принимают участие разнообразные медиаторы воспаления и регуляторы сосудистого тонуса, молекулярно-генетическое исследование природы особенностей течения пневмоний различного генеза наиболее полно, когда в анализ включается множество генов, эффект которых модифицирован внешнесредовым влиянием [11, 12].

В настоящее время выполнено единственное полногеномное исследование, посвященное поиску генетической детерминанты развития ОРДС, в котором выявлен один генетический маркер (PPFIA1) риска

Introduction

Among the complications in patients in the intensive care units nosocomial pneumonia (NP) still holds a leading position, thereby causing a high mortality [1–3]. Known research data for the studies of ventilator-associated pneumonia [4], acute respiratory distress syndrome (ARDS) and pneumonia of newborns noted that these diseases are multifactorial (or polygenic) [5]. Modern understanding of the genetic component of multifactorial diseases (MD) includes the concept of exposure threshold manifestations multivariate phenotype [6, 7]. According to this concept of predisposition the disease is due to hereditary factors, but its realization is possible only in the interaction with environmental factors.

Xenobiotic metabolism gene system significantly contribute to the development of various diseases since this enzyme system is involved in the metabolism of not only different in the chemical structure exogenous molecules, but also numerous endogenous substances, such as inflammatory mediators [8]. As applied to MDs it is assumed that a single genetic variant has a weak effect on an individual phenotype, but in synergy with other variants this effect can be markedly increased [9]. In the case of MDs the variant genotype has incomplete penetrance (i.e., incomplete phenotypic matching to genotype), and the risk associated with such variant is more than average in a population [10]. Since various mediators of inflammation and regulators of vascular tone are involved in the surfactant system damage and circulation disturbances in the lungs, molecular genetic study of NP predisposition would be complete when the analysis included many genes which effect is modified by environmental influence [11, 12].

Currently the only performed full genome study of genetic determinants of the development of ARDS, includes as a one genetic marker (PPFIA1) risk of acute lung injury (the first stage of ARDS) [13]. The results of our previous studies further indicated the role of genes detoxification of xenobiotics (particularly CYP1A1) gene and the hemostatic system in susceptibility to pneumonia of various origins [14, 15].

The purpose of this study was the identification of genotypes under a risk of nosocomial pneumonia and acute respiratory distress syndrome.

Materials and Methods

The sample consisted of 419 patients (81,1% of men aged 42,9±0,9 years) who were hospitalized at the V. A. Negovsky

Pneumonia. Acute Respiratory Distress Syndrome

развития острого повреждения легких (первая стадия ОРДС) [13]. Результаты наших предыдущих исследований указывают дополнительно на роль генов детоксикации ксенобиотиков (особенно *CYP1A1*) и генов системы гемостаза в предрасположенности к пневмонии различного генеза [14, 15].

Таким образом, целью данного исследования было выявление генотипов, сопряженных с риском развития нозокомиальной пневмонии и острого респираторного дистресс-синдрома.

Материал и методы

Выборка составила 419 больных и пострадавших (81,1% мужчин в возрасте $42,9 \pm 0,9$ года), госпитализированных в клинические базы НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского (Москва, Россия). Подробная характеристика исследованных групп представлена в табл. 1.

Критериями исключения были: возраст менее 18 лет, отсутствие информированного согласия, длительный прием кортикостероидов, хронические заболевания органов дыхания (бронхиальная астма, хроническая обструктивная болезнь легких, туберкулез, рак легких), любые хронические заболевания в стадии декомпенсации, тяжелый неврологический дефицит (≤ 8 по шкале комы Глазго), наркомания, алкоголизм, СПИД и беременность. В обеих группах были пациенты с сопутствующими заболеваниями, среди наиболее часто встречающихся: атеросклероз, ишемическая болезнь сердца, артериальная гипертензия 1–2 степени — 10, 6% и 14,9%, соответственно; диабет 1–2 типа — 2,0% и 4,5%; алиментарно-конституциональное ожирение 1–2 степени — 1,3% и 3,7%; язвенная болезнь желудка и/или 12 перстной кишки — 2,0% и 3,7%; мочекаменная и желчекаменная болезнь — 4,0% и 3,4%.

Клинические данные были собраны проспективно. В ходе лечения у 268 пациентов была диагностирована НП. Диагноз НП был установлен на основе клинических данных и инструментальных методов диагностики (рентгенографии органов грудной клетки, при необходимости — компьютерной томографии легких). Для верификации возбудителя НП выполняли бактериологическое исследование бронхоальвеолярной лаважной жидкости (БАЛЖ). Положительным считали результат при концентрации патогена 1×10^5 кое/мл или более. Диагностика ОРДС осуществлялась с использованием критериев НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского (2006) [16].

Все больные с НП получали лечение в соответствии с Рекомендациями Российского респираторного общества и Межрегиональной ассоциации по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии [17]. В качестве конечных точек исследования были определены: ОРДС, полиорганная недостаточность (ПОН), септический шок и летальный исход от любой причины.

Многогранность функций легких, их значение для поддержания гомеостаза требует глубокого анализа и рассмотрения полиморфизма генов, участвующих во многих метаболических процессах. В качестве генов-кандидатов предрасположенности к риску развития нозокомиальной пневмонии были выбраны гены, участвующие в регуляции различных звеньев гомеостаза: гены детоксикации ксенобиотиков (*CYP1A1* (три сайта); *AhR*, *GSTM1*; *GSTT1*; *ABCB1*); гены окислительно-восстановительного статуса (*SOD2*, *CAT*, *GCLC*); гены сосудистого гомеостаза (*ACE*, *AGT*, *AGTR1*, *NOS3*, *VEGF α*), а также ген, ответственный за синтез и метилирование ДНК — *MTHFR*).

ДНК выделяли из венозной крови. Методической основой генотипирования явилась аллель-специфическая тетрапраймазная полимеразная цепная реакция [18]. Дизайн исследования: случай — контроль, т. е. сравнение частоты распределения генотипов среди больных и здоровых. Вклады

research institute of general reanimatology (Moscow, Russia). Detailed characteristics of the studied groups are presented in Table 1.

Exclusion criteria were: age less than 18 years, lack of informed consent, long term administration of corticosteroids, chronic respiratory diseases (asthma, chronic obstructive pulmonary disease, tuberculosis, lung cancer), any chronic diseases in the stage of decompensation, severe neurological deficit (on a scale of coma Glasgow ≤ 8), drug addiction, alcoholism, AIDS and pregnancy. In both groups there were patients with concomitant diseases, including the most common: atherosclerosis, coronary heart disease, arterial hypertension of 1–2 degrees — 10, 6% and 14,9%, respectively; Type 1–2 diabetes — 2 and 4,5%; alimentary and constitutive obesity — 1,3 and 3,7%; peptic ulcer and / or duodenal ulcer 12 — 2,0 and 3,7%; urolithiasis and cholelithiasis — 4,0 and 3,4%.

Clinical data were collected prospectively. In the course of treatment, 268 patients were diagnosed with NP. The diagnosis of NP was put up on the basis of clinical and instrumental methods of diagnostics (chest X-ray, if necessary, CT scan). To verify the cause of NP bacteriological examination of bronchoalveolar lavage fluid (BALF) was done. A positive result was considered at a pathogen concentration of 1×10^5 cfu / ml or more. Diagnosis of ARDS was carried out using the criteria of the V. A. Negovsky research institute of general reanimatology (2006) [16].

All patients with NP were treated in accordance with the national guidelines [17]. As the study endpoints were determined: acute respiratory distress syndrome, multiple organ dysfunction (MODS), septic shock and death from any cause.

The versatility of lung function, their importance for the maintenance of homeostasis requires a thorough analysis and consideration of polymorphisms of genes involved in many metabolic processes. As a candidate genes the following were selected: genes of detoxification of xenobiotics (*CYP1A1* (three sites); *AhR*, *GSTM1*; *GSTT1*; *ABCB1*); genes of redox status (*SOD2*, *CAT*, *GCLC*); genes of vascular homeostasis (*ACE*, *AGT*, *AGTR1*, *NOS3*, *VEGF α*), genes responsible for synthesis and methylation of DNA — *MTHFR*).

DNA was extracted from venous blood. Methodical basis of genotyping was allele-specific tetra-primer polymerase chain reaction [18]. Study Design: case — control (comparing the frequency distribution of genotypes among patients and healthy controls). Contributions of different genotypes in the risk of disease was determined by the traditional indicators such as «odds ratio» (OR). The results were interpreted as follows: OR=1 — no correlation between genotype and disease; OR>1 — increased risk of disease; OR<1 — protective effect of genotype on the risk of developing the disease. A comparison was carried out in three models: dominant, recessive and additive.

Statistical analysis included: for the distribution of genotypes — test to comply with the distribution of the Hardy-Weinberg equilibrium; binary parameters: two-sided Fisher's exact, multiple logistic regression; for quantitative indicators: linear regression, Mann-Whitney test. Effects haplotypes examined by regression analysis using the maximum likelihood estimate. The multiplicative effects assessment alleles within the pathways carried out using an approach based on the calculation of the cumulative genetic risk score. These studies were interpreted taking into account the power of the test and statistical significance for multiple comparisons [19–23]. The following software was used: WinSTAT (<http://www.winstat.com/>), SNPStats (<http://bioinfo.iconologia.net/SNPstats>) and WinPepi (<http://publichealth.jbpub.com/book/gerstman/winpepi.cfm>).

Results and Discussion

A group of patients with NP and without NP were comparable in age, sex, ethnicity (Table 2). In each of the groups dominated caucasoids, mainly Eastern Slavs

Таблица 1. Характеристика больных.

Table 1. Characteristics of patients.

Indicators	Values of indicators in the groups	
	without NP, n (%)	with NP, n (%)
Total number	151	268
Age (years)	42.5±1.5	43.1±1.2
Sex		
Male	116 (76.8)	224 (85.6)
Female	35 (23.2)	44 (16.4)
Underlying diseases		
Severe combined trauma/wounding	91 (60.3)	143 (53.4)
Bowel obstruction	7 (4.6)	14 (5.2)
Inflammatory diseases of the abdominal cavity and retroperitoneal space complicated by destruction ¹	38 (25.2)	66 (24.6)
Purulent-inflammatory diseases of the skin, subcutaneous tissue, head and neck ²	8 (5.3)	34 (12.7)
Other ³	7 (4.6)	11 (4.1)
Comorbidity⁴:		
No	121 (80.1)	189 (70.5)
Yes	30 (19.9)	79 (29.5)
Solid tumors	13 (8.6)	18 (6.7)
Cardiovascular diseases ⁵	16 (10.6)	40 (14.9)
Type 2 diabetes	3 (2.0)	12 (4.5)
Obesity	2 (1.3)	10 (3.7)
Neurological pathology ⁶	1 (0.66)	8 (3.0)
Gastric/duodenal ulcer	3 (2.0)	10 (3.7)
Urolithiasis/cholelithiasis	6 (4.0)	9 (3.4)
Days before NP development	—	5.2±0.2
Acute Respiratory Failure (ARF)		
No	89 (58.9)	16 (6.0)
Yes	62 (41.1)	252 (94.0)
Mean intensive care unit stay, days	44.9±3.4	64.5±3.5
Mortality	4 (2.6)	92 (34.3)

Note (примечания): Indicators — признаки; total number — число больных; age (years) — возраст (годы); sex (Male, Female) — пол (мужчины женщины); underlying diseases — первичная нозология; severe combined trauma/wounding — тяжелая сочетанная травма/ранения; bowel obstruction — кишечная непроходимость; inflammatory diseases of the abdominal cavity and retroperitoneal space complicated by destruction¹ — воспалительные заболевания органов брюшной полости, осложненные деструкцией; purulent-inflammatory diseases of the skin, subcutaneous tissue, head and neck² — гнойно-воспалительные заболевания кожи, подкожной клетчатки, головы и шеи; other — другие; comorbidity — сопутствующие заболевания; no — нет; yes — да; solid tumors — опухоли; cardiovascular diseases⁵ — сердечно-сосудистые заболевания; type 2 diabetes — диабет 2 типа в стадии компенсации; obesity — алиментарно-конституциональное ожирение; neurological pathology — неврологическое заболевание; gastric/duodenal ulcer — язвенная болезнь желудка/12-и перстной кишки; urolithiasis/cholelithiasis — мочекаменная/желчнокаменная болезнь; days before NP development — дни до развития НП; acute Respiratory Failure (ARF) — острая дыхательная недостаточность (ОДН); mean intensive care unit stay, days — средняя продолжительность госпитализации, сутки; mortality — госпитальная летальность. Values of indicators in the groups — значения в группах; without NP — без НП; with NP — с НП.

¹ Pancreatonecrosis, acute phlegmonous and gangrenous appendicitis, destructive cholecystitis, renal carbuncle, hollow organ perforation — панкреонекроз, острый флегмонозно-гангренозный аппендицит, деструктивный холецистит, карбункул почки, перфорация полого органа. ² Lacunar tonsillitis, retropharyngeal abscess, suppurative submandibular lymphadenitis, purulent sphenoiditis, purulent pansinusitis, purulent otitis — лакунарная ангина, заглоточный абсцесс, подчелюстной гнойный лимфаденит, гнойный сфеноидит, гнойный пансинусит, гнойный отит. ³ Acute violation of cerebral circulation, pericarditis — острое нарушение мозгового кровообращения, перикардит. ⁴ Some patients had more than one disease — несколько пациентов имели не одно, а несколько сопутствующих заболеваний. ⁵ Ischemic cardiopathy, essential hypertension, widespread atherosclerosis, coronary artery bypass — ИБС, гипертоническая болезнь, атеросклероз, аорто-коронарное шунтирование. ⁶ Consequences of earlier stroke — последствия ранее перенесенного острого нарушения мозгового кровообращения (ОНМК).

различных генотипов в риск развития болезни определяли с помощью традиционного для таких исследований показателя «odds ratio» (OR — соотношение шансов). Полученные результаты трактовали следующим образом: OR=1 — указывает на отсутствие корреляций между генотипом и заболеванием; OR>1 — повышенный риск болезни; OR<1 — протективный эффект данного генотипа относительно риска развития заболевания. Сравнение проводили по трем моделям: доминантной, рецессивной и аддитивной.

Статистический анализ включал: для распределения генотипов — проверку на соответствие распределения закону

(85,6% and 80,4%), which included Russian (73,7% and 68,2%). The most frequent complication in the study group — NP was detected in 268 (63,9%) cases. It was also clear that in the group with NP the incidence of critical states are significantly higher than patients without NP (Table 2), particularly ARDS was — 69 (25,8%) and 3 (2,0%) of respectively. Therefore, in the group with respiratory support pneumonia was more common and the duration of mechanical ventilation was longer compared to

Pneumonia. Acute Respiratory Distress Syndrome

Таблица 2. Характеристика осложнений.

Table 2. Complications in groups.

Indicators	Values of indicators in the groups	
	without NP N (%)	with NP N (%)
Complications (of basic disease) ¹		
No	54 (35.8)	— (0.0)
Yes	97 (64.2)	268 (100.0)
Major complications		
Nosocomial pneumonia (NP)	— (0.0)	268 (100.0)
Sepsis	3 (2.0)	77 (28.7)
Multiple organ failure	4 (2.7)	105 (39.2)
Acute respiratory distress syndrome	3 (2.0)	69 (25.8)
Peritonitis	32 (21.2)	51 (19.0)
Intra-abdominal abscesses	8 (5.3)	10 (3.7)
Anastomotic failure	— (0.0)	9 (3.4)
Lung abscesses/empyema	— (0.0)	32 (11.9)
Wound suppuration	3 (2.0)	5 (1.9)
Posttraumatic osteomyelitis	2 (1.3)	5 (1.9)
Secondary meningoencephalitis	2 (1.3)	4 (1.5)
Mediastinitis	1 (0.7)	9 (3.4)
Tracheoesophageal fistula	— (0.0)	2 (0.7)
Pleurisy	4 (2.7)	48 (17.9)
Pulmonary thromboembolism	2 (1.3)	6 (2.2)
Traumatic bullets	9 (6.0)	24 (9.0)
Pneumothorax	5 (3.3)	19 (7.1)
Other ²	9 (6.0)	13 (4.9)
Combined pulmonary and extrapulmonary complications	7 (4.6)	151 (56.3)
Yes	62 (41.1)	252 (94.0)
No	89 (58.9)	16 (6.0)
Acute Respiratory Failure (ARF)		
Days before NP development	—	5.2±0.2
Use of mechanical ventilation		
No	134 (88.7)	146 (54.5)
Yes	17 (11.3)	122 (45.5)
Duration of mechanical ventilation. (days)	6.0±1.7	15.8±0.8
ICU admission		
No	16 (10.6)	11 (4.1)
Yes	135 (89.4)	257 (95.9)
Length of ICU stay (days)	5.7±0.6	20.2±1.8
Hospital mortalityg	4 (2.6)	92 (34.3)

Note (примечания): Indicators — признаки; complications (of basic disease) — осложнения; no — нет; yes — да; major complications — основные осложнения; nosocomial pneumonia — нозокомиальная пневмония; sepsis — сепсис; multiple organ failure — полиорганная недостаточность; acute respiratory distress syndrome — острый респираторный дистресс-синдром; peritonitis — перитонит; intra-abdominal abscesses — абсцессы брюшной полости; anastomotic failure — несостоятельность ранее наложенного анастомоза; lung abscesses/empyema — абсцесс /эмпиема легких; wound suppuration — нагноение послеоперационной раны; posttraumatic osteomyelitis — посттравматический остеомиелит; secondary meningoencephalitis — вторичный менингоэнцефалит; mediastinitis — медиастинит; tracheoesophageal fistula — трахео-пищеводный свищ; pleurisy — плеврит; pulmonary thromboembolism — тромбоэмболия легочной артерии (ТЭЛА); traumatic bullets — травматический пульмонит; pneumothorax — пневмоторакс; other — другие; combined pulmonary and extrapulmonary complications — сочетание легочных и внелегочных осложнений; Acute Respiratory Failure (ARF) — острая дыхательная недостаточность; days before NP development — время развития нозокомиальной пневмонии (НП), сутки; use of mechanical ventilation — применение ИВЛ; duration of mechanical ventilation, days — длительность ИВЛ, сутки; ICU admission — госпитализация в отделении реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ), сутки; length of intensive care unit (ICU) stay, days — длительность пребывания в ОРИТ, сутки; hospital mortalityg — госпитальная летальность; values of indicators in the groups — значения в группах; without NP — без НП; with NP — с НП. ¹ — a few patients who had not one, but several complications — несколько пациентов имели не одно, а несколько осложнений; ² — acute cerebrovascular accident, purulent lymphadenitis, gemomediastinum, endomyocarditis, fat embolism, pansinusitis, seizure, secondary pyelonephritis, acute limb ischemia, early adhesive ileus, post-operative / post-traumatic pancreatic necrosis — острое нарушение мозгового кровообращения, гнойный лимфаденит, гемомедиастинум, эндомиокардит, жировая эмболия, пансинусит, эпилептический припадок, вторичный пиелонефрит, острая ишемия нижних конечностей, ранняя спаечная кишечная непроходимость, послеоперационный/посттравматический панкреонекроз.

Харди-Вайнберга; для бинарных показателей: точный двусторонний критерий Фишера, множественную логистическую регрессию; для количественных показателей: линейную регрессию, критерий Манна-Уитни. Эффекты гаплотипов рассматривали с помощью регрессионного анализа с использованием метода максимального правдоподобия (maximum

the group without the NP, which in turn led to an increased time in the ICU and length of hospitalization.

The frequencies of genotypes of studied genes in groups is presented in Table 3. We then compared the distribution of genotypes in patients with NP among those

Таблица 3. Распределение генотипов в группе с НП и контрольной выборке.
Table 3. The distribution of genotypes among patients with NP and without NP.

Genes and genotypes		At-risk control Number (%)	NP	P-value ^{1,2} (genetic model) ³ , OR (95% CI)
<i>CYP1A1</i> rs2606345		<i>n</i> =150	<i>n</i> =266	0.30 (dom)
	T/T	53 (35.3)	107 (40.2)	0.80 (0.53–1.22)
	T/G	77 (51.3)	129 (48.5)	
	G/G	20 (13.3)	30 (11.3)	
<i>CYP1A1</i> rs4646903		<i>n</i> =150	<i>n</i> =263	0.40 (dom)
	T/T	124 (82.7)	208 (79.1)	1.25 (0.74–2.10)
	T/C	26 (17.3)	54 (20.5)	
	C/C	0 (0.0)	1 (0.4)	
<i>CYP1A1</i> rs1048943 Ile462Val		<i>n</i> =151	<i>n</i> =265	0.83 (dom)
	A/A	139 (92.1)	245 (92.4)	0.92 (0.44–1.95)
	A/G	12 (7.9)	20 (7.6)	
	G/G	0 (0.0)	0 (0.0)	
<i>AhR</i> rs2066853 Arg554Lys		<i>n</i> =147	<i>n</i> =261	0.42 (dom)
	G/G	122 (83.0)	208 (79.7)	1.24 (0.73–2.10)
	G/A	23 (15.7)	51 (19.5)	
	A/A	2 (1.4)	2 (0.8)	
<i>ABCB1</i> rs1045642 Ile1145 =		<i>n</i> =150	<i>n</i> =264	0.28 (dom)
	T/T	51 (34.0)	90 (34.1)	0.75 (0.44–1.27)
	T/C	70 (46.7)	133 (50.4)	
	C/C	29 (19.3)	41 (15.5)	
<i>SOD2</i> rs4880 Ala16Val		<i>n</i> =151	<i>n</i> =268	0.077 (dom)
	C/C	50 (33.1)	68 (25.4)	1.49 (0.96–2.33)
	T/C	63 (41.7)	132 (49.2)	
	T/T	38 (25.2)	68 (25.4)	
<i>CAT</i> rs17880664		<i>n</i> =146	<i>n</i> =260	0.42 (rec)
	T/T	62 (42.5)	104 (40.0)	0.78 (0.44–1.41)
	T/A	62 (42.5)	124 (47.7)	
	A/A	22 (15.1)	32 (12.3)	
<i>GCLC</i> rs17883901		<i>n</i> =148	<i>n</i> =262	0.84 (dom)
	C/C	120 (81.1)	214 (81.7)	0.95 (0.56–1.59)
	C/T	26 (17.6)	45 (17.2)	
	T/T	2 (1.4)	3 (1.1)	
<i>ACE</i> rs4340 Alu-287 bp		<i>n</i> =150	<i>n</i> =266	0.35 (rec)
	D/D	36 (24.0)	70 (26.3)	0.80 (0.50–1.27)
	I/D	73 (48.7)	136 (51.1)	
	I/I	41 (27.3)	60 (22.6)	
<i>AGT</i> rs699 Met235Thr		<i>n</i> =148	<i>n</i> =264	0.30 (rec)
	T/T	41 (27.7)	70 (26.5)	1.31 (0.79–2.18)
	T/C	80 (54.0)	135 (51.1)	
	C/C	27 (18.2)	59 (22.4)	
<i>AGTR1</i> rs5186		<i>n</i> =149	<i>n</i> =264	0.26 (rec)
	A/A	79 (53.0)	144 (54.5)	1.56 (0.71–3.45)
	A/C	61 (40.9)	95 (36.0)	
	C/C	9 (6.0)	25 (9.5)	
<i>MTHFR</i> rs1801133 Ala222Val		<i>n</i> =147	<i>n</i> =261	0.57 (dom)
	C/C	65 (44.2)	124 (47.5)	0.89 (0.59–1.34)
	C/T	70 (47.6)	110 (42.2)	
	T/T	12 (8.2)	27 (10.3)	
<i>NOS3</i> rs1799983 Glu298Asp		<i>n</i> =150	<i>n</i> =264	0.97 (dom)
	G/G	76 (50.7)	135 (51.1)	1.01 (0.67–1.51)
	G/T	65 (43.3)	109 (41.3)	
	T/T	9 (6.0)	20 (7.6)	
<i>VEGF-α</i> rs833061		<i>n</i> =148	<i>n</i> =264	0.29 (rec)
	T/T	40 (27.0)	69 (26.1)	0.87 (0.55–1.39)
	C/T	69 (46.6)	132 (50.0)	
	C/C	39 (26.4)	63 (23.9)	

Note (примечания): Genes and genotypes — гены и генотипы; at-risk control — контроль; NP — НП; number — число; *P*-value (genetic model) — *P*-значение (генетическая модель); ¹ — multivariate logistic regression adjusted for age, sex, co-morbidity, and duration of mechanical ventilation — множественный регрессионный анализ с учетом возраста, пола, наличия или отсутствия сопутствующей патологии, применения и длительности ИВЛ; ² — genotypes associated with response in the accordance with OR (protective, if OR<1, susceptible, if OR>1) — генотипы, ассоциированные с риском развития НП и ОРДС в соответствии с OR (протективный эффект, если OR<1, предрасположенность, если OR>1); ³ — the genetic model: rec (recessive), dom (dominant) — генетическая модель: рес (рецессивная), дом (доминантная).

Pneumonia. Acute Respiratory Distress Syndrome

likelihood estimate). Мультипликативное оценивание эффектов аллелей в рамках метаболических путей осуществляли с использованием подхода, базирующегося на подсчете кумулятивного эффекта рисков аллелей (cumulative genetic risk score, CGRS). Данные исследований интерпретировали с учетом мощности теста и статистической значимости множественных сравнений. [19-23] Были использованы программы и ресурсы: WinSTAT (<http://www.winstat.com/>), SNPStats (<http://bioinfo.iconcologia.net/SNPstats>) и WinPepi (<http://publichealth.jbpub.com/book/gerstman/winpepi.cfm>).

Результаты и обсуждение

Группы больных с НП и без НП были сравнимы по полу, возрасту, этнической принадлежности (табл. 2). В каждой из групп преобладали кавказоиды, преимущественно восточные славяне (85,6 и 80,4%, соответственно), к которым относятся русские (на 73,7 и 68,2%, соответственно). Наиболее частое осложнение в исследованной группе 268 (63,9%) случаев — НП. Очевиден тот факт, что в группе с НП частота развития критических состояний была существенно выше, чем у пациентов без НП (табл. 2), в частности, ОРДС составил — 69 (25,8%) и 3 (2,0%) случаев, соответственно. Поэтому в группе с НП применяли респираторную поддержку чаще, а продолжительность искусственной вентиляции легких (ИВЛ) была большей по сравнению с группой без НП, что, в свою очередь, приводило к увеличению времени пребывания в ОРИТ и госпитализации в целом.

Частоты генотипов по изученным генам в группе с НП и группе без НП представлена в табл. 3 (для всех генотипов соблюдено равновесие Харди-Вайнберга в обеих группах). Сравнили также распределение генотипов в группе больных с НП среди тех, у кого развился либо не развился ОРДС, а также среди выживших и умерших (табл. 4).

Индивидуальный SNP-анализ (однонуклеотидные полиморфные варианты) генов системы детоксикации ксенобиотиков показал, что риск развития ОРДС в группе больных и пострадавших с НП ассоциирован с мажорным генотипом гена *CYP1A1* rs2606345-T/T ($p=0,0027$, OR=2,38, 95% доверительный интервал [CI]: 1,35–4,17).

Данные результатов генотипирования генов системы сосудистого гомеостаза позволили установить, что частота генотипов *AhR*rs2066853 G/A-A/A и *AGT* rs699 C/C *AhR* rs2066853-G/A-A/A значительно выше среди пациентов с ОРДС в группе НП по сравнению с теми, у кого не развилось данное осложнение ($p=0,0012$, OR=2,94, 95% CI: 1,54–5,60). P -значение после проверки по Бонферрони оставалось значимым для генов *CYP1A1* (rs2606345) и *AhR* ($P_{\text{Bonferroni}}=0,038$ и $P_{\text{Bonferroni}}=0,017$, соответственно). Анализ взаимосвязей показал, что носителей минорного G-аллеля гена *CYP1A1* T/GG/G (rs2606345) значительно реже регистрировали в подгруппе, где развился ОРДС, что подтвердила оценка гаплотипов. В ходе исследования был выявлен гаплотип, продемонстрировавший протектив-

who developed and did not develop ARDS, and among the survivors and dead in this group (Table 4).

Individual SNP-analysis (single nucleotide polymorphic variants) of genes of detoxification of xenobiotics showed that the risk of ARDS in patients with NP was associated with a major gene genotype *CYP1A1* rs2606345-T / T ($P=0,0027$, OR=2,38, 95% CI: 1,35–4,17).

The results of genotyping of the genes of vascular homeostasis revealed that the frequency of genotypes *AhR*rs2066853 G / AA / A and *AGT* rs699 C / C *AhR* rs2066853-G / AA / A was significantly higher among the patients with ARDS in the NP group compared to those who did not developed this complication ($P=0,0012$, OR=2,94, 95% CI: 1,54–5,60). P -value after Bonferroni test was significant for gene *CYP1A1* (rs2606345) and *AhR* ($P_{\text{Bonferroni}}=0,038$ and $P_{\text{Bonferroni}}=0,017$, respectively). An analysis of the relationships showed that carriers of the minor allele of G-gene *CYP1A1* T / GG / G (rs2606345) were recorded significantly less frequent in the group in which ARDS developed, which was further confirmed by the assessment of haplotypes. The study identified a haplotype demonstrated the protective effect on the risk of developing ARDS: *CYP1A1* rs2606345-G-rs1048943-A-rs4646903-T ($P=0,0024$, OR=0,44, 95% CI 0,26–0,74).

Bacteriological examination of BALF in the subgroups showed that there were no significant differences. Gram negative flora dominated, accounting to 60% and 52.4%.

A strong association with the probability of death was associated with the C-allele of the gene *AGTR1* (rs5186), and this result remained significant even after adjustment for multiple comparisons (P -Bonferroni). Among the survivors, we observed protective effect of other site of the gene *CYP1A1*, namely — minor C allele of the gene *CYP1A1* (rs4646903) (under dominant model).

To search for risk genotypes on the development of sepsis and MODS in NP group multiple regression analysis was used. But none of the SNPs were significantly of associated with these complications. The frequency distribution of genotypes of the genes studied, adjusted for the primary nature of nosology, age, sex, use and duration of mechanical ventilation showed no difference among patients and survivors with respect to the risk of NP and critical conditions such as sepsis, ARDS and MODS.

Next, we analyzed the 14 SNPs for association with the duration of stay in the intensive care unit. It was revealed that carriers of *ABCB1* rs1045642-T allele stayed significantly longer in the ICU (Fig. 1; U -test [Mann-Whitney] T / CC / C vs. T / T, $P=0,04$). Given the pronounced additive effect (one allele risk against two risk alleles), we tested the other SNPs (linear regression analysis, adjusted for age, sex, use of mechanical ventilation and length), then the accuracy of Association T-allele of the gene *ABCB1* (rs1045642) with duration of stay in the intensive care unit became more pronounced ($P=0,0045$).

Next the multiplicative genetic model was assessed in the framework of the metabolic pathways that demonstrated the greatest effects in connection with the risk of ARDS and mortality: detoxification of xenobiotics

Таблица 4. Распределение генотипов в группе больных НП относительно риска развития ОРДС и летального исхода.
Table 4. The distribution of genotypes among NP patients with ARDS and poor outcome and in at-risk controls.

Genes and genotypes		NP patients without ARDS	ARDS	P-value ^{1,2} (genetic model) ³ , OR, 95% CI	NP survivors	NP non- survivors	P-value (genetic model), OR, 95% CI
		Number (%)	Number (%)		Number (%)	Number (%)	
<i>CYP1A1</i> rs2606345		n=198	n=68	0.0027 (dom) ⁴	n=166	n=91	0.53 (dom)
	T/T	69 (34.9)	38 (55.9)	0.42	64 (38.5)	39 (42.9)	0.85
	T/G	102 (51.5)	27 (39.7)	0.24–0.74	84 (50.6)	42 (46.1)	0.50–1.42
<i>CYP1A1</i> rs4646903		n=195	n=68	0.26 (dom)	n=163	n=91	0.03 (dom)
	T/T	151 (77.4)	57 (83.8)	0.66	121 (74.2)	78 (85.7)	0.48
	T/C	43 (22.1)	11 (16.2)	0.32–1.37	41 (25.1)	13 (14.3)	0.24–0.95
<i>CYP1A1</i> rs1048943 Ile462Val		n=197	n=68	0.22 (dom)	n=165	n=91	0.56 (dom)
	A/A	180 (91.4)	65 (95.6)	0.48	151 (91.5)	85 (93.4)	0.75
	A/G	17 (8.6)	3 (4.4)	0.13–1.69	14 (8.5)	6 (6.6)	0.28–2.03
<i>Ahr</i> rs2066853 Arg554Lys		n=193	n=68	0.0012 (dom) ⁵	n=163	n=89	0.32 (dom)
	G/G	163 (84.5)	45 (66.2)	2.94	132 (81.0)	68 (76.4)	1.38
	G/A	29 (15.0)	22 (32.4)	1.54–5.60	30 (18.4)	20 (22.5)	0.73–2.60
<i>ABCB1</i> rs1045642 Ile1145 =		n=196	n=69	0.32 (rec)	n=164	n=91	0.18 (dom)
	T/T	65 (33.2)	26 (36.8)	0.66	51 (31.1)	37 (40.7)	0.69
	T/C	98 (50.0)	35 (51.5)	0.29–1.52	87 (53.0)	39 (42.9)	0.40–1.19
<i>SOD2</i> rs4880 Ala16Val		n=199	n=69	0.084 (rec)	n=167	n=92	0.079 (rec)
	C/C	46 (23.1)	22 (31.9)	0.55	44 (26.4)	22 (23.9)	0.58
	T/C	97 (48.7)	35 (50.7)	0.27–1.11	75 (44.9)	53 (57.6)	0.31–1.08
<i>CAT</i> rs17880664		n=193	n=67	0.25 (dom)	n=161	n=90	0.25 (dom)
	T/T	73 (37.8)	31 (46.3)	0.72	68 (42.2)	32 (35.6)	1.37
	T/A	99 (51.3)	25 (37.3)	0.41–1.26	74 (46.0)	47 (52.2)	0.80–2.36
<i>GCLC</i> rs17883901		n=194	n=68	0.58 (dom)	n=162	n=95	0.94 (dom)
	C/C	160 (82.5)	54 (79.4)	1.22	133 (82.1)	75 (82.4)	0.97
	C/T	31 (16.0)	14 (20.6)	0.61–2.45	28 (17.3)	15 (16.5)	0.49–1.91
<i>ACE</i> rs4340 Alu–287 bp		n=198	n=68	0.43 (rec)	n=166	n=91	0.60 (dom)
	D/D	50 (25.2)	20 (29.4)	1.30	42 (25.3)	26 (28.6)	0.86
	I/D	106 (53.5)	30 (44.1)	0.68–2.46	86 (51.8)	45 (49.5)	0.48–1.53
<i>AGT</i> rs699 Met235Thr		n=196	n=68	0.028 (rec)	n=164	n=91	0.67 (dom)
	T/T	57 (29.1)	13 (19.1)	2.03	43 (26.2)	26 (28.6)	0.88
	T/C	102 (52.0)	33 (48.5)	1.09–3.80	83 (50.6)	44 (48.4)	0.50–1.57
<i>AGTR1</i> rs5186		n=196	n=68	0.07 (dom)	n=164	n=91	0.0023 (add) ⁶
	A/A	100 (51.0)	44 (64.7)	0.59	97 (59.1)	41 (45.0)	1.83
	A/C	79 (40.3)	16 (23.5)	0.33–1.05	57 (34.8)	35 (38.5)	1.24–2.72
<i>MTHFR</i> rs1801133 Ala222Val		n=193	n=68	0.21 (dom)	n=162	n=90	0.23 (dom)
	C/C	87 (45.1)	37 (54.4)	0.70	71 (43.8)	47 (52.2)	0.73
	C/T	85 (44.0)	25 (36.8)	0.40–1.22	69 (42.6)	39 (43.3)	0.43–1.23
<i>NOS3</i> rs1799983 Glu298Asp		n=196	n=68	0.88 (dom)	n=164	n=91	0.48 (dom)
	G/G	100 (51.0)	35 (51.5)	0.96	86 (52.4)	43 (47.2)	1.20
	G/T	81 (41.3)	28 (41.2)	0.55–1.67	64 (39.0)	42 (46.1)	0.72–2.02
<i>VEGF-α</i> rs833061		n=196	n=68	0.30 (dom)	n=164	n=91	0.055 (dom)
	T/T	15 (7.7)	5 (7.3)	0.72	14 (8.5)	6 (6.6)	0.57
	C/C	47 (24.0)	16 (23.5)	0.39–1.33	40 (24.4)	23 (25.3)	0.32–1.01

Note (примечания): Genes and genotypes — гены и генотипы; NP patients — пациенты с НП; without ARDS — без ОРДС; with ARDS — с ОРДС; P-value (genetic model) — P-значение (генетическая модель); NP survivors — выжившие с НП; NP non-survivors — умершие с НП; number — число; ¹ Adjusted analysis by age, sex, use and duration of mechanical ventilation — множественный регрессионный анализ с поправкой на возраст, пол, применение и длительность механической вентиляции; ² Genotypes associated with response in the accordance with OR (protective, if OR<1, susceptible, if OR>1) are highlighted in grey; significant P-values are in bold — генотипы в соответствии с OR (протективный при OR<1, ассоциированный при OR>1) выделены серым цветом; значимые P-значения выделены жирным шрифтом; ³ The genetic model: rec (recessive), dom (dominant); add (additive) — генетические модели: rec (рецессивная), dom (доминантная); add (аддитивная); ⁴ — $P_{Bonferroni}=0,038$; ⁵ — $P_{Bonferroni}=0,017$; ⁶ $P_{Bonferroni}=0,032$.

Pneumonia. Acute Respiratory Distress Syndrome

ный (защитный) эффект относительно риска развития ОРДС: *CYP1A1* rs2606345-G-rs1048943-A-rs4646903-T ($p=0,0024$, OR=0,44, 95% CI 0,26–0,74).

Бактериологическое исследование БАЛЖ у больных НП в подгруппах с ОРДС и без ОРДС показал отсутствие значимых различий. В качестве возбудителя в обеих подгруппах преобладала Грам (-) флора, составив 60% и 52,4% соответственно.

Сильная связь с вероятностью летального исхода была ассоциирована с С-аллелем гена *AGTR1* (rs5186), и этот результат оставался значимым даже после поправки на множественные сравнения ($P_{\text{Bonferroni}}$). Среди выживших пациентов исследованных групп мы наблюдали протективный эффект другого сайта гена *CYP1A1*, а именно — минорного С-аллеля гена *CYP1A1* (rs4646903) (по доминантной модели).

Для поиска рискованных генотипов развития сепсиса и ПОН в группе с НП был применен множественный регрессионный анализ. Но ни один из SNPs не был достоверно ассоциирован с этими осложнениями. Частота распределения генотипов по изученным генам с поправкой на характер первичной нозологии, возраст, пол, применение и длительность ИВЛ не выявила различий среди больных и пострадавших относительно риска развития НП и таких критических состояний, как сепсис, ОРДС и ПОН.

Далее анализировали 14 SNPs для выявления ассоциаций с продолжительностью пребывания в ОР. Установили, что носители *ABCB1* rs1045642-T аллеля значительно дольше оставались в отделении интенсивной терапии (рис. 1; U -тест [Mann-Whitney] T/C-C/C против T/T, $p=0,04$). Учитывая выраженный аддитивный эффект (один аллель риска против двух аллелей риска), тестировали этот и другие SNPs (линейный регрессионный анализ с поправкой на возраст, пол, применение и продолжительность ИВЛ), после чего достоверность ассоциации Т-аллеля гена *ABCB1*(rs1045642) с длительностью пребывания в ОР стала более выраженной ($p=0,0045$).

Далее была проведена оценка мультипликативной генетической модели в рамках тех метаболических путей, которые продемонстрировали наибольшие эффекты в связи с риском развития ОРДС и летальности: детоксикации ксенобиотиков (*CYP1A1* и *AhR*) и гены ренин-ангиотензиновой системы (*ACE*, *AGT*, *AGTR1*) для всех конечных точек риска. На рисунке 2 показана восприимчивость к НП и ОРДС для носителей разного количества рискованных аллелей. Определено пороговое значение для протективных и рискованных генотипов, сопряженных с НП и ОРДС. Сочетание двух и более аллелей риска в указанных генах у одного и того же пациента повышают риск развития НП (рис. 2 верхний. $p=0,017$, OR=2,04, 95% CI 1,16–3,57). Увеличение количества рискованных аллелей до четырех и более у больных с НП сопряжено с развитием ОРДС (рис. 2 нижний. $p=0,0012$, OR=2,56, 95% CI 1,46–4,49).

Таким образом, создание генетических панелей может помочь выделить группы высокого риска разви-

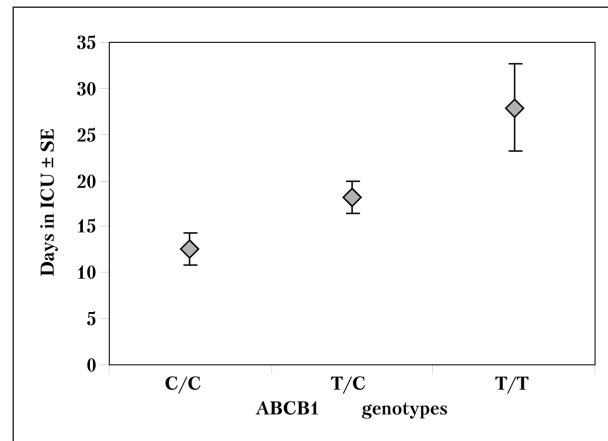


Рис. 1. Генотипы гена *ABCB1*, ассоциированные с длительностью пребывания в ОПИТ.

Fig. 1. *ABCB1* genotypes associations with the number of days in ICU.

Note (примечания): Days in ICU — число дней в ОПИТ; genotypes — генотипы.

(*CYP1A1* and *AhR*) and the genes of the renin-angiotensin system (*ACE*, *AGT*, *AGTR1*) for all endpoints risk. Figure 2 shows the sensitivity to NP and ARDS for different number of carriers risk alleles. Threshold values for protective and risk genotypes associated with NP and ARDS. Combining two or more risk alleles in these genes in one and the same patient increases the risk of NP (upper panel; $P=0.017$, OR=2.04, 95% CI 1.16–3.57). Increasing the number of risk alleles and four more patients with NP associated with the development of ARDS (lower panel; $P=0.0012$, OR = 2.56, 95% CI 1.46–4.49).

Thus, the creation of genetic panels can help to identify groups at high risk for certain critical conditions. Nominally significant relationship was found for the same risk score (the threshold for the four genotypes of risk) to predict the outcome of the disease with the development of nosocomial pneumonia ($P=0.041$, OR = 1.77, 95% CI 1.04–3.00). However, we found no association between the same multiplicative genetic model for sepsis and MODS in patients with NP.

This study evaluates the effects of SNPs in the xenobiotics detoxification and vascular homeostasis genes on the development and progression of critical illness (nosocomial pneumonia, ARDS, sepsis, MOF and mortality) in a relatively homogeneous group of patients of the same ethnicity.

The most intriguing finding is the cumulative effect of risk alleles in genes containing genes partner (detoxification of xenobiotics: *CYP1A1* and *AhR* and the renin-angiotensin system: *ACE*, *AGT*, *AGTR1*) on the risk of NP and ARDS. Taking into account that cytochrome P450 enzymes play an important role in the metabolism of endogenous and exogenous chemicals identified *CYP1A1* gene effects do not seem random. The enzyme CYP1A1 is involved in the regulation of the functions of the bronchial and alveolar epithelium; moreover, P450 enzymes, including CYP1A1, are involved in the formation and further

тия конкретных критических состояний. Номинально значимая взаимосвязь была выявлена для одного и того же балла риска (порог для четырех генотипов риска) для прогнозирования исхода заболевания при развитии нозокомиальной пневмонии ($p=0,041$, $OR=1,77$, $95\% CI 1,04-3,00$). Однако мы не выявили ассоциации между теми же мультипликативными генетическими моделями для сепсиса и ПОН у больных НП.

Проведенное исследование оценивает влияние полиморфных вариантов в генах детоксикации ксенобиотиков и сосудистого гомеостаза на развитие и течение НП и ОРДС в сравнительно однородных группах больных одинаковой национальности.

Самым интригующим результатом исследования является совокупное влияние рискованных аллелей в генах, содержащих гены-партнеры (детоксикации ксенобиотиков: *CYP1A1* и *AhR* и ренин-ангиотензиновой системы: *ACE*, *AGT*, *AGTR1*) на риск развития НП и ОРДС.

Принимая во внимание, что ферменты системы цитохрома P450 играют важную роль в метаболизме экзогенных и эндогенных химических веществ, выявленные эффекты гена *CYP1A1* кажутся не случайными. Фермент CYP1A1 принимает участие в регуляции функций бронхиального и альвеолярного эпителия; кроме того, ферменты системы P450, в том числе CYP1A1, вовлечены в формирование и дальнейшее регулирование реакций активных форм кислорода, в том числе, и токсических эффектов кислорода [24, 25]. Функциональный полиморфизм rs2606345G/T расположен в интроне CYP1A1 и влияет на уровень экспрессии данного гена [26, 27]. В наших предыдущих исследованиях [14, 15] мы показали роль вариантов гена *CYP1A1* (исключительно или в сочетании с SNPs в других генах) в связи с риском развития внебольничной и нозокомиальной пневмонии. Окислительный стресс играет важную роль в патогенезе значительного числа заболеваний. Важными компонентами защиты клеток от окислительного стресса являются антиоксидантные ферменты, активность которых генетически детерминирована. Активные формы кислорода необходимы для энергетического обеспечения, а также для борьбы с инфекционными агентами, детоксикации ксенобиотиков, регуляции структурных процессов пролиферации, дифференцировки и апоптоза). Вместе с тем, высокая реакционная способность кислорода, особенно его активных форм, участвующих в разнообразных патологических процессах (воспаление, лихорадка, ишемия и другие), определяет целесообразность включения многоуровневой системы антиоксидантной защиты. Полиморфные варианты генов антиоксидантной системы (АОС), обуславливая функциональную вариативность белковых продуктов, влияют на широкий спектр биохимических реакций, направленных на активацию АОС, детерминируя тем самым риск реализации широкого спектра патологических состояний. Результаты поиска генетических детерминантов АОС указывают на наличие наследственной предрасположенности к дисбалансу АОС [28]. Легкие наиболее уязвимы в от-

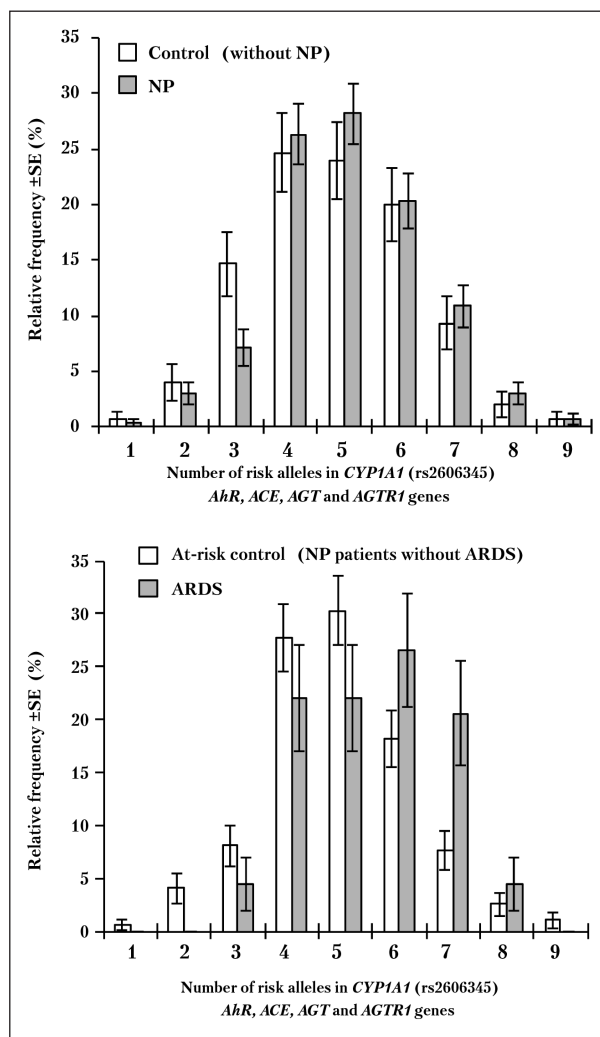


Рис. 2. Относительная частота распределения числа рискованных аллелей при НП (верхний рисунок) и ОРДС (нижний рисунок) и соответствующий контроль по генам *CYP1A1*, *AhR*, *ACE*, *AGT* и *AGTR1*.

Fig. 2. Relative frequency distribution by the number of risk alleles in the SNPs associated with NP (upper figure) and ARDS (lower figure) and matched control in *CYP1A1*, *AhR*, *ACE*, *AGT* and *AGTR1* genes.

Note (примечания): Relative frequency — частота встречаемости; number of risk alleles genes — число рискованных аллелей в генах; controls (without NP) — контроль (без НП); NP — НП; At-risk controls (NP patients without ARDS) — контроль (пациенты без ОРДС); ARDS — ОРДС. Mean values and standard errors of relative frequencies are plotted by the number of carried risk alleles, so bars represents proportions of patients or at-risk control subjects carrying specified number of risk alleles. Genotype distribution of SNPs was compared using additive model: homozygous risk — 2 risk alleles, heterozygous — 1 risk allele, homozygous protective — 0 risk alleles. Risk alleles are: *CYP1A1* rs2606345-T, *AhR* rs2066853-A, *ACE* rs4340-D, *AGT* rs699-C and *AGTR1* rs5186-C. Мультипликативный риск оценивали с использованием аддитивной модели: гомозиготный генотип по рисковому аллелю — два рискованных аллеля, гетерозиготный генотип — один рискованный аллель, гомозиготный протективный генотип — 0 рискованных аллелей. Рисковые аллели: *CYP1A1* rs2606345-T, *AhR* rs2066853-A, *ACE* rs4340-D, *AGT* rs699-C и *AGTR1* rs5186-C.

There are only two subjects in the group with eight risk alleles (lower figure) — в группе с восемью рискованными аллелями только два больных (нижний рисунок).

ношении оксидантного повреждения, так как непосредственно подвергаются действию кислорода и его активных форм, что обусловлено дисбалансом в системе оксиданты-антиоксиданты. Нарушение равновесия между монооксигеназной системой и системой антиоксигеназной защиты организма является пусковым механизмом повреждения бронхов при хронической обструктивной болезни легких.

Хорошо известно, что активность гена *CYP1A1* регулируется транскрипционным фактором AhR. Повышение базального уровня цитохрома P450 (CYP) может быть обусловлено, в частности, полиморфизмом гена рецепторного белка AhR. Выявлено 10 наиболее распространенных вариантов гена *AhR*, влияющих на активность CYP. В частности, повышенную активность обнаруживали при наличии варианта в кодирующей области *AhR* (аллель G1721 A), причем у мужчин в большей степени, чем у женщин [29].

Мы дополнительно протестировали функциональный вариант (rs2066853) в домене трансаактивации гена *AhR* [30]. Выявление ассоциации полиморфизма AhR с риском развития ОРДС поддерживает гипотезу о причастности обоих генов к регуляции сигнальных каскадов, контролирующих прогрессирование воспаления в легких вплоть до развития ОРДС или возникновения НП на фоне уже развившегося ОРДС. Поэтому мы полагаем, что полиморфные варианты генов *CYP1A1* и *AhR* могут быть генетическими факторами риска развития ОРДС.

Изначально считалось, что AhR участвует в основном в метаболизме химических веществ из окружающей среды. Теперь известно несколько физиологических лигандов для AhR, например, медиаторы острого воспаления: лейкотриены и простагландины [31]. Экспрессия AhR в большинстве типов клеток иммунной системы влияет на активность множества ксенобиотик- или диоксин-чувствительных элементов (XREs/DREs), которые регулируют иммунный ответ, что подчеркивает важность этого рецептора в иммунологических процессах, в частности при воспалении [32–35].

В ряде исследований показано, что применение ИВЛ нередко приводит к развитию воспаления в легких, что индуцирует окислительный стресс, который усугубляет течение патологического процесса. Вышеуказанные гипотезы о роли метаболического пути с участием *CYP1A1* и AhR в прогрессировании воспаления легких, соответствуют экспериментальным данным, полученным на животных, и показывающим, что экспрессия *CYP1A1* значительно увеличивается при гипероксии [24]. Результаты проведенного исследования убедительно доказывают то, что генетически детерминированная изменчивость в активности *CYP1A1* и AhR может способствовать развитию ОРДС.

В результате проведенного исследования установлено значение генов еще одного важного метаболического пути (ренин-ангиотензиновой системы — РАС) для риска возникновения ОРДС. Известно, что функциональная активность компонентов РАС, в том числе

control the reaction of reactive oxygen species, including oxygen and toxic effects [24, 25]. Functional polymorphism rs2606345G / T located in intron *CYP1A1* and affects the expression level of the gene [26, 27].

In our previous studies [14, 15], we showed the role of the gene variants of *CYP1A1* (exclusively or in combination with SNPs in other genes) due to the risk of community-acquired and nosocomial pneumonia. Oxidative stress plays a significant role in the pathogenesis of diseases. Important components protect cells from oxidative stress are antioxidant enzymes, whose activity is genetically determined. Reactive oxygen species are needed for energy security and to combat infectious agents, detoxification of xenobiotics, structural regulation of proliferation, differentiation and apoptosis). However, the high reactivity of oxygen, particularly the active forms involved in a variety of pathological processes (inflammation, fever, ischemia, etc.) determines the appropriateness of including multilevel antioxidant defense system. Polymorphic variants of genes of antioxidant system (AOS), causing functional variation of protein products affect a wide range of biochemical reactions, aimed at activation of the AOC, determining the risk of implementing a wide range of pathological conditions. Results of genetic determinants of the AOC indicate the presence of a genetic predisposition to an imbalance of the AOC [28]. Lungs are most vulnerable to oxidative damage because they are directly exposed to oxygen and its active forms resulting from imbalance in the oxidant-antioxidant.

It is well known that the activity of the *CYP1A1* gene is regulated by the transcription factor AhR. Increased basal levels of cytochrome P450 (CYP) may be due, in particular, to the receptor protein gene polymorphism AhR. Ten most common variants of the gene *AhR*, affecting the activity of CYP, are revealed. In particular, increased activity was found in the presence of variations in the coding region of *AhR* (allele G1721 A), and in men more than in women [29].

In addition, we further tested a functional variant (rs2066853) in the gene transactivation domain *AhR* [30]. Identification of AhR polymorphisms association with the risk of ARDS supports the hypothesis of the involvement of both genes in the regulation of signaling cascades that control the progression of the inflammation in the lungs until the development of ARDS or the occurrence of NP on the background of already developed ARDS. Therefore, we believe that polymorphic variants of the genes *CYP1A1* and *AhR* may be genetic risk factors for ARDS

Initially it was believed that AhR was involved primarily in the metabolism of chemical substances from the environment. Now, there are several physiological ligands for AhR, e.g., acute inflammation mediators: leukotrienes, prostaglandins [31]. AhR expression in most cell types of the immune system are influenced by the activity of many xenobiotic- or dioxin-sensitive elements (XREs / DREs), that regulate immune response, emphasizing the importance of this receptor in immunological processes, particularly during inflammation [32–35].

генов ангиотензиногена (AGT), ангиотензин-превращающего фермента (АПФ) и рецептора 1 типа ангиотензина II (AGTR1), влияет на артериальное давление и тонус сосудов, и важна для развития воспаления [36].

Ангиотензин II (AngII) является основным эффектором РАС и, как известно, благодаря сосудосуживающему эффекту вызывает значительное увеличение системного и локального артериального давления. Помимо прямого влияния AngII на системный кровоток, возможно также опосредованное воздействие белка на сосудистый тонус при травме в условиях окислительного стресса [37]. Для критических состояний характерна избыточная продукция свободных радикалов, истощение антиоксидантной защиты, что, в свою очередь, может послужить пусковым механизмом развития системного воспаления и полиорганной недостаточности [38]. Большинство физиологических и патофизиологических эффектов AngII реализуется при взаимодействии с *AGTR1* [39]. Выявленная в настоящем исследовании ассоциация полиморфизма *AGTR1* с неблагоприятным исходом среди пациентов с НП коррелирует с литературными данными и биологически оправдана.

Мы считаем, что касается сопряженность вариабельности гена *ABCB1* с развитием осложненного течения основного заболевания (НП, ОРДС) объясняется его значением в фармакокинетике лекарственных препаратов через клеточные мембраны, так как индивидуальные особенности распределения и скорости возникновения терапевтического эффекта конкретного лекарственного средства у больного также генетически детерминированы [40, 41].

Все шире признается, что, анализируя суммарное влияние генов различных систем, предположительно участвующих в патогенезе развития заболевания или критического состояния, можно приблизиться к пониманию механизмов реализации генетических детерминант [42, 43]. Учитывая это соображение, мы сгруппировали SNPs в метаболических путях, а затем тестировали совместное влияние комбинаций. Два набора генов-партнеров были анализированы на основе их вклада в развитие воспаления и критического состояния.

Это первое сообщение об ассоциации НП и ОРДС с мультипликативными эффектами генов детоксикации ксенобиотиков и ренин-ангиотензиновой системы. Распределение аллелей риска в метаболических путях детоксикации/окислительного стресса и сосудистого гомеостаза показывает, что увеличение количества рискованных аллелей наблюдается именно в группе НП и ОРДС.

Полученные результаты позволяют судить о том, что существует тесная связь между двумя изученными путями в отношении усиления воспалительной реакции в легких, которая в особенности зависит от влияния выраженности окислительного стресса и дисфункции эндотелия легочных капилляров [44].

Исследование имело несколько ограничений. Выборка была средней, и не у всех выявленных ассоциаций статистическая мощность теста была более 80%. Даль-

Several studies showed that the use of mechanical ventilation often leads to the development of inflammation in the lungs that induces oxidative stress, which exacerbates the disease process. The above hypothesis about the role of the metabolic pathway involving CYP1A1 and AhR in the progression of inflammation of the lungs, the experimental data obtained in animals, showing the expression of *CYP1A1* significantly increased by hyperoxia [24]. The results of this study clearly demonstrate that the genetically determined variability in the activity of CYP1A1 and AhR may contribute to the development of ARDS.

The study is set of genes of another important pathway (renin-angiotensin system — RAS) in connection with the risk of ARDS. It is known that the functional activity of components of the RAS, including genes of angiotensinogen (AGT), angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitors and angiotensin type 1 receptor II (AGTR1), influence on the blood pressure and vascular tone is important in connection with the development of inflammation [36].

Angiotensin II (AngII) is the primary effector of RAS and, as is known, thanks to the vasoconstrictor effect causes a significant increase in local and systemic arterial pressure [37]. For critical conditions characterized by excessive production of free radicals, depletion of antioxidant protection, which in turn can serve as a trigger for the development of systemic inflammation and organ failure [38]. Most of the physiological and pathophysiological effects of AngII are realized in the interaction with *AGTR1* [39]. Identified association of the polymorphism of *AGTR1* gene with a poor outcome in patients with NP correlates with literature data and is biologically justified.

With regard to the variability of gene *ABCB1* conjugation with complications of the underlying disease (NP, ARDS), we believe that this is due to its value in the pharmacokinetics of drugs across cell membranes, as the individual characteristics of the distribution and rate of occurrence of the therapeutic effect of a particular drug in a patient are also genetically determined [40, 41].

It is increasingly recognized that by analyzing the total effect of the genes of different systems, involved in the pathogenesis of the disease or a critical state, can bring us closer to the understanding the mechanisms of realization of genetic determinants [42, 43]. Given this consideration, we have grouped the SNPs in the metabolic pathways, and then tested the joint effect of combinations. Two sets of partner genes were analyzed based on their contribution to the development of inflammation and critical state.

This is the first report of an association between NP and ARDS and cumulative effects of xenobiotics detoxification and RAS family genes. Our results suggest that there is a significant crosstalk between two studied pathways in the aggravation of lung inflammation, which particularly depends on strong oxidative stress and pulmonary capillary endothelial dysfunction [44].

Pneumonia. Acute Respiratory Distress Syndrome

нейший анализ стратификации (например, вентилятор-ассоциированная пневмония, сроки развития ОРДС по отношению к нозокомиальной пневмонии, частота встречаемости сепсиса и ПОН в каждой подгруппе) был ограничен статистической мощностью и недостаточным числом случаев для сравнения в исследованных группах.

Заключение

Таким образом, показано, что ряд аллельных вариантов генов детоксикации ксенобиотиков сопряжено с риском развития нозокомиальной пневмонии и ОРДС: *CYP1A1* rs2606345-T/T ($p=0,0027$, OR=2,38, 95% доверительный интервал: 1,35–4,17), *AhR* rs2066853 G/A-A/A и *AGT* rs699 C/C *AhR* rs2066853-G/A-A/A ($p=0,0012$, OR=2,94, 95% доверительный интервал: 1,54–5,60). Сочетание двух и более рисков аллелей в генах *CYP1A1*, *AhR*, *ACE*, *AGT* и *AGTR1* у одного и того же больного повышает риск развития НП ($p=0,017$, OR=2,04, 95% CI 1,16–3,57). Увеличение количества рисков аллелей до четырех и более у больных НП сопряжено с риском развития ОРДС ($p=0,0012$, OR=2,56, 95% CI 1,46–4,49). Выявленные ассоциации очень важны для понимания путей и механизмов возникновения НП и ОРДС, прогнозирования исхода заболевания, особенно в том случае, если в ближайшем будущем результаты подобных генетических исследований будут применяться для персонализированного подхода к лечению больных.

Литература

1. Yoon Y.S. Respiratory review of 2012: pneumonia. *Tuberc. Respir. Dis. (Seoul)*. 2012; 73 (2): 77–83. <http://dx.doi.org/10.4046/trd.2012.73.2.77>. PMID: 23166539
2. Schuetz P., Batschwaroff M., Dusemund F., Albrich W., Bürgi U., Maurer M., Brutsche M., Huber A.R., Müller B. Effectiveness of a procalcitonin algorithm to guide antibiotic therapy in respiratory tract infections outside of study conditions: a post-study survey. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2010; 29 (3): 269–277. <http://dx.doi.org/10.1007/s10096-009-0851-0>. PMID: 20039090
3. Мороз В.В., Смелая Т.В., Голубев А.М., Сальникова Л.Е. Генетика и медицина критических состояний: от теории к практике. *Общая реаниматология*. 2012; 8 (4): 5–12. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2012-4-5>
4. Determann R.M., Royakkers A., Wolthuis E.K., Vlaar A.P., Choi G., Paulus F., Hofstra J.J., de Graaff M.J., Korevaar J.C., Schultz M.J. Ventilation with lower tidal volumes as compared with conventional tidal volumes for patients without acute lung injury: a preventive randomized controlled trial. *Crit. Care*. 2010; 14 (1): R1. <http://dx.doi.org/10.1186/cc8230>. PMID: 20055989
5. Copland I.B., Post M. Understanding the mechanisms of infant respiratory distress and chronic lung disease. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2002; 26 (3): 261–265. <http://dx.doi.org/10.1165/ajrcmb.26.3.f231>. PMID: 11867331
6. Баранов В.С., Глотов О.С., Баранова Е.В. Геномика старения и предиктивная медицина. *Успехи геронтологии*. 2010; 23 (3): 329–338. PMID: 21137201
7. van de Vosse E., van Dissel J.T., Ottenhoff T.H. Genetic deficiencies of innate immune signalling in human infectious disease. *Lancet Infect. Dis.* 2009; 9 (11): 688–698. [http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(09\)70255-5](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(09)70255-5). PMID: 19850227
8. Brownson R.C., Dodson E.A., Stamatakis K.A., Casey C.M., Elliott M.B., Luke D.A., Wintrobe C.G., Kreuter M.W. Communicating evidence-based information on cancer prevention to state-level policy makers. *J. Natl. Cancer Inst.* 2011; 103 (4): 306–316. <http://dx.doi.org/10.1093/jnci/djq529>. PMID: 21212381
9. Davies P.D., Yew W.W., Ganguly D., Davidow A.L., Reichman L.B., Dheda K., Rook G.A. Smoking and tuberculosis: the epidemiological association and immunopathogenesis. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 2006; 100 (4): 291–298. <http://dx.doi.org/10.1016/j.trstmh.2005.06.034>. PMID: 16325875

The study has several important limitations. Our sample size was modest, and not all estimated associations had > 80% power to detect a moderate OR. Further stratification analysis (e.g., ventilator-associated pneumonia and others) was limited by the statistical power in stratification analysis. We could not estimate the associations in non-NP group as there were only a few subjects with ARDS, sepsis and MOF in this group.

Conclusion

Thus, it is shown that a number of allelic variants of genes of detoxification are associated with the risk of NP and ARDS: *CYP1A1* rs2606345-T / T ($P=0.0027$, OR=2.38, 95% CI: 1.35–4.17), *AhR* rs2066853 G / AA / A and *AGT* rs699 C / C *AhR* rs2066853-G / AA / A ($P=0.0012$, OR=2.94, 95% CI: 1.54–5.60). The combination of two or more risk alleles in the gene *CYP1A1*, *AhR*, *ACE*, *AGT* and *AGTR1* the same patient increases the risk of NP ($P=0.017$, OR=2.04, 95% CI 1.16–3.57). Increasing the number of risk alleles up to four and more in NP patients is associated with the risk of ARDS ($P=0.0012$, OR=2.56, 95% CI 1.46–4.49). The identified association is very important for understanding the ways and mechanisms of NP and ARDS, predicting disease outcome, especially if in the future the results of these genetic studies will be used for a personalized approach to the treatment of patients.

References

1. Yoon Y.S. Respiratory review of 2012: pneumonia. *Tuberc. Respir. Dis. (Seoul)*. 2012; 73 (2): 77–83. <http://dx.doi.org/10.4046/trd.2012.73.2.77>. PMID: 23166539
2. Schuetz P., Batschwaroff M., Dusemund F., Albrich W., Bürgi U., Maurer M., Brutsche M., Huber A.R., Müller B. Effectiveness of a procalcitonin algorithm to guide antibiotic therapy in respiratory tract infections outside of study conditions: a post-study survey. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2010; 29 (3): 269–277. <http://dx.doi.org/10.1007/s10096-009-0851-0>. PMID: 20039090
3. Moroz V.V., Smelaya T.V., Golubev A.M., Sahnikova L.E. Genetika i meditsina kriticheskikh sostoyanii: ot teorii k praktike. *Obshchaya Reanimatologiya*. [Genetics and medicine of critical conditions: from theory to practice. *General Reanimatology*]. 2012; 8 (4): 5–12. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2012-4-5>. [In Russ.]
4. Determann R.M., Royakkers A., Wolthuis E.K., Vlaar A.P., Choi G., Paulus F., Hofstra J.J., de Graaff M.J., Korevaar J.C., Schultz M.J. Ventilation with lower tidal volumes as compared with conventional tidal volumes for patients without acute lung injury: a preventive randomized controlled trial. *Crit. Care*. 2010; 14 (1): R1. <http://dx.doi.org/10.1186/cc8230>. PMID: 20055989
5. Copland I.B., Post M. Understanding the mechanisms of infant respiratory distress and chronic lung disease. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2002; 26 (3): 261–265. <http://dx.doi.org/10.1165/ajrcmb.26.3.f231>. PMID: 11867331
6. Baranov V.S., Glotov O.S., Baranova E.V. Genomika starenia i prediktivnaya meditsina. [Genomic of aging and predictive medicine]. *Uspekhi Gerontologii*. 2010; 23 (3): 329–338. PMID: 21137201. [In Russ.]
7. van de Vosse E., van Dissel J.T., Ottenhoff T.H. Genetic deficiencies of innate immune signalling in human infectious disease. *Lancet Infect. Dis.* 2009; 9 (11): 688–698. [http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(09\)70255-5](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(09)70255-5). PMID: 19850227
8. Brownson R.C., Dodson E.A., Stamatakis K.A., Casey C.M., Elliott M.B., Luke D.A., Wintrobe C.G., Kreuter M.W. Communicating evidence-based information on cancer prevention to state-level policy makers. *J. Natl. Cancer Inst.* 2011; 103 (4): 306–316. <http://dx.doi.org/10.1093/jnci/djq529>. PMID: 21212381
9. Davies P.D., Yew W.W., Ganguly D., Davidow A.L., Reichman L.B., Dheda K., Rook G.A. Smoking and tuberculosis: the epidemiological association and immunopathogenesis. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 2006; 100

10. Angus D.C., Burgner D., Wunderink R., Mira J.P., Gerlach H., Wiedermann C.J., Vincent J.L. The PIRO concept: P is for predisposition. *Crit. Care.* 2003; 7 (3): 248–251. PMID: 12793879
11. Mandell L.A., Wunderink R.G., Anzueto A., Bartlett J.G., Campbell G.D., Dean N.C., Dowell S.F., File T.M.Jr., Musher D.M., Niederman M.S., Torres A., Whitney C.G.; Infectious Diseases Society of America; American Thoracic Society. Infectious Diseases Society of America/American Thoracic Society consensus guidelines on the management of community-acquired pneumonia in adults. *Clin. Infect. Dis.* 2007; 44 Suppl 2: S27–S72. <http://dx.doi.org/10.1086/511159>. PMID: 17278083
12. Назаренко Г.И., Клейменова Е.Б., Гущина Н.Н. Изучение генетических маркеров и традиционных факторов риска развития ишемической болезни сердца. *Рос. мед. вестн.* 2009; 14 (1): 47–54.
13. Christie D., Shofer J., Millard S.P., Li E., Demichele-Sweet M.A., Weamer E.A., Kamboh M.I., Lopez O.L., Sweet R.A., Tsuang D. Genetic association between APOE*4 and neuropsychiatric symptoms in patients with probable Alzheimer's disease is dependent on the psychosis phenotype. *Behav. Brain Funct.* 2012; 8: 62. <http://dx.doi.org/0.1186/1744-9081-8-62>. PMID: 23270420
14. Salnikova L.E., Smelaya T.V., Moroz V.V., Golubev A.M., Rubanovich A.V. Host genetic risk factors for community-acquired pneumonia. *Gene.* 2013; 518 (2): 449–456. <http://dx.doi.org/10.1016/j.gene.2012.10.027>. PMID: 23107763
15. Salnikova L.E., Smelaya T.V., Moroz V.V., Golubev A.M., Rubanovich A.V. Functional polymorphisms in the CYP1A1, ACE, and IL-6 genes contribute to susceptibility to community-acquired and nosocomial pneumonia. *Int. J. Infect. Dis.* 2013; 17 (6): e433–e442. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijid.2013.01.005>. PMID: 23411129
16. Мороз В.В., Голубев А.М. Принципы диагностики ранних проявлений острого повреждения легких. *Общая реаниматология.* 2006; 2 (4): 5–7. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2006-4>
17. Rambaldi D., Pece S., Di Fiore P.P. Bioconductor package to estimate proliferation in cell-tracking dye studies. *Bioinformatics.* 2014; 30 (14): 2060–2065. <http://dx.doi.org/10.1093/bioinformatics/btu127>. PMID: 24681909
18. Hamajima N. PCR–CTPP: a new genotyping technique in the era of genetic epidemiology. *Expert Rev. Mol. Diagn.* 2001; 1 (1): 119–123. PMID: 11901796
19. winSTAT.com 2003.1
20. Sole X., Guino E., Valls J., Iniesta R., Moreno V. SNPStats: a web tool for the analysis of association studies. *Bioinformatics.* 2006; 22 (15): 1928–1929. <http://dx.doi.org/10.1093/bioinformatics/btl268>. PMID: 16720584
21. Benjamini Y., Yekutieli D. Quantitative trait Loci analysis using the false discovery rate. *Genetics.* 2005; 171 (2): 783–790. <http://dx.doi.org/10.1534/genetics.104.036699>. PMID: 15956674
22. Storey J.D., Tibshirani R. Statistical significance for genomewide studies. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2003; 100 (16): 9440–9445. PMID: <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1530509100>. 12883005
23. Abramson J.H. WINPEPI updated: computer programs for epidemiologists, and their teaching potential. *Epidemiol. Perspect. Innov.* 2011; 8 (1): 1. <http://dx.doi.org/10.1186/1742-5573-8-1>. PMID: 21288353
24. Jiang W., Welty S.E., Courouclis X.I., Barrios R., Kondraganti S.R., Muthiah K., Yu L., Avery S.E., Moorthy B. Disruption of the Ah receptor gene alters the susceptibility of mice to oxygen-mediated regulation of pulmonary and hepatic cytochromes P4501A expression and exacerbates hyperoxic lung injury. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2004; 310 (2): 512–519. <http://dx.doi.org/10.1124/jpet.103.059766>. PMID: 15123765
25. Jiang W., Courouclis X.I., Wang L., Barrios R., Moorthy B. Augmented oxygen-mediated transcriptional activation of cytochrome P450 (CYP)1A expression and increased susceptibilities to hyperoxic lung injury in transgenic mice carrying the human CYP1A1 or mouse 1A2 promoter *in vivo*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2011; 407 (1): 79–85. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbrc.2011.02.113>. PMID: 21362406
26. Rotunno M., Yu K., Lubin J.H., Consonni D., Pesatori A.C., Goldstein A.M., Goldin L.R., Wacholder S., Welch R., Burdette L., Chanock S.J., Bertazzi P.A., Tucker M.A., Caporaso N.E., Chatterjee N., Bergen A.W., Landi M.T. Phase I metabolic genes and risk of lung cancer: multiple polymorphisms and mRNA expression. *PLoS One.* 2009; 4 (5): e5652. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0005652>. PMID: 19479063
27. Wang S., Chanock S., Tang D., Li Z., Jedrychowski W., Perera F.P. Assessment of interactions between PAH exposure and genetic polymorphisms on PAH-DNA adducts in African American, Dominican and Caucasian mothers and newborns. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2008; 17 (2): 405–413. <http://dx.doi.org/10.1158/1055-9965>. PMID: 18268125
28. Колесникова Л.И., Баирова Т.А., Перушина О.А. Гены ферментов антиоксидантной системы. *Вестник РАМН.* 2013; 12: 83–88. PMID: 24741948
29. Smart C.D., Mayton H., Mizubuti E.S., Willmann M.R., Fry W.E. Environmental and genetic factors influencing self-fertility in *Phytophthora infestans*. *Phytopathology.* 2000; 90 (9): 987–994. <http://dx.doi.org/10.1094/PHYTO.2000.90.9.987>. PMID: 18944524
- (4): 291–298. <http://dx.doi.org/10.1016/j.trstmh.2005.06.034>. PMID: 16325875
10. Angus D.C., Burgner D., Wunderink R., Mira J.P., Gerlach H., Wiedermann C.J., Vincent J.L. The PIRO concept: P is for predisposition. *Crit. Care.* 2003; 7 (3): 248–251. PMID: 12793879
11. Mandell L.A., Wunderink R.G., Anzueto A., Bartlett J.G., Campbell G.D., Dean N.C., Dowell S.F., File T.M.Jr., Musher D.M., Niederman M.S., Torres A., Whitney C.G.; Infectious Diseases Society of America; American Thoracic Society. Infectious Diseases Society of America/American Thoracic Society consensus guidelines on the management of community-acquired pneumonia in adults. *Clin. Infect. Dis.* 2007; 44 Suppl 2: S27–S72. <http://dx.doi.org/10.1086/511159>. PMID: 17278083
12. Nazarenko G.I., Kleimenova E.B., Gushchina N.N. Uzuchenie genicheskikh markerov i traditsionnykh faktorov riska razvitiya ishemicheskoi bolezni serdtsa. [The study of genetic markers and traditional risk factors for coronary heart disease]. *Rossiiskie Meditsinskie Vesti.* 2009; 14 (1): 47–54. [In Russ.]
13. Christie D., Shofer J., Millard S.P., Li E., Demichele-Sweet M.A., Weamer E.A., Kamboh M.I., Lopez O.L., Sweet R.A., Tsuang D. Genetic association between APOE*4 and neuropsychiatric symptoms in patients with probable Alzheimer's disease is dependent on the psychosis phenotype. *Behav. Brain Funct.* 2012; 8: 62. <http://dx.doi.org/0.1186/1744-9081-8-62>. PMID: 23270420
14. Salnikova L.E., Smelaya T.V., Moroz V.V., Golubev A.M., Rubanovich A.V. Host genetic risk factors for community-acquired pneumonia. *Gene.* 2013; 518 (2): 449–456. <http://dx.doi.org/10.1016/j.gene.2012.10.027>. PMID: 23107763
15. Salnikova L.E., Smelaya T.V., Moroz V.V., Golubev A.M., Rubanovich A.V. Functional polymorphisms in the CYP1A1, ACE, and IL-6 genes contribute to susceptibility to community-acquired and nosocomial pneumonia. *Int. J. Infect. Dis.* 2013; 17 (6): e433–e442. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijid.2013.01.005>. PMID: 23411129
16. Moroz V.V., Golubev A.M. Printsipy diagnostiki rannikh proyavlenii ostrogo povrezhdeniya legkikh. *Obshchaya Reanimatologiya.* 2006; 2 (4): 5–7. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2006-4>. [In Russ.]
17. Rambaldi D., Pece S., Di Fiore P.P. Bioconductor package to estimate proliferation in cell-tracking dye studies. *Bioinformatics.* 2014; 30 (14): 2060–2065. <http://dx.doi.org/10.1093/bioinformatics/btu127>. PMID: 24681909
18. Hamajima N. PCR–CTPP: a new genotyping technique in the era of genetic epidemiology. *Expert Rev. Mol. Diagn.* 2001; 1 (1): 119–123. PMID: 11901796
19. winSTAT.com 2003.1
20. Sole X., Guino E., Valls J., Iniesta R., Moreno V. SNPStats: a web tool for the analysis of association studies. *Bioinformatics.* 2006; 22 (15): 1928–1929. <http://dx.doi.org/10.1093/bioinformatics/btl268>. PMID: 16720584
21. Benjamini Y., Yekutieli D. Quantitative trait Loci analysis using the false discovery rate. *Genetics.* 2005; 171 (2): 783–790. <http://dx.doi.org/10.1534/genetics.104.036699>. PMID: 15956674
22. Storey J.D., Tibshirani R. Statistical significance for genomewide studies. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2003; 100 (16): 9440–9445. PMID: <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1530509100>. 12883005
23. Abramson J.H. WINPEPI updated: computer programs for epidemiologists, and their teaching potential. *Epidemiol. Perspect. Innov.* 2011; 8 (1): 1. <http://dx.doi.org/10.1186/1742-5573-8-1>. PMID: 21288353
24. Jiang W., Welty S.E., Courouclis X.I., Barrios R., Kondraganti S.R., Muthiah K., Yu L., Avery S.E., Moorthy B. Disruption of the Ah receptor gene alters the susceptibility of mice to oxygen-mediated regulation of pulmonary and hepatic cytochromes P4501A expression and exacerbates hyperoxic lung injury. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2004; 310 (2): 512–519. <http://dx.doi.org/10.1124/jpet.103.059766>. PMID: 15123765
25. Jiang W., Courouclis X.I., Wang L., Barrios R., Moorthy B. Augmented oxygen-mediated transcriptional activation of cytochrome P450 (CYP)1A expression and increased susceptibilities to hyperoxic lung injury in transgenic mice carrying the human CYP1A1 or mouse 1A2 promoter *in vivo*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2011; 407 (1): 79–85. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbrc.2011.02.113>. PMID: 21362406
26. Rotunno M., Yu K., Lubin J.H., Consonni D., Pesatori A.C., Goldstein A.M., Goldin L.R., Wacholder S., Welch R., Burdette L., Chanock S.J., Bertazzi P.A., Tucker M.A., Caporaso N.E., Chatterjee N., Bergen A.W., Landi M.T. Phase I metabolic genes and risk of lung cancer: multiple polymorphisms and mRNA expression. *PLoS One.* 2009; 4 (5): e5652. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0005652>. PMID: 19479063
27. Wang S., Chanock S., Tang D., Li Z., Jedrychowski W., Perera F.P. Assessment of interactions between PAH exposure and genetic polymorphisms on PAH-DNA adducts in African American, Dominican and Caucasian mothers and newborns. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2008; 17 (2): 405–413. <http://dx.doi.org/10.1158/1055-9965>. PMID: 18268125
28. Колесникова Л.И., Баирова Т.А., Перушина О.А. Гены ферментов антиоксидантной системы. *Вестник РАМН.* 2013; 12: 83–88. PMID: 24741948
29. Smart C.D., Mayton H., Mizubuti E.S., Willmann M.R., Fry W.E. Environmental and genetic factors influencing self-fertility in *Phytophthora infestans*. *Phytopathology.* 2000; 90 (9): 987–994. <http://dx.doi.org/10.1094/PHYTO.2000.90.9.987>. PMID: 18944524

Pneumonia. Acute Respiratory Distress Syndrome

30. Zhang B., Beeghly-Fadiel A., Lu W., Cai Q., Xiang Y.B., Zheng Y., Long J., Ye C., Gu K., Shu X.O., Gao Y., Zheng W. Evaluation of functional genetic variants for breast cancer risk: results from the Shanghai breast cancer study. *Am. J. Epidemiol.* 2011; 173 (10): 1159–1170. <http://dx.doi.org/10.1093/aje/kwr004>. PMID: 21454829
31. Denison M.S., Nagy S.R. Activation of the aryl hydrocarbon receptor by structurally diverse exogenous and endogenous chemicals. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 2003; 43: 309–334. PMID: 12540743
32. Busbee P.B., Rouse M., Nagarkatti M., Nagarkatti P.S. Use of natural AhR ligands as potential therapeutic modalities against inflammatory disorders. *Nutr. Rev.* 2013; 71 (6): 353–369. <http://dx.doi.org/10.1111/nure.12024>. PMID: 23731446
33. Stockinger B. Beyond toxicity: aryl hydrocarbon receptor-mediated functions in the immune system. *J. Biol.* 2009; 8 (7): 61. <http://dx.doi.org/10.1186/jbiol170>. PMID: 19691822
34. Rohlman D., Pham D., Yu Z., Steppan L.B., Kerkliet N.I. Aryl hydrocarbon receptor-mediated perturbations in gene expression during early stages of CD4(+) T-cell differentiation. *Front. Immunol.* 2012; 6 (3): 223. <http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2012.00223>. PMID: 22888330
35. Esser C., Rannug A. The aryl hydrocarbon receptor in barrier organ physiology, immunology, and toxicology. *Pharmacol. Rev.* 2015; 67 (2): 259–279. <http://dx.doi.org/10.1124/pr.114.009001>. PMID: 25657351
36. Gradman E.H. Evolving understanding of the renin-angiotensin-aldosterone system: pathophysiology and targets for therapeutic intervention. *Am. Heart J.* 2009; 157: S1–S6.
37. Rajagopalan S., Kurz S., Munzel T., Tarpey M., Freeman B.A., Griendling K.K., Harrison D.G. Angiotensin II-mediated hypertension in the rat increases vascular superoxide production via membrane NADH/NADPH oxidase activation. Contribution to alterations of vasomotor tone. *J. Clin. Invest.* 1996; 97 (8): 1916–1923. PMID: 8621776
38. Manzanares W., Dhaliwal R., Jiang X., Murch L., Heyland D.K. Antioxidant micronutrients in the critically ill: a systematic review and meta-analysis. *Crit. Care.* 2012; 16 (2): R66. <http://dx.doi.org/10.1186/cc11316>. PMID: 22534505
39. Zhou M.S., Schulman I.H., Raji L. Nitric oxide, angiotensin II, and hypertension. *Semin. Nephrol.* 2004; 24 (4): 366–378. PMID: 15252776
40. Ho R.H., Kim R.B. Transporters and drug therapy: implications for drug disposition and disease. *Clin. Pharmacol. Ther.* 2005; 78 (3): 260–277. PMID: 16153397
41. Zhou S.F. Structure, function and regulation of P-glycoprotein and its clinical relevance in drug disposition. *Xenobiotica.* 2008; 38 (7–8): 802–832. <http://dx.doi.org/10.1080/00498250701867889>. PMID: 18668431
42. Weng L., Macciardi F., Subramanian A., Guffanti G., Potkin S.G., Yu Z., Xie X. SNP-based pathway enrichment analysis for genome-wide association studies. *BMC Bioinformatics.* 2011; 12: 99. <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2105-12-99>. PMID: 21496265
43. Braun R., Buettow K. Pathways of distinction analysis: a new technique for multi-SNP analysis of GWAS data. *PLoS Genet.* 2011; 7 (6): e1002101. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pgen.1002101>. PMID: 21695280
44. Orfanos S.E., Armaganidis A., Glynos C., Psevd E., Kaltsas P., Sarafidou P., Catravas J.D., Dafni U.G., Langleben D., Roussos C. Pulmonary capillary endothelium-bound angiotensin-converting enzyme activity in acute lung injury. *Circulation.* 2000; 102 (16): 2011–2018. <http://dx.doi.org/10.1161/01.CIR.102.16.2011>. PMID: 11034953
45. Мороз В.В., Голубев А.М., Кузовлев А.Н., Писарев В.М., Половников С.Г., Шабанов А.К., Голубев М.А. Сурфактантный белок А (SP-A) — прогностический молекулярный биомаркер при остром респираторном дистресс-синдроме. *Общая реаниматология.* 2013; 9 (3): 5–13. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-3-5>
46. Мороз В.В., Голубев А.М., Кузовлев А.Н., Писарев В.М. Новые диагностические кандидатные молекулярные биомаркеры острого респираторного дистресс-синдрома. *Общая реаниматология.* 2014; 10 (4): 6–10. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2014-4-6-10>
47. Мороз В.В., Голубев А.М., Кузовлев А.Н., Шабанов А.К., Писарев В.М. Белок клеток Клара (Club cell protein) — новый диагностический кандидатный молекулярный биомаркер при нозокомальной пневмонии. *Общая реаниматология.* 2014; 10 (6): 6–14. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2014-6-6-14>
29. Smart C.D., Mayton H., Mizubuti E.S., Willmann M.R., Fry W.E. Environmental and genetic factors influencing self-fertility in *Phytophthora infestans*. *Phytopathology.* 2000; 90 (9): 987–994. <http://dx.doi.org/10.1094/PHYTO.2000.90.9.987>. PMID: 18944524
30. Zhang B., Beeghly-Fadiel A., Lu W., Cai Q., Xiang Y.B., Zheng Y., Long J., Ye C., Gu K., Shu X.O., Gao Y., Zheng W. Evaluation of functional genetic variants for breast cancer risk: results from the Shanghai breast cancer study. *Am. J. Epidemiol.* 2011; 173 (10): 1159–1170. <http://dx.doi.org/10.1093/aje/kwr004>. PMID: 21454829
31. Denison M.S., Nagy S.R. Activation of the aryl hydrocarbon receptor by structurally diverse exogenous and endogenous chemicals. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 2003; 43: 309–334. PMID: 12540743
32. Busbee P.B., Rouse M., Nagarkatti M., Nagarkatti P.S. Use of natural AhR ligands as potential therapeutic modalities against inflammatory disorders. *Nutr. Rev.* 2013; 71 (6): 353–369. <http://dx.doi.org/10.1111/nure.12024>. PMID: 23731446
33. Stockinger B. Beyond toxicity: aryl hydrocarbon receptor-mediated functions in the immune system. *J. Biol.* 2009; 8 (7): 61. <http://dx.doi.org/10.1186/jbiol170>. PMID: 19691822
34. Rohlman D., Pham D., Yu Z., Steppan L.B., Kerkliet N.I. Aryl hydrocarbon receptor-mediated perturbations in gene expression during early stages of CD4(+) T-cell differentiation. *Front. Immunol.* 2012; 6 (3): 223. <http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2012.00223>. PMID: 22888330
35. Esser C., Rannug A. The aryl hydrocarbon receptor in barrier organ physiology, immunology, and toxicology. *Pharmacol. Rev.* 2015; 67 (2): 259–279. <http://dx.doi.org/10.1124/pr.114.009001>. PMID: 25657351
36. Gradman E.H. Evolving understanding of the renin-angiotensin-aldosterone system: pathophysiology and targets for therapeutic intervention. *Am. Heart J.* 2009; 157: S1–S6.
37. Rajagopalan S., Kurz S., Munzel T., Tarpey M., Freeman B.A., Griendling K.K., Harrison D.G. Angiotensin II-mediated hypertension in the rat increases vascular superoxide production via membrane NADH/NADPH oxidase activation. Contribution to alterations of vasomotor tone. *J. Clin. Invest.* 1996; 97 (8): 1916–1923. PMID: 8621776
38. Manzanares W., Dhaliwal R., Jiang X., Murch L., Heyland D.K. Antioxidant micronutrients in the critically ill: a systematic review and meta-analysis. *Crit. Care.* 2012; 16 (2): R66. <http://dx.doi.org/10.1186/cc11316>. PMID: 22534505
39. Zhou M.S., Schulman I.H., Raji L. Nitric oxide, angiotensin II, and hypertension. *Semin. Nephrol.* 2004; 24 (4): 366–378. PMID: 15252776
40. Ho R.H., Kim R.B. Transporters and drug therapy: implications for drug disposition and disease. *Clin. Pharmacol. Ther.* 2005; 78 (3): 260–277. PMID: 16153397
41. Zhou S.F. Structure, function and regulation of P-glycoprotein and its clinical relevance in drug disposition. *Xenobiotica.* 2008; 38 (7–8): 802–832. <http://dx.doi.org/10.1080/00498250701867889>. PMID: 18668431
42. Weng L., Macciardi F., Subramanian A., Guffanti G., Potkin S.G., Yu Z., Xie X. SNP-based pathway enrichment analysis for genome-wide association studies. *BMC Bioinformatics.* 2011; 12: 99. <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2105-12-99>. PMID: 21496265
43. Braun R., Buettow K. Pathways of distinction analysis: a new technique for multi-SNP analysis of GWAS data. *PLoS Genet.* 2011; 7 (6): e1002101. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pgen.1002101>. PMID: 21695280
44. Orfanos S.E., Armaganidis A., Glynos C., Psevd E., Kaltsas P., Sarafidou P., Catravas J.D., Dafni U.G., Langleben D., Roussos C. Pulmonary capillary endothelium-bound angiotensin-converting enzyme activity in acute lung injury. *Circulation.* 2000; 102 (16): 2011–2018. <http://dx.doi.org/10.1161/01.CIR.102.16.2011>. PMID: 11034953
45. Moroz V.V., Golubev A.M., Kuzovlev A.N., Pisarev V.M., Polovnikov S.G., Shabanov A.K., Golubev M.A. Surfactant protein A (SP-A) — prognostic molecular biomarker in acute respiratory distress syndrome. *Obshchaya Reanimatologiya.* [Surfactant protein A (SP-A) is a prognostic molecular biomarker in acute respiratory distress syndrome. *General Reanimatology.*] 2013; 9 (3): 5–13. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-3-5>. [In Russ.]
46. Moroz V.V., Golubev A.M., Kuzovlev A.N., Pisarev V.M. Novye diagnosticheskie kandidatnye molekulyarnye biomarkery ostrogo respiratornogo distress-sindroma. *Obshchaya Reanimatologiya.* [New diagnostic candidate molecular biomarkers of acute respiratory distress syndrome. *General Reanimatology.*] 2014; 10 (4): 6–10. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2014-4-6-10>. [In Russ.]
47. Moroz V.V., Golubev A.M., Kuzovlev A.N., Shabanov A.K., Pisarev V.M. Belok kletok Klara (Club cell protein) — novyi diagnostichesky kandidatnyi molekulyarnyi biomarker pri nozokomialnoi pnevmonii. *Obshchaya Reanimatologiya.* [Clara cell protein (Club cell protein) is a new diagnostic molecular candidate biomarker in nosocomial pneumonia. *General Reanimatology.*] 2014; 10 (6): 6–14. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2014-6-6-14>. [In Russ.]

Поступила 12.01.2015

Submitted 12.01.15

ИЗМЕРЕНИЕ УПРУГО-ЭЛАСТИЧНЫХ СВОЙСТВ МЕМБРАНЫ НАТИВНЫХ ЭРИТРОЦИТОВ *IN VITRO*

В. А. Сергунова¹, Е. К. Козлова², Е. А. Мягкова¹, А. М. Черныш¹

¹ НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского, Москва
Россия, 107031, Москва, ул. Петровка, д. 25, стр. 2

² Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова Минздрава России
Россия, 119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

In Vitro Measurement of the Elastic Properties of the Native Red Blood Cell Membrane

V. A. Sergunova¹, E. K. Kozlova², E. A. Myagkova¹, A. M. Chernysh¹

¹ V. A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology, Moscow
25, Petrovka St., Build. 2, Moscow 107031, Russia

² I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation
8, Trubetskaya St., Build. 2, Moscow 119991, Russia

Цель исследования. Выработать методику получения изображений нативных клеток в физиологической среде, измерить локальную жесткость фиксированных мембран эритроцитов в жидкости в опытах *in vitro*. **Материал и методы.** Забор крови производили у четырех здоровых доноров в процессе профилактических осмотров. Кровь помещали в микроветты с ЭДТА. Эритроциты фиксировали в среде буферного раствора на подложку с покрытием полилизина. Изображение клеток получали с помощью АСМ NTEGRA Prima, (NT-MDT, РФ). Жесткость мембран оценивали с помощью метода атомно-силовой спектроскопии. **Результаты.** Получены значения эффективного модуля Юнга для статистической выборки фиксированных мембран эритроцитов. При действии верапамила на кровь модуль Юнга был равен 528 ± 21 кПа. При действии на кровь ионов тяжелых металлов средняя локальная жесткость высушенной мембраны была увеличена до 942 ± 56 на глубине 35 нм. **Выводы.** Измерения силовых характеристик эритроцитов в жидкости позволяют получать воспроизводимые результаты исследований упруго-эластичных свойств мембран. С помощью метода атомной силовой микроскопии и атомно-силовой спектроскопии можно анализировать свойства живой клетки в физиологической среде. **Ключевые слова:** мембраны, нативные клетки, упруго-эластичные свойства, атомно-силовая спектроскопия.

Objective: to develop a procedure to image native cells in a physiological medium and to measure the local stiffness of fixed red blood cell membranes in liquid *in vitro* experiments. **Material and methods.** Blood was taken from 4 healthy donors during prophylactic examinations and placed in EDTA-containing Microvette tubes. The red blood cells were fixed in buffer solution onto a polylysine-coated substrate. Cell images were obtained using an ACM NTEGRA Prima microscope (NT-MDT, the Russian Federation). Membrane stiffness was estimated by atomic force spectroscopy. **Results.** The values of effective Young's modulus were obtained for a statistical sample of fixed red blood cell membranes. Under the action of verapamil on blood, Young's modulus was equal to 528 ± 21 kPa. Under the action of heavy metal ions on blood, the mean local stiffness of the dried membrane was increased up to 942 ± 56 at a depth of 35 nm. **Conclusion.** The measurements of the force characteristics of red blood cells in liquid can yield reproducible results of examining the elastic properties of the membranes. Atomic force microscopy and atomic force spectroscopy can be employed analyze the properties of a live cell in the physiological medium. **Key words:** membranes, elastic properties, atomic force spectroscopy, erythrocytes.

DOI:10.15360/1813-9779-2015-3-39-44

Введение

Одной из важных задач реаниматологии является определение упруго-эластичных свойств эритроцитов при критических состояниях. Эти свойства обеспечивают эффективность транспорта клеток в системе сосудов микроциркуляции и оксигенацию тканей. Для ис-

Introduction

One of the important problems of reanimatology is determining the elasticity patterns of erythrocytes in critical illness. These properties ensure efficient cell transfer in vascular microcirculation and effective tissue oxygenation. Different techniques are used to investigate the deforma-

Адрес для корреспонденции:

Виктория Сергунова
E-mail: orbf@mail.ru

Correspondence to:

Victoria Sergunova
E-mail: orbf@mail.ru

следования деформируемости эритроцитов используют разные методы: фильтрацию через поры с диаметрами около 5 мкм, методы лазерной дифрактометрии [1]. Однако это косвенные методы изучения деформируемости эритроцитов. Прямым методом изучения упруго-эластичных свойств эритроцитов является атомно-силовая спектроскопия (АСС) [2]. Атомная силовая микроскопия (АСМ) и АСС позволяют непосредственно наблюдать биологические объекты в реальном времени и изучать их механические свойства. При этом АСМ обеспечивает получение изображений поверхности мембран в нанодиапазоне [3, 4], а АСС позволяет исследовать деформируемость и жесткость биологических объектов [5, 6], в том числе мембран клеток и их фрагментов [7, 8].

Оба эти метода реализуются с помощью атомно-силового микроскопа (АСМ) на одной аппаратуре и на одних и тех же образцах. Измерение жесткости проводится после получения изображений мембран или их фрагментов в поле АСМ [9]. На выбранные участки измерения жесткости действуют зондом с заданной силой. По деформации биологической структуры делается заключение о жесткости материала и его механических свойствах. Деформируемость и жесткость мембран эритроцитов меняется при заболеваниях — при сахарном диабете, ишемии миокарда, гипертонии [10, 11], у больных с онкологическими заболеваниями [12, 13]. Изучение нативных биологических объектов на АСМ в жидкости представляет собой технически и методически сложное направление [14, 15], поскольку живые клетки — мягкие объекты, которые плавают в растворе. Для проведения исследований их необходимо зафиксировать на подложке и сформировать монослой [16].

АСМ и АСС расширяет возможности получения информации об эритроцитах, потому что оба метода пригодны для исследования характеристик живых клеток в буфере на наноразмерном уровне.

Цель работы — разработать методику получения изображений нативных клеток в жидкой среде, измерить локальную жесткость мембран эритроцитов при различных условиях в жидкости в опытах *in vitro*.

Материал и методы

Забор крови производили у четырех здоровых доноров. В соответствии с требованиями этического комитета НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского было получено согласие всех доноров на проведение исследований. Кровь в объеме 200 мкл помещали в микроветты с ЭДТА (Sarstedt AG and Co., Germany).

Цельную кровь разделяли на плазму и эритроциты с помощью центрифугирования (центрифуга «Hettich Mikro 220R» (Германия) в течение 10 минут, 1000 об/мин). Надосадочную жидкость, содержащую плазму, удаляли и к эритроцитам добавляли раствор буфера (фосфатно-солевой буфер (PBS, pH 7,4) для восстановления исходного объема.

Для стабилизации мембраны в приготовленную суспензию добавляли 100 мкл 1% глутарового альдегида и инкубировали в течение 30 минут, после чего эритроциты отмывали дистиллированной водой. В отмывые эритроциты добавляли

ability of erythrocytes: filtration through pores with diameters of about 5 micron, methods of laser diffraction [1]. However, all of this are indirect methods for studying the deformability of red blood cells. Direct method to study the elasticity of erythrocyte membrane is an atomic force spectroscopy (AFS) [2]. Atomic force microscopy (AFM) and AFC allows both direct observing the biological objects in real time and determining their mechanical properties.

AFM allows to obtain images of the membranes surface in the nano range [3, 4]. AFS allows to investigate the deformability and rigidity of biological objects [5, 6] including cell membranes and its fragments [7, 8].

Both of these methods are realized using atomic force microscopes (AFM) on the same equipment and on the same samples. Measurement of rigidity in the AFM field is conducted following acquisition of images of the membranes or their fragments by AFM [9]. Probe with a given force affects the selected areas of interest to determine local rigidity. Deformation of biological structures is informative for a rigidity determining of the material and evaluating the mechanical properties of the object. Deformability of erythrocyte membranes and rigidity are changing in various diseases including diabetes, myocardial ischemia, hypertension [10, 11], cancer [12, 13].

Studying native biological objects in fluid with AFM is technically complicated [14, 15] since living cells represent soft objects that float in the solution. For research purposes it is necessary to fix them on the substrate and use a cell monolayer [16]. Therefore, the AFM and AFC expand possibilities of gathering information about erythrocytes making possible to study membrane properties of living cells in the buffer at the nanoscale

The goal of the study was developing a technique for obtaining images of native cells in a physiological environment, to measure the local rigidity of the erythrocytes membranes in fluid in experiment *in vitro*.

Materials and Methods

Blood samples were harvested from four healthy donors following obtaining the informed consent from each donor in accordance to requirements of the Ethics Committee of the V. A. Negovsky Institute of General Reanimatology. Blood was placed in microvetty with EDTA (Sarstedt AG and Co., Germany). Whole blood was divided to plasma and erythrocytes by centrifugation for 10 min at 1000 rpm (centrifuge «Hettich Mikro 220R», Germany). Supernatant containing plasma was discarded and the original volume was restored with phosphate buffered saline (PBS, pH 7,4). For erythrocyte membrane 0,1 ml of 1% glutaraldehyde was added for 30 minutes and erythrocytes were centrifuged in the presence of distilled water added.

The resulting slurry was aliquoted onto a glass coated with polylysine (0,5 mg/ml for one hour in a Petri dish followed by drying on air during 2 hours) and allowed to adhere for 10 minutes, then dipped in a 1% glutaraldehyde for 5 seconds to fix the cells to the glass surface. The resulting sample was washed in PBS and scanned by AFM.

Images were acquired by AFM NTEGRA Prima (NT MDT, Russia) in a liquid using an insert (model AU028NTF) with open liquid cell. Scanning was performed in a contact mode. The number of scan points were 512. Rigidity was evaluated by AFC. This

буфер PBS (pH 7,4) в количестве 5 мл. Фиксацию эритроцитов к стеклу в среде буферного раствора, проводили с помощью полилизина. Для этого чистые обезжиренные покровные стекла помещали на 1 час в чашку Петри с раствором полилизина 0,5 мг/мл. После чего высушивали их на воздухе в течение 2 часов.

Полученную суспензию наносили на стекла с полилизинным покрытием и оставляли для адгезии на 10 минут, затем опускали в 1% глутаровый альдегид на 5 секунд для улучшения фиксации клеток к стеклу. Полученный образец промывали в PBS (pH 7,4) и приступали к сканированию данного образца с помощью АСМ.

Для получения изображений с помощью АСМ NTEGRA Prima (NT MDT, Россия) в жидкости использовали измерительный вкладыш модели AU028NTF с открытой жидкостной ячейкой. Сканирование производили в контактном режиме. Число точек сканирования — 512. Жесткость мембраны оценивали с помощью метода атомно-силовой спектроскопии. Метод позволяет измерять величину деформации поверхности мембраны и кантилевера в зависимости от вертикального смещения пьезосканера, на котором помещена мембрана [2].

Для получения изображения и измерения деформации мембраны в буфере использовали кантилеверы типа SD-R150-T3L450B-10. Радиус зонда кантилевера 150 нм, коэффициент упругости 0,15 Н/м.

Измерения локальной жесткости мембраны сухих эритроцитов проводили кантилеверами SD-R150-NCL-10. Радиус зонда кантилевера 150 нм. Коэффициент упругости кантилевера 30 Н/м.

Результаты и обсуждение

Для оценки упруго-эластичных свойств мембраны построили зависимость $F(h)$, где F — сила, h — глубина индентации зонда в мембрану.

Для определения модуля Юнга (E) использовали модель Герца (1), которая описывает деформацию мембраны при действии на нее сферического зонда:

$$F = (4/3)ER^{0.5}h^{3/2} \quad (1),$$

где: F — Сила; E — модуль Юнга мембраны; R — радиус зонда; h — глубина индентации.

По зависимости $F(h)$, можно оценить величину E для разных глубин погружения зонда.

Изображения эритроцитов, полученные в жидкости, и 3D профиль указанной стрелкой клетки, представлены на рис. 1. Диаметр эритроцита 8517 нм, высота 1125 нм, глубина впадины 468 нм.

Изначально АСМ изображения клетки при сканировании в жидкости имеют более низкое пространственное разрешение по сравнению с изображением сухих клеток. Качество полученных изображений эритроцитов в жидкости зависит от образца, от выбора

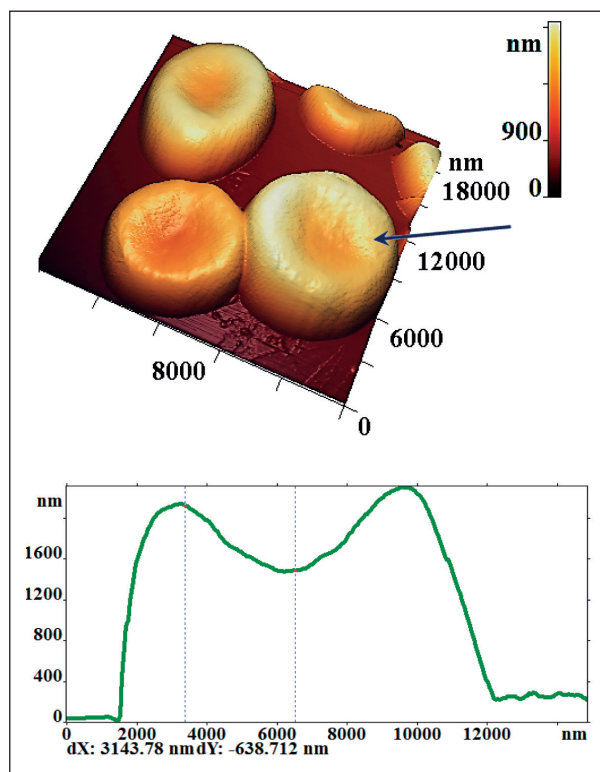


Рис. 1. Изображение нативных эритроцитов в жидкости и профиль эритроцита, указанного стрелкой.

Fig. 1. Image of native erythrocytes in a liquid and the profile of the erythrocyte, indicated by the arrow.

method allows measuring the deformation of the membrane and cantilever depending on the vertical displacement of a piezoscaner, on which the membrane is placed [12]. To acquire images and measure the deformation of the membrane the type SD-R150-T3L450B-10 cantilever was used. The radius of the cantilever probe was 150 nm, coefficient of elasticity was 0.15 N/m.

Measurement of local stiffness of the dry membrane of erythrocytes was performed with cantilevers of SD-R150-NCL-10 type. The radius of the cantilever probe was 150 nm, coefficient of the cantilever elasticity was 30 N/m.

Results and Discussion

For evaluation of elastic properties of the membrane the dependence $F(h)$ was plotted, where F — force, h — depth of probe indentation into the membrane.

Determination of the Young's modulus was performed using the Hertz model (1), which describes the deformation of the membrane under the action of its spherical probe:

Выборка для измерения tg силовой кривой для стекла и мембраны эритроцита в жидкости.
Determining tg of force curve for glass and erythrocyte membrane in liquid microenvironment.

Conditions	Number of donors	Number of samples	Number scans of on sample	Number of studying cells on sample	Number of local measurements on cell	All objects	
						cells	points
Glass		5	3				15
Sample with erythrocytes	4	4	2	5–15	6	120	720

Note (примечание): Conditions — условия; glass — стекло; sample with erythrocytes — образец с эритроцитами; number — число; donors — доноров; samples scans on sample — сканов на образце; studying cells on sample — исследуемых клеток на образце; local measurements on cell — локальных измерений на клетке; all objects — всего объектов; cells — клеток; points — точек.

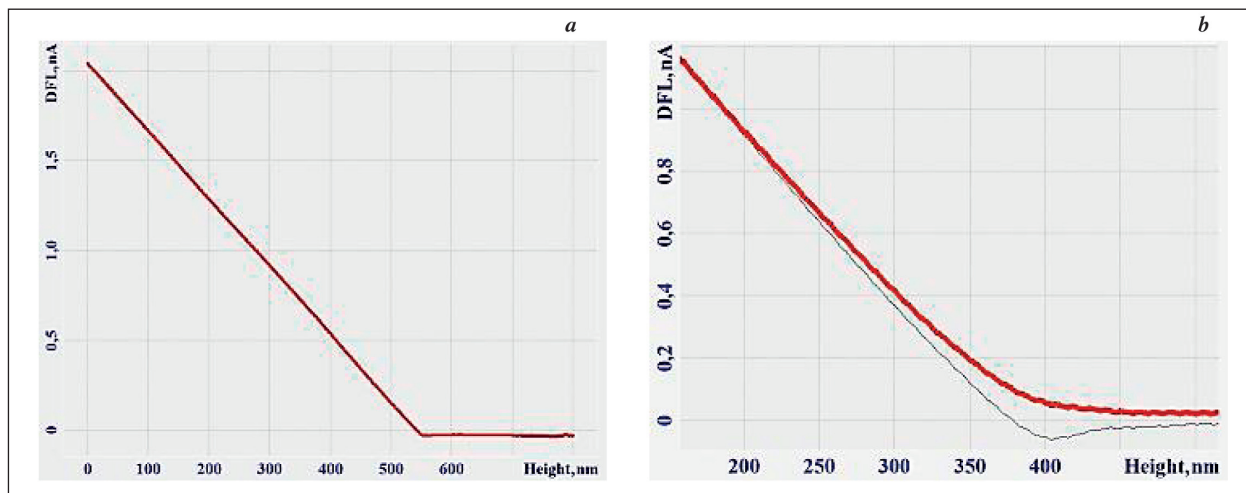


Рис. 2. Кривые измерения жесткости в жидкости: *a* — стекла; *b* — мембраны эритроцита.
Fig. 2. The curves in measurement of rigidity in liquid: glass (*a*) vs. erythrocyte membrane (*b*).

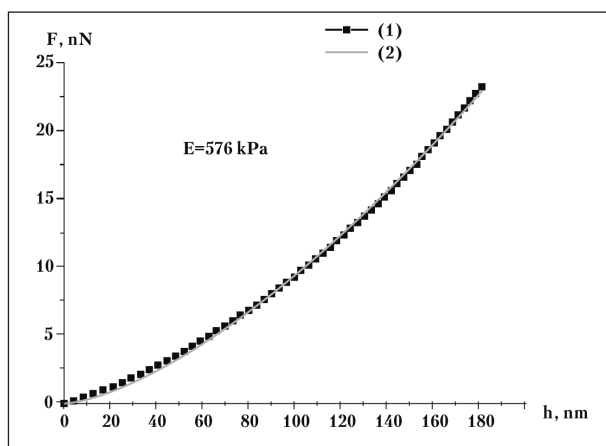


Рис. 3. Эмпирическая зависимость $F(h)$ (1) и теоретическая аппроксимация (2) для мембраны эритроцита в жидкости.
Fig. 3. Empirical relationship $F(h)$ (1) and theoretical approximation (2) for the erythrocyte membrane in the fluid.

Note (примечание): h (depth of indentation probe, nm) — глубина индентации зонда, nm; $F(h)$ (empirical dependence) — эмпирическая зависимость; kPa — кПа; nN — нН (нананьютон).

оптимальных специфических режимов работы АСМ и квалификации исследователя.

На рис. 2 приведены силовые кривые, полученные в жидкости: для стекла ($\text{tg}\varphi = 6$) (рис. 2, *a*), и силовая кривая для мембраны эритроцита ($\text{tg}\varphi = 3,3$) (рис. 2, *b*).

Общее количество измерений локальной жесткости мембраны эритроцита представлено в табл. 1.

Производили преобразование исходной эмпирической функции $I(\Delta Z)$ в зависимость $F(h)$, где ΔZ — подъем пьезосканера (nm); I — ток рассогласования фотодиода (nA); h — глубина индентации зонда (nm).

$$F = K(I_M/I_{ct}) \cdot \Delta Z$$

I_M и I_{ct} — токи рассогласования для мембраны и стекла соответственно.

Полученная эмпирическая зависимость $F(h)$ представлена на рис. 3. Эта эмпирическая зависимость была аппроксимирована теоретической зависимостью (1).

$$F = (4/3)ER^{0.5}h^{3/2} \quad (1)$$

F — force; E — Young's modulus of the membrane; R — probe radius, h the depth of indentation.

We can estimate E for different depths of probe immersion according to the dependence of $F(h)$.

Images of erythrocytes obtained in liquid and the 3D profile of cells are shown in Figure 1. The diameter of the erythrocyte was 8517 nm, height was 1125 nm, the depth was 468 nm.

AFM images of the cells originally scanned in the fluid have a low spatial resolution compared to the images of dry cells. Quality of red blood cells images in a liquid depends on the sample, depends on optimum operating conditions of the AFM and experience of a researcher. Figure 2 (*a*) shows the power curve obtained for the glass in the fluid ($\text{tg}\varphi = 6$), and Figure 3 (*b*) illustrates the power curve for the erythrocyte membrane, ($\text{tg}\varphi = 3.3$).

The total number of local rigidity measurements of the erythrocyte membrane is shown in Table 1.

Original empirical function $I(\Delta Z)$ was converted into dependence $F(h)$, where ΔZ — rises of a piezoscanner (nm), I — differential current of photodiode (nA), h — depth of indentation probe (nm).

$$F = K(I_M/I_{ct}) \cdot \Delta Z$$

I_M и I_{ct} — differential currents for membrane and glass, correspondingly.

The resulting empirical dependence $F(h)$ is shown in Figure 3. These empirical relationships were approximated by theoretical dependence (1).

It was assumed that the mechanical properties of the erythrocyte membrane are uniform. The average values of the Young's modulus of the membrane of red blood cells in the fluid were 310–680 kPa. The specified dispersion was defined as different objects of measurement (cells) and difference of the local properties of the erythrocyte. The Young's modulus on the torus of the cell membrane was 576 kPa (Fig. 1).

Dry erythrocyte membrane is not uniform, and the modulus E for different values of h are different. Empirical

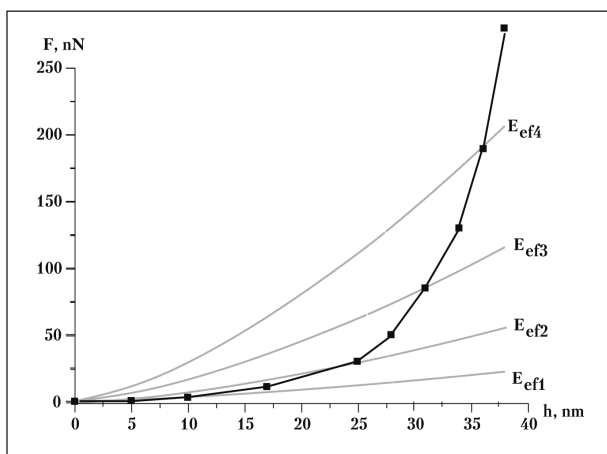


Рис. 4. Эмпирическая зависимость $F(h)$ для мембраны эритроцита высушенного на воздухе; E_{efi} — графики модели (1) для различных значений эффективного модуля Юнга.

Fig. 4. Empirical relationship $F(h)$ for the dry erythrocyte membrane on air; E_{efi} — graphic model (1) for different values of the effective Young's modulus.

Note (примечание): h (depth of indentation probe, nm) — глубина индентации зонда, нм; $F(h)$ (empirical dependence) — эмпирическая зависимость; nN — нН (нананьютон).

При этом предполагается, что механические свойства мембраны эритроцита однородны. Значения модуля Юнга фиксированных мембран нормальных эритроцитов измеренные в жидкости лежали в пределах 310–680 кПа. Указанный разброс определялся как различными объектами (клетками) измерения, так и различием локальных свойств эритроцита. Модуль Юнга на торе мембраны клетки указанной на рис. 1 составил 576 кПа.

Мембрана сухого эритроцита неоднородна, и модуль E для разных величин h различен. Эмпирическая зависимость $F(h)$ мембраны сухого эритроцита представлена на рис. 4, где представлены изменения модуля Юнга для различных глубин индентации зонда. Точки пересечения графиков модели Герца с эмпирической кривой дают количественную оценку эффективного модуля Юнга мембраны на глубинах h_i .

Литература

1. Муравьев А.А., Муравьев А.В., Тихомирова И.А., Булаева С.В., Маймистова А.А. Методы изучения деформируемости эритроцитов в эксперименте и клинике. *Клин. лабор. диагностика*. 2010; 1: 28–29. PMID: 20201374
2. Сергунова В.А., Гудкова О.Е., Козлов А.П., Черныш А.М. Измерение локальной жесткости мембран эритроцитов с помощью атомно-силовой спектроскопии. *Общая реаниматология*. 2013; 9 (1): 14–17. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-1-14>
3. Kozlova E.K., Chernysh A.M., Moroz V.V., Kuzovlev A.N. Analysis of nanostructure of red blood cells membranes by space Fourier transform of AFM images. *Micron*. 2013; 44: 218–227. <http://dx.doi.org/10.1016/j.micron.2012.06.012>. PMID: 22854216
4. Kozlova E., Chernysh A., Moroz V., Gudkova O., Sergunova V., Kuzovlev A. Transformation of membrane nanosurface of red blood cells under hemin action. *Sci. Rep.* 2014; 4: 6033. <http://dx.doi.org/10.1038/srep06033>. PMID: 25112597
5. Dupres V., Verbelen C., Dufrène Y.F. Probing molecular recognition sites on biosurfaces using AFM. *Biomaterials*. 2007; 28 (15): 2393–2402. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biomaterials.2006.11.011>. PMID: 17126394

dependence $F(h)$ of the dry erythrocyte membrane is shown in Figure 4, which displays changes of Young's modulus for different depths of indentation probe. The point of intersection of the graphs of the Hertz model with empirical curve provides a quantitative estimation of the effective Young's modulus of the membrane at depths h_i . Measuring the elasticity of the membrane of dry red blood cells was performed by a cantilever SD-R150-NCL-10. The radius of the probe cantilever was 150 nm. The coefficient of elasticity of the cantilever was 30 N/m.

The empirical dependence of $F(h)$ under the action of verapamil on the blood was approximated by a model (1), as in control cells (Fig. 3), and the average value of Young's modulus was 528 ± 21 kPa. During action of heavy metal ions on the blood the empirical dependence $F(h)$ for the dried cells was close to the function shown in Figure 4. The average value of local stiffness was increased (942 ± 56 kPa at a depth of 35 nm). Therefore, measuring the power characteristics of red blood cells in the fluid allows obtaining reproducible results when determining the elasticity patterns of membranes.

Using the methods of AFM and AFS it is possible to analyze properties and morphology of living cells directly in a physiological environment.

Эмпирическая зависимость $F(h)$ при действии верапамила на кровь аппроксимировалась моделью (1), как и у контрольных клеток (рис. 3), а среднее значение модуля Юнга составило 528 ± 21 кПа. При действии на кровь ионов тяжелых металлов эмпирическая зависимость $F(h)$ для высушенных клеток была близка к функции, представленной на рис. 4. Средняя величина локальной жесткости была увеличена и составила $E = 942 \pm 56$ на глубине 35 нм. Измерение силовых характеристик эритроцитов в жидкости позволяет получать воспроизводимые результаты исследований упруго-эластичных свойств мембран.

Таким образом, с помощью метода атомной силовой микроскопии и атомно-силовой спектроскопии можно анализировать эластично-упругие свойства живой клетки, непосредственно в физиологической среде.

References

1. Muravyev A.A., Muravyev A.V., Tikhomirova I.A., Bulaeva S.V., Maimistova A.A. Metody izucheniya deformiruемости eritrotsitov v eksperimente i klinike. [Techniques for experimental and clinical studies of erythrocyte deformability]. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2010; 1: 28–29. PMID: 20201374. [In Russ.]
2. Sergunova V.A., Gudkova O.E., Kozlov A.P., Chernysh A.M. Izmerenie lokalnoi zhestkosti membran eritrotsitov s pomoshchyu atomno-silovoi spektroskopii. *Obshchaya Reanimatologiya*. [Measurement of the local tension of red blood cell membranes by atomic force spectroscopy. *General Reanimatology*]. 2013; 9 (1): 14–17. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-1-14>. [In Russ.]
3. Kozlova E.K., Chernysh A.M., Moroz V.V., Kuzovlev A.N. Analysis of nanostructure of red blood cells membranes by space Fourier transform of AFM images. *Micron*. 2013; 44: 218–227. <http://dx.doi.org/10.1016/j.micron.2012.06.012>. PMID: 22854216
4. Kozlova E., Chernysh A., Moroz V., Gudkova O., Sergunova V., Kuzovlev A. Transformation of membrane nanosurface of red blood cells under hemin action. *Sci. Rep.* 2014; 4: 6033. <http://dx.doi.org/10.1038/srep06033>. PMID: 25112597

Original Observation

6. Butt H.-J., Cappella B., Kappl M. Force measurements with the atomic force microscope: technique, interpretation and applications. *Surface Sci. Rep.* 2005; 59: 1–152. <http://dx.doi.org/10.1016/j.surfrep.2005.08.003>
7. Kim Y., Kim K., Park Y. Measurement techniques for red blood cell deformability: recent advances. In: *Moschandreou T.E. (ed.)*. Blood cell – an overview of studies in hematology. Croatia, 2012: 167–195. <http://dx.doi.org/10.5772/50698>
8. Roduit C., van der Goot F.G., De Los Rios P., Yersin A., Steiner P., Dietler G., Catsicas S., Lafont F., Kasas S. Elastic membrane heterogeneity of living cells revealed by stiff nanoscale membrane domains. *Biophys. J.* 2008; 94 (4): 1521–1532. <http://dx.doi.org/10.1529/biophysj.107.112862>. PMID: 17981897
9. Мороз В.В., Голубев А.М., Козлова Е.К., Афанасьев А.В., Гудкова О.Е., Новодержкина И.С., Марченков Ю.В., Кузовлев А.Н., Зарзхетский Ю.В., Костин А.И., Волков Д.П., Яковлев В.Н. Динамика морфологических изменений эритроцитов и биохимических показателей консервированной цельной крови в различные сроки хранения. *Общая реаниматология*. 2013; 9 (1): 5–13. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-1-5>
10. Мороз В.В., Мягкова Е.А., Сергунова В.А., Гудкова О.Е., Остапченко Д.А., Черныш А.М., Решетняк В.И. Морфологические особенности эритроцитов у больных с тяжелой сочетанной травмой. *Общая реаниматология*. 2013; 9 (3): 14–23. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-3-14>
11. Мороз В.В., Сергунова В.А., Назаров Б.Ф., Козлова Е.К., Черныш А.М., Власов И.Б. Изменения наноструктуры мембран красных клеток крови при кровопотере на этапах хирургического лечения у больных при операциях на спинном мозге. *Общая реаниматология*. 2013; 9 (2): 5–11. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-2-5>
12. Voitchovsky K., Antoranz Contera S., Kamihira M., Watts A., Ryan J.F. Differential stiffness and lipid mobility in the leaflets of purple membranes. *Biophys. J.* 2006; 90 (6): 2075–2085. <http://dx.doi.org/10.1529/biophysj.105.072405>. PMID: 16387758
13. Lekka M., Fornal M., Pyka-Fościk G., Lebed K., Wizner B., Grodzicki T., Styczeń J. Erythrocyte stiffness probed using atomic force microscope. *Biorheology*. 2005; 42 (4): 307–317. PMID: 16227658
14. Buys A.V., Van Rooy M.J., Soma P., Van Papendorp D., Lipinski B., Pretorius E. Changes in red blood cell membrane structure in type 2 diabetes: a scanning electron and atomic force microscopy study. *Cardiovasc. Diabetol.* 2013; 12: 25. <http://dx.doi.org/10.1186/1475-2840-12-25>. PMID: 23356738
15. Li M., Liu L., Xi N., Wang Y., Dong Z., Xiao X., Zhang W. Atomic force microscopy imaging and mechanical properties measurement of red blood cells and aggressive cancer cells. *Sci. China Life Sci.* 2012; 55 (11): 968–973. <http://dx.doi.org/10.1007/s11427-012-4399-3>. PMID: 23160828
16. Yu M., Wang J., Wang H.X., Liu L., Yan Y., Zhang J., Liang Y., Dong S. Calculation of the intracellular elastic modulus based on an atomic force microscope micro-cutting system. *Sci. Bull.* 2012; 57 (15): 1868–1872. <http://dx.doi.org/10.1007/s11434-012-5053-y>
17. Мороз В.В., Черныш А.М., Козлова Е.К., Сергунова В.А., Гудкова О.Е., Федорова М.С., Кирсанова А.К., Новодержкина И.С. Нарушение наноструктуры мембран эритроцитов при острой кровопотере и их коррекция перфторуглеродной эмульсией. *Общая реаниматология*. 2011; 7 (2): 5–9. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2011-2-5>
18. Мороз В.В., Голубев А.М., Афанасьев А.В., Кузовлев А.Н., Сергунова В.А., Гудкова О.Е., Черныш А.М. Строение и функция эритроцита в норме и при критических состояниях. *Общая реаниматология*. 2012; 8 (1): 52–60. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2012-1-52>
19. Ефремов Ю.М., Багров Д.В., Дубровин Е.В., Шайтан К.В., Яминский И.В. Атомно-силовая микроскопия животных клеток: обзор достижений и перспективы развития. *Биофизика*. 2011; 56 (2): 288–303. PMID: 21542359
5. Dupres V., Verbelen C., Dufrène Y.F. Probing molecular recognition sites on biosurfaces using AFM. *Biomaterials*. 2007; 28 (15): 2393–2402. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biomaterials.2006.11.011>. PMID: 17126394
6. Butt H.-J., Cappella B., Kappl M. Force measurements with the atomic force microscope: technique, interpretation and applications. *Surface Sci. Rep.* 2005; 59: 1–152. <http://dx.doi.org/10.1016/j.surfrep.2005.08.003>
7. Kim Y., Kim K., Park Y. Measurement techniques for red blood cell deformability: recent advances. In: *Moschandreou T.E. (ed.)*. Blood cell – an overview of studies in hematology. Croatia, 2012: 167–195. <http://dx.doi.org/10.5772/50698>
8. Roduit C., van der Goot F.G., De Los Rios P., Yersin A., Steiner P., Dietler G., Catsicas S., Lafont F., Kasas S. Elastic membrane heterogeneity of living cells revealed by stiff nanoscale membrane domains. *Biophys. J.* 2008; 94 (4): 1521–1532. <http://dx.doi.org/10.1529/biophysj.107.112862>. PMID: 17981897
9. 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.V. Dinamika morfoloicheskikh izmenenii eritrotsitov i biokhimicheskikh pokazatelei konservirovannoi tselnoi krovi v razlichnye stroki khraneniya. *Obshchaya Reanimatologiya*. [Time course of morphological changes in red blood cells and stored whole blood biochemical parameters in different storage periods. *General Reanimatology*]. 2013; 9 (1): 5–13. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-1-5>. [In Russ.]
10. Moroz V.V., Myagkova E.A., Sergunova V.A., Gudkova O.E., Ostapchenko D.A., Chernysh A.M., Reshetnyak V.I. Morfoloicheskie osobennosti eritrotsitov u bolnykh s tyazheloi sochetannoi travmoi. *Obshchaya Reanimatologiya*. [Morphological features of red blood cells in patients with severe concomitant injury. *General Reanimatology*]. 2013; 9 (3): 14–23. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-3-14>. [In Russ.]
11. Moroz V.V., Sergunova V.A., Nazarov B.F., Kozlova E.K., Chernysh A.M., Vlasov I.B. Izmeneniya nanostrukturny membran krasnykh kletok krovi pri krovopote na etapakh khirurgicheskogo lecheniya u bolnykh pri operatsiyakh na spinnom mozge. *Obshchaya Reanimatologiya*. [Changes in the nanostructure of red blood cells in intraoperative blood loss during spinal cord surgery. *General Reanimatology*]. 2013; 9 (2): 5–11. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-2-5>. [In Russ.]
12. Voitchovsky K., Antoranz Contera S., Kamihira M., Watts A., Ryan J.F. Differential stiffness and lipid mobility in the leaflets of purple membranes. *Biophys. J.* 2006; 90 (6): 2075–2085. <http://dx.doi.org/10.1529/biophysj.105.072405>. PMID: 16387758
13. Lekka M., Fornal M., Pyka-Fościk G., Lebed K., Wizner B., Grodzicki T., Styczeń J. Erythrocyte stiffness probed using atomic force microscope. *Biorheology*. 2005; 42 (4): 307–317. PMID: 16227658
14. Buys A.V., Van Rooy M.J., Soma P., Van Papendorp D., Lipinski B., Pretorius E. Changes in red blood cell membrane structure in type 2 diabetes: a scanning electron and atomic force microscopy study. *Cardiovasc. Diabetol.* 2013; 12: 25. <http://dx.doi.org/10.1186/1475-2840-12-25>. PMID: 23356738
15. Li M., Liu L., Xi N., Wang Y., Dong Z., Xiao X., Zhang W. Atomic force microscopy imaging and mechanical properties measurement of red blood cells and aggressive cancer cells. *Sci. China Life Sci.* 2012; 55 (11): 968–973. <http://dx.doi.org/10.1007/s11427-012-4399-3>. PMID: 23160828
16. Yu M., Wang J., Wang H.X., Liu L., Yan Y., Zhang J., Liang Y., Dong S. Calculation of the intracellular elastic modulus based on an atomic force microscope micro-cutting system. *Sci. Bull.* 2012; 57 (15): 1868–1872. <http://dx.doi.org/10.1007/s11434-012-5053-y>
17. Moroz V.V., Chernysh A.M., Kozlova E.K., Sergunova V.A., Gudkova O.E., Fedorova M.S., Kirsanova A.K., Novoderzhkina I.S. Narushenie nanostrukturny membran eritrotsitov pri ostroi krovopote i ikh korrektsiya perfortuglerodnoi emulsiei. *Obshchaya Reanimatologiya*. [Impairments in the nanostructure of red blood cell membranes in acute blood loss and their correction with perfluorocarbon emulsion. *General Reanimatology*]. 2011; 7 (2): 5–9. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2011-2-5>. [In Russ.]
18. 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. *Obshchaya Reanimatologiya*. [The structure and function of a red blood cell in health and critical conditions. *General Reanimatology*]. 2012; 8 (1): 52–60. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2012-1-52>. [In Russ.]
19. Efremov Yu.M., Bagrov D.V., Dubrovina E.V., Shaitan K.V., Yaminsky I.V. Atomno-silovaya mikroskopiya zhivotnykh kletok: obzor dostizhenii i perspektivy razvitiya. [Atomic force microscopy of living cells: advances and future outlooks]. *Biofizika*. 2011; 56 (2): 288–303. PMID: 21542359. [In Russ.]

Поступила 26.01.2015

Submitted 26.01.2015

ЭКСПРЕССИЯ МОЗГОВОГО НЕЙРОТРОФИЧЕСКОГО ФАКТОРА (BDNF) ПОВЫШАЕТ УСТОЙЧИВОСТЬ НЕЙРОНОВ К ГИБЕЛИ В ПОСТРЕАНИМАЦИОННОМ ПЕРИОДЕ

И. В. Острова, М. Ш. Аврущенко

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

Expression of Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) Increases the Resistance of Neurons to Death in the Postresuscitation Period

I. V. Ostrova, M. Sh. Avrushchenko

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

Одним из наиболее актуальных вопросов в современной нейробиологии и медицине остается поиск веществ, способных защитить клетки головного мозга от повреждающего действия гипоксии. В настоящее время в литературе широко обсуждаются возможности применения нейротрофических факторов, в частности, белка BDNF (brain-derived neurotrophic factor), для лечения неврологических заболеваний. Однако остается неясным, как изменяется уровень экспрессии данного белка в нейронах головного мозга в постреанимационном периоде после остановки системного кровообращения. **Цель исследования.** Определить уровень экспрессии BDNF в высокочувствительной к ишемии нейрональной популяции клеток Пуркинье мозжечка и оценить его значение в устойчивости нейронов к ишемии-реперфузии. **Материалы и методы.** У половозрелых белых нелинейных самцов крыс ($n=11$) под эфирным наркозом вызвали остановку сердца на 12 мин путем внутриторакального пережатия сосудистого пучка сердца с последующим оживлением. Контрольную группу составили ложнопериоперированные животные ($n=11$). На 7-е сутки после реанимации методом морфометрического анализа на окрашенных по Ниссию парафиновых срезах толщиной 5–6 мкм определяли общее число клеток Пуркинье на 1 мм длины их слоя. Иммуногистохимическое исследование экспрессии белка BDNF в клетках Пуркинье проводили непрямым пероксидазно-антипероксидазным методом с использованием первичных поликлональных антител против BDNF. Подсчитывали число клеток Пуркинье с разной иммунореактивностью к белку BDNF. Интенсивность экспрессии BDNF оценивали по показателю средней оптической плотности. **Результаты.** 12-минутная остановка системного кровообращения у крыс приводила к уменьшению числа клеток Пуркинье на 12,5%. При иммуногистохимическом исследовании обнаружено, что число BDNF⁺ нейронов у реанимированных крыс было снижено. При этом число BDNF⁺ и BDNF⁺⁺ нейронов соответствовало контрольному уровню. Следовательно, погибали только BDNF-негативные, т. е. не экспрессирующие белок BDNF нейроны. Анализ средней оптической плотности показал, что среди оставшихся нейронов уровень экспрессии белка BDNF был повышен в сравнении с контролем. Выявленные факты свидетельствуют о нейропротективном действии этого белка в постреанимационном периоде. **Заключение.** Способность к экспрессии белка BDNF является важным фактором, повышающим устойчивость нейронов к гибели в постреанимационном периоде. Это обуславливает перспективность использования BDNF для разработки новых подходов к защите мозга при ишемии-реперфузии. **Ключевые слова:** белок BDNF, постреанимационный период, гибель нейронов, клетки Пуркинье мозжечка, морфометрический анализ, иммуногистохимия, средняя оптическая плотность.

A search for substances that are able to protect brain cells from the damaging effect of hypoxia remains one of the most relevant issues in modern neurobiology and medicine. Whether neurotrophic factors, brain-derived neurotrophic factor (BDNF) protein in particular, can be used to treat neurological diseases is the subject of wide speculation in the literature now. However, how the expression of this protein in the brain neurons changes after systemic circulatory arrest in the postresuscitation period remains uncertain. **Objective:** to estimate the level of BDNF expression in the highly ischemia-sensitive neuronal population of cerebellar Purkinje cells and the value of BDNF in the resistance of neurons to ischemia-reperfusion. **Materials and methods.** In mature outbred male albino rats ($n=11$), the heart was stopped under ether anesthesia at 12 minutes via intrathoracic ligation of the vascular fascicle, followed by revivification. A control group included pseudo-operated animals ($n=11$). On days 7 after revivification, a morphometric analysis of Nissl-stained paraffin sections 5–6 μ m thick was used to determine the total number of Purkinje cells per 1 mm of their layer length. The expression of BDNF protein in the Purkinje cells was immunohistochemically examined by an indirect peroxidase-antiperoxidase test using primary polyclonal antibodies against BDNF. The count of Purkinje cells with different immune responses to BDNF protein

Адрес для корреспонденции:

Ирина Острова
E-mail: irinaostrova@mail.ru

Correspondence to:

Irina Ostrova
E-mail: irinaostrova@mail.ru

was calculated. The intensity of BDNF expression was estimated from the mean optical density. **Results.** 12-minute systemic circulatory arrest in the rats resulted in a 12.5% reduction in the number of Purkinje cells. The immunohistochemical examination revealed a lower numbers of BDNF⁺ neurons in the resuscitated rats. In this case, the count of BDNF⁺ and BDNF⁺⁺ neurons corresponded to their reference level. Consequently, only BDNF-negative neurons, i.e. those that failed to express BDNF protein, died. Analysis of the mean optical density indicated that the remaining neurons had a higher BDNF protein expression than those in the controls. The found facts suggest that this protein has a neuroprotective effect in the postresuscitation period. **Conclusion.** The capability for BDNF expression is an important factor that enhances neuronal resistance to death in the postresuscitation period. This offers promise for BDNF use to elaborate novel approaches to protecting the brain in ischemia-reperfusion. **Key words:** BDNF protein, postresuscitation period, neuronal death, cerebellar Purkinje cells, morphometric analysis, immunohistochemistry, mean optical density.

DOI:10.15360/1813-9779-2015-3-45-53

Введение

Остановка сердца часто сопровождается нарушениями функции мозга, что является одной из основных причин смертности среди реанимационных больных [1, 2]. Ишемия-реперфузия вызывает повреждение нервных клеток в различных областях головного мозга — сенсомоторной коре, гиппокампе, стриатуме, таламусе, мозжечке. Восстановление функции мозга после реанимации тесно взаимосвязано с состоянием высокочувствительных к гипоксии нейрональных популяций [3]. Поэтому исследование механизмов развивающихся нарушений необходимо для понимания причин постгипоксических энцефалопатий, а также поиска эффективных способов их профилактики и коррекции.

Нами выявлены факторы, способствующие повышению устойчивости нейронов к постреанимационной гибели и являющиеся «индикаторами» повреждения мозга. Так, установлено значение постреанимационных изменений уровня экспрессии белков теплового шока семейства HSP70, глюкозо-регулируемого белка GRP78, глиального нейротрофического фактора GDNF [3–5].

В настоящее время в литературе широко обсуждается терапевтический потенциал нейротрофических факторов в качестве нейропротекторов [6–10]. Нейротрофины — это уникальное семейство полипептидных ростовых факторов, которые влияют на пролиферацию, дифференцировку, выживание и гибель нейронов. Они необходимы для нормального функционирования нервной системы, участвуют в высшей нервной деятельности. Изменения уровня нейротрофинов связаны с рядом нейродегенеративных заболеваний, таких как болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, хорея Хантингтона [11].

В последние годы пристальное внимание специалистов различных профилей привлекает один из главных представителей семейства нейротрофинов — нейротрофический фактор головного мозга (brain-derived neurotrophic factor — BDNF).

BDNF — это белок с молекулярной массой 14 кДа, принадлежащий к классу цитокинов, семейству факторов роста и подсемейству нейротрофинов. Он экспрессируется в развивающемся и зрелом мозге млекопитающих [12]. Его много в гиппокампе, коре, мозжечке, стриатуме, миндалевидном теле и гипоталамусе [13, 14]. BDNF синтезируется, главным образом, в ней-

Introduction

Cardiac arrest is commonly accompanied by disturbances of brain function that are considered as one of the main causes of death of critically ill patients [1, 2]. Ischemia-reperfusion causes nerve cell damage in various regions of the brain including sensorimotor cortex, hippocampus, striatum, thalamus and cerebellum. Recovery of brain functions after resuscitation is closely linked to the conditions of neuronal populations highly sensitive to hypoxia [3]. Studies of mechanisms of developing brain disorders are urgently needed to reveal the causes of posthypoxic encephalopathies, as well as to determine more efficient approaches to their prevention and correction.

Previously we have identified factors that can improve the sustainability of neurons to post-resuscitation death and which are considered as «indicators» of a brain damage. They include heat shock protein HSP70, glucose-regulated protein GRP78, glia-derived neurotrophic factor GDNF differentially expressed in brain compartments post-resuscitation [3–5].

Currently the therapeutic potential of neurotrophic factors as neuroprotective agents is thoroughly discussing [6–10]. Neurotrophins belong to unique family of polypeptide growth factors affecting proliferation, differentiation, survival and death of neurons. Neurotrophins are indispensable for normal functioning of the nervous system and involved in activities of CNS. Quantitative changes of neurotrophins have been shown to be associated with a number of neurodegenerative diseases including Alzheimer's disease, Parkinson's disease, Huntington's chorea [11].

In recent years, attention of scientists has been attracted by one of the main representatives of neurotrophins, the brain-derived neurotrophic factor (BDNF).

BDNF is a 14 kDa protein that belongs to the class of cytokine family of growth factors and neurotrophins subfamily. It is expressed in the developing and adult mammalian brain [12]. There is a large amount of this protein in the hippocampus, cortex, cerebellum, striatum, amygdala and hypothalamus [13, 14]. BDNF is synthesized primarily in neurons. It has been also found in platelets, astrocytes, microglia, endothelium, hepatic cells, muscle [6]. BDNF is indispensable for learning and memory processes, promotion of growth and differentiation of new neurons and synapses [8, 15–17]. BDNF has revealed its anti-hypoxic properties [18], anti-inflammatory activity [6] and capabilities to inhibit apoptosis [19, 20], stimulate the

ронах. Он также обнаружен в тромбоцитах, астроцитах, клетках микроглии, эндотелия, печени, мышечной ткани [6]. BDNF важен для процессов обучения и памяти, способствует росту и дифференцировке новых нейронов и синапсов [8, 15–17]. Установлено, что BDNF обладает антигипоксическими свойствами [18], противовоспалительным действием [6], угнетает апоптоз [19, 20], а также стимулирует регенерацию и рост поврежденных нервных волокон [6]. В многочисленных экспериментальных исследованиях продемонстрировано нейропротективное действие BDNF [8, 21–26].

В эксперименте на различных моделях изолированной ишемии мозга были выявлены изменения экспрессии BDNF. Однако данные этих исследований неоднозначны и различаются по локализации и динамике выявленных сдвигов [27–30].

В связи с этим целью настоящей работы было исследовать уровень экспрессии BDNF в высокочувствительной к ишемии нейрональной популяции клеток Пуркинье мозжечка и оценить его значение в устойчивости нейронов к ишемии-реперфузии.

Материал и методы

Эксперименты проводились на белых нелинейных крысах-самцах массой 190–250 г согласно рекомендациям Этического комитета ФГБНУ НИИ общей реаниматологии имени В. А. Неговского в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приказ Минздрава СССР №755 от 12.08.1977). У 11 крыс под эфирным наркозом вызывали остановку сердца на 12 мин путем внутриторакального пережатия сосудистого пучка сердца [31]. Оживление проводили непрямым массажем сердца в сочетании с искусственной вентиляцией легких воздухом в режиме гипервентиляции аппаратом «Animal Respirator» («SMT Geratehandel») с внутритрахеальным введением раствора адреналина в дозе 0,1 мг/кг. Контрольную группу составили ложнооперированные животные ($n=11$).

На 7-е сутки после реанимации забирали образцы мозга, которые фиксировали либо в растворе Карнуа (для гистологического исследования), либо в формалине (для иммуногистохимического исследования). Исследовались постреанимационные изменения состояния высокочувствительной к гипоксии популяции клеток Пуркинье коры мозжечка. Гистологический анализ проводили на парафиновых срезах толщиной 5–6 мкм, окрашенных крезидовым фиолетовым по Нислю. Определяли общее число клеток Пуркинье на 1 мм длины их слоя.

Иммуногистохимическое исследование экспрессии белка BDNF в клетках Пуркинье проводили непрямым пероксидазно-антипероксидазным методом с использованием первичных поликлональных антител против BDNF (разведение 1:100) (Santa Cruz Biotechnology Inc., USA) и визуализирующей системы LSAB⁺Kit (DAKO, Glostrup, Denmark). Иммуноцитохимическая реакция контролировалась инкубацией срезов со всеми реагентами кроме первичных антител. Подсчитывали число клеток Пуркинье с разной иммунореактивностью к белку BDNF. При этом выделяли BDNF-негативные (BDNF⁻), BDNF-позитивные (BDNF⁺) и BDNF-сильнопозитивные нейроны (BDNF⁺⁺) (рис. 1).

В работе использовали систему анализа изображений (микроскоп Olympus BX-41 (Japan), фотокамера Olympus 500UZ (Japan), программы Image Scope M (SMA, Russia) и Excel).

Интенсивность экспрессии BDNF оценивали по показателю средней оптической плотности, которую определя-

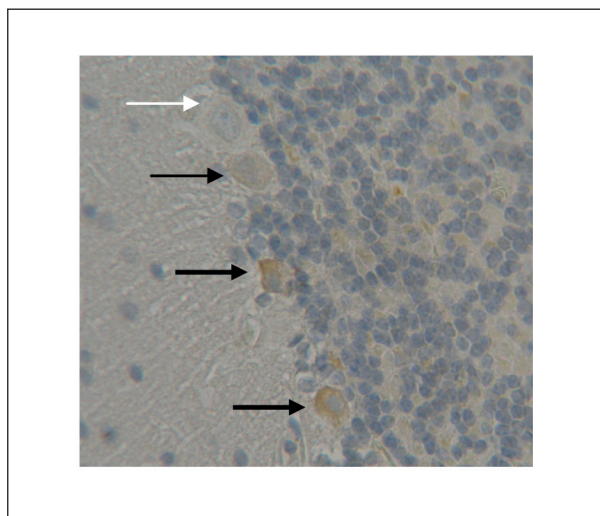


Рис. 1. Клетки Пуркинье с разным уровнем экспрессии мозгового нейротрофического фактора BDNF. Пероксидазно-антипероксидазный метод, докраска гематоксилином. $\times 400$.
Fig. 1. Purkinje cells with different levels of BDNF expression. Peroxidase-antiperoxidase method, hematoxylin staining. $\times 400$.

Note (примечание). Here and fig. 2, 3 (здесь и на рис. 2,3): BDNF – brain-derived neurotrophic factor (нейротрофический фактор головного мозга); BDNF⁻-neurons – white arrow (BDNF⁻-нейроны – белая стрелка), BDNF⁺-neurons – black thin arrow (BDNF⁺-нейроны – черная тонкая стрелка); BDNF⁺⁺-neurons – black thick arrow (BDNF⁺⁺-нейроны – черная толстая стрелка).

regeneration of damaged nerve fibers [6]. Numerous experimental studies have demonstrated neuroprotective action of BDNF [8, 21–26].

The BDNF expression changes have been revealed in various models of isolated cerebral ischemia. However, these studies were ambiguous and the BDNF expression varied depending on localization and dynamics of the changes [27–30].

The aim of this study was to investigate the level of BDNF expression in hypoxia-sensitive neuronal population of cerebellar Purkinje cells and reveal the contribution of BDNF to the resistance of neurons to ischemia-reperfusion.

Materials and Methods

Experiments were carried out on male albino rats (190–250 g body mass) according to the recommendations of the Ethics Committee of V. A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology in accordance to the «Rules of the work using experimental animals» (Order №755 of the Ministry of Public Health (USSR), 12.08.1977). Rats ($n=11$) were anesthetized with an ether and cardiac arrest was evoked for 12 min by intrathoracic clamping of the supracardiac bundle of vessels with a special hook [31]. Animals were resuscitated with the aid of chest compressions combined with mechanical air ventilation by «Animal Respirator» (SMT Geratehandel) accompanied by intratracheal administration solution of adrenaline at a dose of 0,1 mg/kg. Sham-operated animals served as control ($n=11$).

On the 7th day after resuscitation brain samples were collected and fixed in Carnoy's solution (for histology) or formalin (for immunohistochemical studies).

Histological study was performed using the slices 5–6 microns thick prepared from paraffin-embedded brain tissue spec-

Original Observation

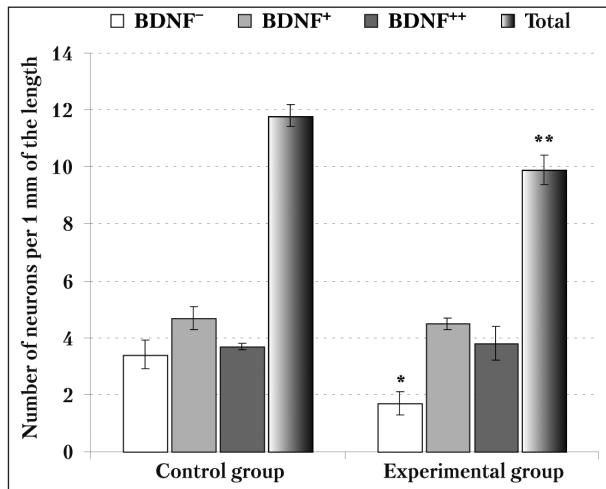


Рис. 2. Число клеток Пуркинье мозжечка с разной иммунореактивностью к BDNF у контрольных и опытных крыс.

Fig. 2. Number of cerebellar Purkinje cells with different BDNF immunoreactivity in control and experimental rats.

Note (примечание): * — $P_t < 0,05$; ** — $P_t < 0,01$ — vs. control (по сравнению с контролем). Data are presented as mean $\pm$ standart error of mean данные представлены в виде среднего $\pm$ стандартная ошибка среднего. Number of neurons per 1 mm length — число нейронов на 1 мм длины; control group — контрольная группа; experimental group — экспериментальная группа.

ли в программе Nis Elements 3.2. (Nikon, Japan) на основании визуальной оценки и анализа оптической плотности все объекты (клетки Пуркинье) были разделены на 3 подгруппы: BDNF⁻ (средняя оптическая плотность $\leq 0,3$ у. е.), BDNF⁺ (0,3 у. е. < средняя оптическая плотность $\leq 0,36$ у. е.) и BDNF⁺⁺ нейроны (средняя оптическая плотность $> 0,36$ у. е.). Вычисляли относительную частоту признака в каждой группе.

Статистическую обработку данных проводили в программе Statistica 7.0. Достоверность различий оценивали с помощью t -критерия Стьюдента, а также критериев Манна-Уитни, Колмогорова-Смирнова. При сравнении частотных величин использовали критерий Пирсона.

Результаты и обсуждение

В ходе гистологического морфометрического исследования выявлено, что у реанимированных крыс на 7-е сутки постреанимационного периода в популяции клеток Пуркинье происходит снижение общего числа нейронов на 12,5%, что свидетельствует об их гибели ($16,6 \pm 0,6$ и $13,6 \pm 0,6$ в контроле и опыте, соответственно, $p_t < 0,001$).

При иммуногистохимическом исследовании обнаружено, что у реанимированных крыс число BDNF⁻ нейронов снижено на 50%. Число BDNF⁺ и BDNF⁺⁺ нейронов соответствовало контрольному уровню (рис. 2). Следовательно, можно предположить, что гибели подвергались только BDNF-негативные, т.е. не экспрессирующие этот белок нейроны.

При сравнении интенсивности экспрессии белка BDNF в клетках Пуркинье в двух группах было обнаружено, что реанимированные животные отличаются от контрольных по распределению средней оптической плотности ($p_t < 0,001$) (рис. 3).

имен, stained with cresyl violet by the Nissl procedure. The total number of Purkinje cells per 1 mm of their layer length was determined.

Immunohistochemical examination of BDNF protein expression in Purkinje cells was performed by indirect peroxidase-antiperoxidase method using polyclonal primary antibodies to BDNF at a 1: 100 dilution (Santa Cruz Biotechnology Inc., USA) and LSAB⁺Kit (DAKO, Glostrup, Denmark). Immunocytochemical reaction was monitored by incubating the sections with all reagents except the primary antibody. Purkinje cells with different BDNF immunoreactivity were counted. Neurons were separated on BDNF-negative (BDNF⁻), BDNF-positive (BDNF⁺) and BDNF-strong positive (BDNF⁺⁺) (Fig. 1).

We used image analysis system that included microscope Olympus BX-41 (Japan), camera Olympus 500UZ (Japan), the program Image Scope M (SMA, Russia), and Excel.

The intensity of BDNF expression was evaluated in terms of mean optical density as defined by the program Nis Elements 3.2. (Nikon, Japan). Based on visual assessment and analysis of the optical density, the objects (Purkinje cells) were divided into 3 subgroups: BDNF⁻ (mean optical density $\leq 0,3$), BDNF⁺ (0,3 < mean optical density $\leq 0,36$) and BDNF⁺⁺ neurons (mean optical density $> 0,36$). The relative frequencies of each pattern in each group were calculated.

Statistical data processing was performed using Statistica 7.0. The significance of differences was assessed by Student's t -test, Mann-Whitney test, Kolmogorov-Smirnov test. When comparing the frequency values we used Pearson criterion.

Results and Discussion

The histological study revealed the decreased total number of neurons in the population of Purkinje cells of resuscitated rats: on the 7th postoperative day, it was 12.5% less vs. control indicating cell death ($16,6 \pm 0,6$ и $13,6 \pm 0,6$ in control and experimental groups, correspondently, $P_t < 0,001$).

Immunohistochemical study revealed that the number of BDNF⁻ neurons in resuscitating rats was reduced by 50%. The number of BDNF⁺ and BDNF⁺⁺ neurons did not differ compared to the control (Fig. 2). Data suggest that the BDNF-negative neurons were subjected to death.

When comparing the intensity of BDNF protein expression in Purkinje cells in the two groups it was found that resuscitated animals differ from the control in distribution of a mean optical density ($P_t < 0,001$) (Fig. 3).

Relative frequency distribution of the mean optical density in groups demonstrates that in resuscitated animals the sharing of BDNF⁻ cells among surviving neurons is decreasing with the increase in proportion of BDNF⁺ neurons (by 5.96% and 7.34%, $P < 0,05$ vs. controls) (Fig. 4).

These data demonstrate that the level of BDNF expression increases within the population of Purkinje cells in resuscitated rats compared to control.

Overall, the results of our study suggest that the death of BDNF⁻ cells occurs post-resuscitation. At the same time in the population of survived neurons BDNF expression level increases.

According to this study, the 12-minute systemic circulatory arrest in rats leads to reduction in the number of cerebellar Purkinje cells. Analysis of the number of neurons with different BDNF immunoreactivity showed that BDNF⁻ neurons, i.e. not expressing the protein, die,

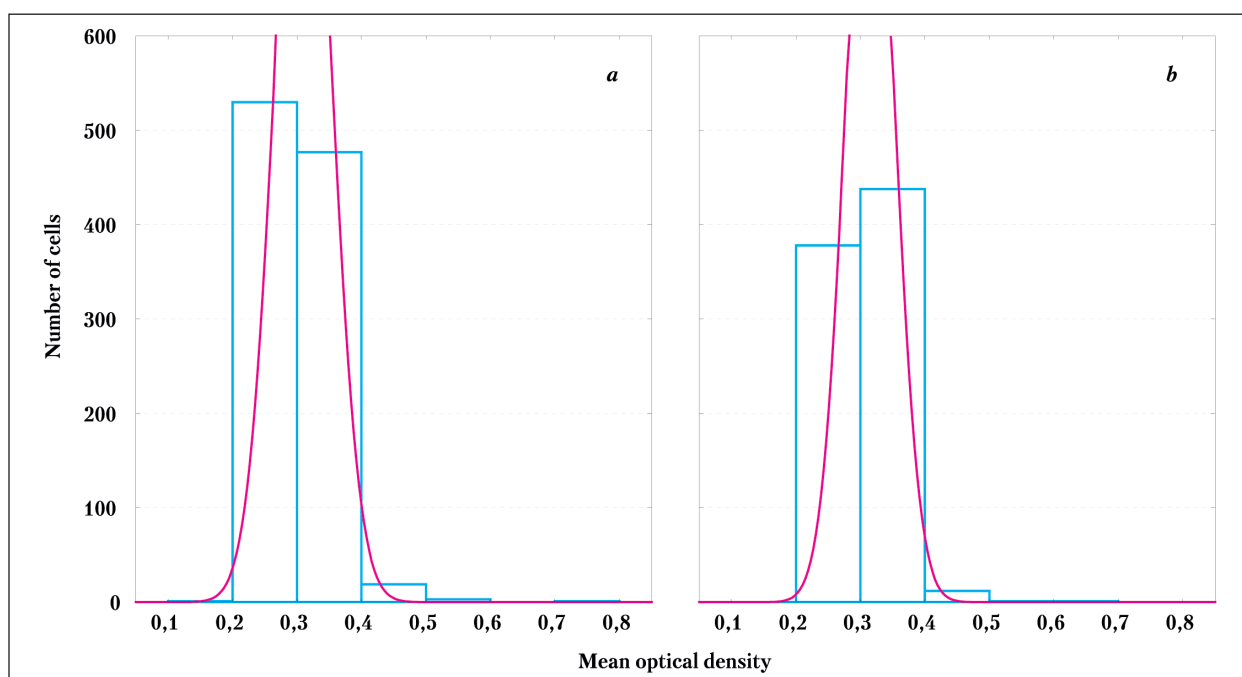


Рис. 3. Распределение средней оптической плотности BDNF в нейрональной популяции клеток Пуркинье в контроле (а) и опыте (b).

Fig. 3. Distribution of the mean optical density of BDNF in neuronal population of Purkinje cells in control (a) and experimental (b) groups.

Note (примечание): mean optical density — значение оптической плотности; number of cells — число клеток.

Анализ относительных частот распределения средней оптической плотности в группах показал, что у реанимированных животных по сравнению с контролем среди сохранившихся нейронов снижалась доля BDNF⁻ клеток (на 5,96%, $p < 0,05$) при повышении доли BDNF⁺ нейронов (на 7,34%, $p < 0,05$) (рис. 4).

Полученные данные указывают на то, что в популяции клеток Пуркинье у реанимированных крыс в сравнении с контролем возрастает уровень экспрессии BDNF.

В целом, результаты нашего исследования свидетельствуют о том, что в постреанимационном периоде происходит гибель BDNF⁻ клеток. При этом в популяции выживших нейронов уровень экспрессии BDNF повышается.

Согласно данным настоящего исследования, 12-минутная остановка системного кровообращения у крыс приводит к снижению числа клеток Пуркинье мозжечка. Иммуногистохимический анализ числа нейронов с разной иммунореактивностью к BDNF показал, что гибнут BDNF⁻, т. е. не экспрессирующие этот белок клетки Пуркинье. При этом среди оставшихся нейронов уровень экспрессии белка BDNF повышается. Выявленные факты свидетельствуют о нейропротективных свойствах этого белка в постреанимационном периоде.

Аналогичные результаты были получены и на других моделях ишемии. Так, повышение уровня BDNF было выявлено в гиппокампе крыс через 12–24 ч после 8-минутной остановки сердца, вызванной асфиксией [24]. Значительное увеличение числа BDNF-иммунопозитивных нейронов было найдено в черной субстанции через 1 неделю после 90-мин фокальной цереб-

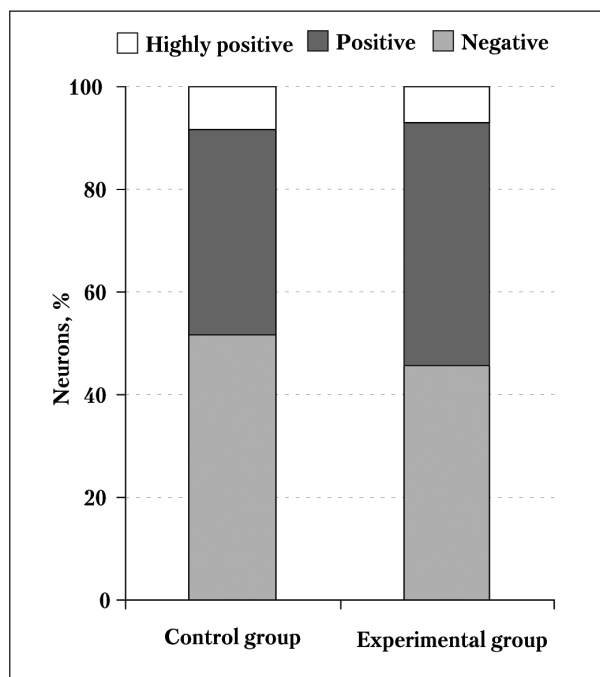


Рис. 4. Содержание нейронов с разной средней оптической плотностью в популяции клеток Пуркинье у контрольных и опытных крыс.

Fig. 4. Content of neurons with different mean optical density in the population of Purkinje cells in control and experimental rats.

Note (примечание): Control group — контрольная группа; experimental group — опытная группа; neurons — нейроны; highly positive — сильно позитивные; positive — позитивные; negative — негативные.

ральной ишемии, вызванной пережатием сонной артерии [30]. Микроэмболия головного мозга вызывала увеличение уровня белка BDNF в гиппокампе на 7-е сутки после ишемии [29]. Экспрессия BDNF и его рецептора TrkB в поле CA1 гиппокампа снижалась на ранних сроках (4 часа — 1 сутки) после ишемии мозга у песчанок, однако восстанавливалась в выживших нейронах к 3-им суткам [26].

У больных в критическом состоянии был выявлен повышенный уровень BDNF в плазме крови по сравнению со здоровыми волонтерами [32]. Авторы предположили, что для восстановления функций ЦНС требуются высокие уровни BDNF, а неспособность поддерживать адекватный уровень этого белка связана с дисфункцией мозга. Поэтому BDNF может быть хорошим маркером дисфункции мозга у больных в критическом состоянии, и в целом — иметь важное прогностическое значение в клинике. Недавние исследования это подтверждают. Так, у пациентов с вегетососудистой дистонией и закрытой черепно-мозговой травмой повышение концентрации BDNF в сыворотке крови коррелировало с уменьшением выраженности тревоги и улучшением когнитивных функций [33]. Низкий уровень BDNF в плазме крови был связан с высокой смертностью среди пациентов отделения интенсивной терапии (Intensive Care Unit) [33]. В 10-летнем исследовании Pikula et al. [34] было обнаружено, что низкие концентрации BDNF в сыворотке пожилых людей связаны с повышенным риском внезапного инсульта. Низкие и крайне высокие значения сывороточной концентрации BDNF являются прогностически неблагоприятными для формирования структурных поражений головного мозга у новорожденных группы риска [35]. Определение уровня BDNF в сыворотке крови можно использовать и в клинической неонатологии для диагностики тяжести поражения и прогноза развития у детей органических форм поражения ЦНС [36].

Существуют экспериментальные доказательства защитного действия BDNF на нейроны при его экзогенном введении. Так, постшемическая внутрижелудочковая инфузия BDNF предотвращала гибель нейронов поля CA1 гиппокампа и активацию астроглии при глобальной ишемии мозга у крыс [37]. Введение BDNF в остром постшемическом периоде после окклюзии средней мозговой артерии (МСАО) у крыс приводило к уменьшению зоны инфаркта и снижению неврологического дефицита [21, 22].

По мнению многих исследователей, нейропротективный эффект различных воздействий, таких как, гипотермия, ишемическое preconditioning, трансплантация микроглии, введение прогестерона, двигательная активность, опосредован именно BDNF и его рецептором TrkB [7–9, 24–26, 38].

Защитное действие BDNF объясняют его антиапоптотическими, противовоспалительными, а также антицитотоксическими свойствами [2, 6, 19, 23].

В литературе широко обсуждаются перспективы применения BDNF в клинике. В настоящее время раз-

wherein the expression level of BDNF protein increases among the remaining neurons. These findings demonstrate neuroprotective properties of BDNF post-resuscitation.

Similar results were obtained in other models of ischemia. Thus, the increased BDNF level was detected in rat hippocampus 12–24 hours after 8-minute — cardiac arrest caused by asphyxia [24]. Significant increase in BDNF-immunopositive neurons were found in the substantia nigra one week after a 90-min focal cerebral ischemia induced by clamping the carotid artery [30]. Brain microembolia evoked increases in BDNF protein expression in the hippocampus 7 days after ischemia [29]. Expression of BDNF and TrkB receptors in the hippocampal CA1 field decreased 4 hours — 1 day after cerebral ischemia in gerbils, but restored in surviving neurons in 3 days [26].

Elevated levels of BDNF in blood plasma were detected in critically ill patients compared to healthy volunteers [32]. The authors suggested that the restoration of the central nervous system requires high levels of BDNF, and failure to maintain adequate levels of this protein is associated with dysfunction of the brain. Therefore, BDNF may serve as a promising marker of a brain dysfunction in critically ill patients, and in general might possess a prognostic value in the clinics. Recent studies confirm the latter suggestion. In patients with vascular dystonia and closed traumatic brain injury the increased BDNF concentration in serum was correlated with a decrease in the severity of both anxiety and cognitive functions improvements [33]. Low levels of BDNF in blood plasma were associated with high mortality in ICU (Intensive Care Unit) [33]. A 10-year study of Pikula et al. [34] have been found that low serum concentrations of BDNF in the elderly are associated with increased risk of sudden stroke. Low and very high values of serum BDNF were found to be prognostically unfavorable for the formation of structural brain damage in newborns at risk [35]. Determining the level of BDNF in the serum was suggested to be employed in clinical neonatology for the diagnosis and prognosis of the severity of the development of organic forms CNS lesions in children [36].

There is an experimental evidence for the protective effect of BDNF in neurons when administered exogenously. Postischemic intraventricular infusion of BDNF prevented neuronal death of hippocampal CA1 neurons and astroglial activation after global cerebral ischemia in rats [37]. The administering of BDNF in the acute postischemic period after middle cerebral artery occlusion (MCAO) in rats decreased infarct area and reduced neurological deficits [21, 22].

According to numerous studies, the neuroprotective effects of various conditions, such as hypothermia, ischemic preconditioning, microglia transplantation, progesterone administrating, physical activity, are mediated by BDNF and its receptor TrkB [7–9, 24–26, 38].

Protective effect of BDNF was explained by its antiapoptotic, anti-inflammatory, as well as anti-cytotoxic properties [2, 6, 19, 23].

рабатываются различные стратегии для решения проблемы доставки нейротрофинов в мозг (системы переноса с помощью вирусных векторов, стволовых клеток костного мозга, синтетических и натуральных полимеров; синтетические пептидные миметики и т.д.) [6, 10].

Заключение

Остановка системного кровообращения приводит к существенному повреждению популяции клеток Пуркинье мозжечка — снижению общего числа нейронов. При этом гибнут BDNF-негативные клетки. Способность к экспрессии белка BDNF является важным фактором, повышающим устойчивость нейронов к гибели в постреанимационном периоде. Это обуславливает перспективность использования BDNF для разработки новых подходов к защите мозга при ишемии-реперфузии.

Литература

1. Schneider A., Böttiger B.W., Popp E. Cerebral resuscitation after cardiocirculatory arrest. *Anesth. Analg.* 2009; 108 (3): 971–979. <http://dx.doi.org/10.1213/ane.0b013e318193ca99>. PMID:19224811
2. Huang L., Applegate P.M., Gatling J.W., Mangus D.B., Zhang J., Applegate R.L. A systematic review of neuroprotective strategies after cardiac arrest: from bench to bedside (part II-comprehensive protection). *Med. Gas Res.* 2014; 4: 10. <http://dx.doi.org/10.1186/2045-9912-4-10>. PMID: 25671079
3. Аверущенко М.И., Мороз В.В., Острова И.В. Постреанимационные изменения мозга на уровне нейрональных популяций: закономерности и механизмы. *Общая реаниматология*. 2012; 8 (4): 69–79. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2012-4-69>
4. Острова И.В., Аверущенко М.И., Волков А.В. Взаимосвязь уровня экспрессии белка GRP78 с выраженностью постischemического повреждения гиппокампа у крыс разного пола. *Общая реаниматология*. 2011; 7 (6): 28–33. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2011-6-28>
5. Аверущенко М.И., Острова И.В., Волков А.В. Постреанимационные изменения экспрессии глиального нейротрофического фактора (GDNF): взаимосвязь с повреждением клеток Пуркинье мозжечка (экспериментальное исследование). *Общая реаниматология*. 2014; 10 (5): 59–68. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2014-5-59-68>
6. Chen A.I., Xiong L.-J., Tong Y.U., Mao M. The neuroprotective roles of BDNF in hypoxic ischemic brain injury. *Biomed. Rep.* 2013; 1 (2): 167–176. <http://dx.doi.org/10.3892/br.2012.48>. PMID: 24648914
7. Ishrat T., Sayeed I., Atif F., Hua F., Stein D.G. Progesterone is neuroprotective against ischemic brain injury through its effects on the PI3K/Akt signaling pathway. *Neuroscience*. 2012; 210: 442–450. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroscience.2012.03.008>. PMID: 22450229
8. Kim G., Kim E. The effects of antecedent exercise on motor function recovery and brain-derived neurotrophic factor expression after focal cerebral ischemia in rats. *J. Phys. Ther. Sci.* 2013; 25 (5): 553–556. <http://dx.doi.org/10.1589/jpts.25.553>. PMID: 24259800
9. Singh M., Su C. Progesterone-induced neuroprotection: factors that may predict therapeutic efficacy. *Brain Res.* 2013; 1514: 98–106. <http://dx.doi.org/10.1016/j.brainres.2013.01.027>. PMID: 23340161
10. Géral C., Angelova A., Lesieur S. From molecular to nanotechnology strategies for delivery of neurotrophins: emphasis on brain-derived neurotrophic factor (BDNF). *Pharmaceutics*. 2013; 5 (1): 127–167. <http://dx.doi.org/10.3390/pharmaceutics5010127>. PMID: 24300402
11. Numakawa T. Possible protective action of neurotrophic factors and natural compounds against common neurodegenerative diseases. *Neural. Regen. Res.* 2014; 9 (16): 1506–1508. <http://dx.doi.org/10.4103/1673-5374.139474>. PMID: 25317165
12. Yu H., Chen Z.Y. The role of BDNF in depression on the basis of its location in the neural circuitry. *Acta Pharmacol. Sin.* 2011; 32 (1): 3–11. <http://dx.doi.org/10.1038/aps.2010.184>. PMID: 21131999
13. Dugich-Djordjevic M.M., Peterson C., Isono F., Ohsawa F., Widmer H.R., Denton T.L., Bennett G.L., Hefti F. Immunohistochemical visualization of brain-derived neurotrophic factor in the rat brain. *Eur. J. Neurosci.* 1995; 7 (9): 1831–1839. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1460-9568.1995.tb00703.x>. PMID: 8528456

The perspectives of BDNF use in clinics are commonly discussed. Currently different strategies are being developed to solve the problem of delivering neurotrophins to the brain (transfer systems with viral vectors, bone marrow stem cells, natural and synthetic polymers, synthetic peptide mimetics, etc) [6, 10].

Conclusion

Systemic circulatory arrest leads to significant damage to the cerebellar Purkinje cell population, i.e. reduction of the total number of neurons whereas BDNF-negative cells die. The ability to express the BDNF is indispensable for increasing the resistance of neurons to death in the postoperative period. The data open new perspectives of using BDNF as a main component when developing novel approaches to brain protection from the ischemia-reperfusion-induced damage.

References

1. Schneider A., Böttiger B.W., Popp E. Cerebral resuscitation after cardiocirculatory arrest. *Anesth. Analg.* 2009; 108 (3): 971–979. <http://dx.doi.org/10.1213/ane.0b013e318193ca99>. PMID:19224811
2. Huang L., Applegate P.M., Gatling J.W., Mangus D.B., Zhang J., Applegate R.L. A systematic review of neuroprotective strategies after cardiac arrest: from bench to bedside (part II-comprehensive protection). *Med. Gas Res.* 2014; 4: 10. <http://dx.doi.org/10.1186/2045-9912-4-10>. PMID: 25671079
3. Akrushchenko M.Sh., Moroz V.V., Ostrova I.V. Postreanimatsionnye izmeneniya mozga na urovne neironalnykh populyatsii: zakonomernosti i mekhanizmy. *Obshchaya Reanimatologiya*. [Postresuscitation changes in the brain at the level of neuronal populations: patterns and mechanisms. *General Reanimatology*]. 2012; 8 (4): 69–79. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2012-4-69>. [In Russ.]
4. Ostrova I.V., Akrushchenko M.Sh., Volkov A.V. Vzaimosvyaz urovnya ekspressii belka GRP78 s vyrazhennostyu postischemicheskogo povrezhdeniya gippokampa u krys raznogo pola. *Obshchaya Reanimatologiya*. [Association of GRP78 protein expression with the degree of postischemic hippocampal damage in rats of both sexes. *General Reanimatology*]. 2011; 7 (6): 28–33. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2011-6-28>. [In Russ.]
5. Akrushchenko M.Sh., Ostrova I.V., Volkov A.V. Postreanimatsionnye izmeneniya ekspressii glialnogo neirotroficheskogo faktora (GDNF): vzaimosvyaz s povrezhdeniem kletok Purkinje mozhechka (eksperimentalnoe issledovanie). *Obshchaya Reanimatologiya*. [Postresuscitation changes in the expression of Glial-Derived Neurotrophic Factor (GDNF): association with cerebellar Purkinje cell damage (an experimental study). *General Reanimatology*]. 2014; 10 (5): 59–68. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2014-5-59-68>. [In Russ.]
6. Chen A.I., Xiong L.-J., Tong Y.U., Mao M. The neuroprotective roles of BDNF in hypoxic ischemic brain injury. *Biomed. Rep.* 2013; 1 (2): 167–176. <http://dx.doi.org/10.3892/br.2012.48>. PMID: 24648914
7. Ishrat T., Sayeed I., Atif F., Hua F., Stein D.G. Progesterone is neuroprotective against ischemic brain injury through its effects on the PI3K/Akt signaling pathway. *Neuroscience*. 2012; 210: 442–450. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroscience.2012.03.008>. PMID: 22450229
8. Kim G., Kim E. The effects of antecedent exercise on motor function recovery and brain-derived neurotrophic factor expression after focal cerebral ischemia in rats. *J. Phys. Ther. Sci.* 2013; 25 (5): 553–556. <http://dx.doi.org/10.1589/jpts.25.553>. PMID: 24259800
9. Singh M., Su C. Progesterone-induced neuroprotection: factors that may predict therapeutic efficacy. *Brain Res.* 2013; 1514: 98–106. <http://dx.doi.org/10.1016/j.brainres.2013.01.027>. PMID: 23340161
10. Géral C., Angelova A., Lesieur S. From molecular to nanotechnology strategies for delivery of neurotrophins: emphasis on brain-derived neurotrophic factor (BDNF). *Pharmaceutics*. 2013; 5 (1): 127–167. <http://dx.doi.org/10.3390/pharmaceutics5010127>. PMID: 24300402
11. Numakawa T. Possible protective action of neurotrophic factors and natural compounds against common neurodegenerative diseases. *Neural. Regen. Res.* 2014; 9 (16): 1506–1508. <http://dx.doi.org/10.4103/1673-5374.139474>. PMID: 25317165
12. Yu H., Chen Z.Y. The role of BDNF in depression on the basis of its location in the neural circuitry. *Acta Pharmacol. Sin.* 2011; 32 (1): 3–11. <http://dx.doi.org/10.1038/aps.2010.184>. PMID: 21131999

Original Observation

14. *Tapia-Arancibia L., Rage F., Givalois L., Arancibia S.* Physiology of BDNF: focus on hypothalamic function. *Front. Neuroendocrinol.* 2004; 25 (2): 77–107. PMID: 15571756
15. *Gobbo O.L., O'Mara S.M.* Impact of enriched-environment housing on brain-derived neurotrophic factor and on cognitive performance after a transient global ischemia. *Behav. Brain Res.* 2004; 152 (2): 231–241. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2003.10.017>. PMID: 15196790
16. *Ploughman M., Windle V., MacLellan C.L., White N., Doré J.J., Corbett D.* Brain-derived neurotrophic factor contributes to recovery of skilled reaching after focal ischemia in rats. *Stroke.* 2009; 40 (4): 1490–1495. <http://dx.doi.org/10.1161/STROKEAHA.108.531806>. PMID: 19164786
17. *Shih P.C., Yang Y.R., Wang R.Y.* Effects of exercise intensity on spatial memory performance and hippocampal synaptic plasticity in transient brain ischemic rats. *PLoS One.* 2013; 8 (10): e78163. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0078163>. PMID: 24205142
18. *Бедунова М.В., Сахарнова Т.А., Митрошина Е.В., Мухина И.В.* Антигипоксические свойства нейротрофического фактора головного мозга при моделировании гипоксии в диссоциированных культурах гиппокампа. *Соврем. технологии в медицине.* 2012; 4: 17–23.
19. *Liu Z., Ma D., Feng G., Ma Y., Hu H.* Recombinant AAV-mediated expression of human BDNF protects neurons against cell apoptosis in Abeta-induced neuronal damage model. *J. Huazhong Univ. Sci. Technol. Med. Sci.* 2007; 27 (3): 233–236. PMID: 17641830
20. *Takeshima Y., Nakamura M., Miyake H., Tamaki R., Inui T., Horiuchi K., Wajima D., Nakase H.* Neuroprotection with intraventricular brain-derived neurotrophic factor in rat venous occlusion model. *Neurosurgery.* 2011; 68 (5): 1334–1341. <http://dx.doi.org/10.1227/NEU.0b013e31820c048e>. PMID: 21307800
21. *Schäbitz W.R., Sommer C., Zoder W., Kiessling M., Schwanager M., Schwab S.* Intravenous brain-derived neurotrophic factor reduces infarct size and counterregulates Bax and Bcl-2 expression after temporary focal cerebral ischemia. *Stroke.* 2000; 31 (9): 2212–2217. <http://dx.doi.org/10.1161/01.STR.31.9.2212>. PMID: 10978054
22. *Zhang Y., Pardridge W.M.* Blood-brain barrier targeting of BDNF improves motor function in rats with middle cerebral artery occlusion. *Brain Res.* 2006; 1111 (1): 227–229. <http://dx.doi.org/10.1016/j.brainres.2006.07.005>. PMID: 16884698
23. *Kim D.H., Zhao X., Tu C.H., Casaccia-Bonnel P., Chao M.V.* Prevention of apoptotic but not necrotic cell death following neuronal injury by neurotrophins signaling through the tyrosine kinase receptor. *J. Neurosurg.* 2004; 100 (1): 79–87. PMID: 14743916
24. *D'Cruz B.J., Fertig K.C., Filiano A.J., Hicks S.D., DeFranco D.B., Callaway C.W.* Hypothermic reperfusion after cardiac arrest augments brain-derived neurotrophic factor activation. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2002; 22 (7): 843–851. <http://dx.doi.org/10.1097/00004647-200207000-00009>. PMID: 12142569
25. *Ostrowski R.P., Graupner G., Titova E., Zhang J., Dach N., Corleone D., Tang J., Zhang J.H.* The hyperbaric oxygen preconditioning-induced brain is mediated by a reduction of early apoptosis after transient cerebral ischemia. *Neurobiol. Dis.* 2008; 29 (1): 1–13. PMID: 17822911
26. *Lee T.H., Yang J.T., Ko Y.S., Kato H., Itoyama Y., Kogure K.* Influence of ischemic preconditioning on levels of nerve growth factor, brain-derived neurotrophic factor and their high-affinity receptors in hippocampus following forebrain ischemia. *Brain Res.* 2008; 1187: 1–11. PMID: 18036511
27. *Ставчанский В.В., Творогова Т.В., Боцина А.Ю., Скворцова В.И., Лимборская С.А., Мясоедов Н.Ф., Дергунова Л.В.* Семакс и его C-концевой фрагмент PGP влияют на экспрессию генов нейротрофинов и их рецепторов в условиях неполной глобальной ишемии мозга крыс. *Молекулярная биология.* 2011; 45 (6): 1026–1035. PMID: 22295573
28. *Shu X., Zhang Y., Xu H., Kang K., Cai D.* Brain-derived neurotrophic factor inhibits glucose intolerance after cerebral ischemia. *Neural. Regen. Res.* 2013; 8 (25): 2370–2378. <http://dx.doi.org/10.3969/j.issn.1673-5374.2013.25.008>. PMID: 25206547
29. *Miyake K., Yamamoto W., Tadokoro M., Takagi N., Sasakawa K., Nitta A., Furukawa S., Takeo S.* Alterations in hippocampal GAP-43, BDNF, and L1 following sustained cerebral ischemia. *Brain Res.* 2002; 935 (1–2): 24–31. [http://dx.doi.org/10.1016/S0006-8993\(02\)02420-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0006-8993(02)02420-4). PMID: 12062469
30. *Uchida H., Yokoyama H., Kimoto H., Kato H., Araki T.* Long-term changes in the ipsilateral substantia nigra after transient focal cerebral ischaemia in rats. *Int. J. Exp. Pathol.* 2010; 91 (3): 256–266. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2613.2010.00712.x>. PMID: 20353427
31. *Корпачев В.Г., Лысенков С.П., Тель Л.З.* Моделирование клинической смерти и посттранзиторной болезни у крыс. *Патол. физиол. и эксперим. терапия.* 1982; 3: 78–80. PMID: 7122145
32. *Ritter C., Miranda A.S., Giombelli V.R., Tomasi C.D., Comim C.M., Teixeira A.L., Quevedo J., Dal-Pizzol F.* Brain-derived neurotrophic factor plasma levels are associated with mortality in critically ill patients even in the absence of brain injury. *Crit. Care.* 2012; 16 (6): R234. <http://dx.doi.org/10.1186/cc11902>. PMID: 23245494
13. *Dugich-Djordjevic M.M., Peterson C., Isono F., Ohsawa F., Widmer H.R., Denton T.L., Bennett G.L., Hefti F.* Immunohistochemical visualization of brain-derived neurotrophic factor in the rat brain. *Eur. J. Neurosci.* 1995; 7 (9): 1831–1839. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1460-9568.1995.tb00703.x>. PMID: 8528456
14. *Tapia-Arancibia L., Rage F., Givalois L., Arancibia S.* Physiology of BDNF: focus on hypothalamic function. *Front. Neuroendocrinol.* 2004; 25 (2): 77–107. PMID: 15571756
15. *Gobbo O.L., O'Mara S.M.* Impact of enriched-environment housing on brain-derived neurotrophic factor and on cognitive performance after a transient global ischemia. *Behav. Brain Res.* 2004; 152 (2): 231–241. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2003.10.017>. PMID: 15196790
16. *Ploughman M., Windle V., MacLellan C.L., White N., Doré J.J., Corbett D.* Brain-derived neurotrophic factor contributes to recovery of skilled reaching after focal ischemia in rats. *Stroke.* 2009; 40 (4): 1490–1495. <http://dx.doi.org/10.1161/STROKEAHA.108.531806>. PMID: 19164786
17. *Shih P.C., Yang Y.R., Wang R.Y.* Effects of exercise intensity on spatial memory performance and hippocampal synaptic plasticity in transient brain ischemic rats. *PLoS One.* 2013; 8 (10): e78163. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0078163>. PMID: 24205142
18. *Vedunova M.V., Sakharova T.A., Mitroshina E.V., Mukhina I.V.* Антигипоксические свойства нейротрофического фактора головного мозга при моделировании гипоксии в диссоциированных культурах гиппокампа. [Antihypoxia properties of brain-derived neurotrophic factor in the simulation of hypoxia in dissociated hippocampal cultures]. *Современные Технологии в Медицине.* 2012; 4: 17–23. [In Russ.]
19. *Liu Z., Ma D., Feng G., Ma Y., Hu H.* Recombinant AAV-mediated expression of human BDNF protects neurons against cell apoptosis in Abeta-induced neuronal damage model. *J. Huazhong Univ. Sci. Technol. Med. Sci.* 2007; 27 (3): 233–236. PMID: 17641830
20. *Takeshima Y., Nakamura M., Miyake H., Tamaki R., Inui T., Horiuchi K., Wajima D., Nakase H.* Neuroprotection with intraventricular brain-derived neurotrophic factor in rat venous occlusion model. *Neurosurgery.* 2011; 68 (5): 1334–1341. <http://dx.doi.org/10.1227/NEU.0b013e31820c048e>. PMID: 21307800
21. *Schäbitz W.R., Sommer C., Zoder W., Kiessling M., Schwanager M., Schwab S.* Intravenous brain-derived neurotrophic factor reduces infarct size and counterregulates Bax and Bcl-2 expression after temporary focal cerebral ischemia. *Stroke.* 2000; 31 (9): 2212–2217. <http://dx.doi.org/10.1161/01.STR.31.9.2212>. PMID: 10978054
22. *Zhang Y., Pardridge W.M.* Blood-brain barrier targeting of BDNF improves motor function in rats with middle cerebral artery occlusion. *Brain Res.* 2006; 1111 (1): 227–229. <http://dx.doi.org/10.1016/j.brainres.2006.07.005>. PMID: 16884698
23. *Kim D.H., Zhao X., Tu C.H., Casaccia-Bonnel P., Chao M.V.* Prevention of apoptotic but not necrotic cell death following neuronal injury by neurotrophins signaling through the tyrosine kinase receptor. *J. Neurosurg.* 2004; 100 (1): 79–87. PMID: 14743916
24. *D'Cruz B.J., Fertig K.C., Filiano A.J., Hicks S.D., DeFranco D.B., Callaway C.W.* Hypothermic reperfusion after cardiac arrest augments brain-derived neurotrophic factor activation. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2002; 22 (7): 843–851. <http://dx.doi.org/10.1097/00004647-200207000-00009>. PMID: 12142569
25. *Ostrowski R.P., Graupner G., Titova E., Zhang J., Dach N., Corleone D., Tang J., Zhang J.H.* The hyperbaric oxygen preconditioning-induced brain is mediated by a reduction of early apoptosis after transient cerebral ischemia. *Neurobiol. Dis.* 2008; 29 (1): 1–13. PMID: 17822911
26. *Lee T.H., Yang J.T., Ko Y.S., Kato H., Itoyama Y., Kogure K.* Influence of ischemic preconditioning on levels of nerve growth factor, brain-derived neurotrophic factor and their high-affinity receptors in hippocampus following forebrain ischemia. *Brain Res.* 2008; 1187: 1–11. PMID: 18036511
27. *Ставчанский В.В., Творогова Т.В., Боцина А.Ю., Скворцова В.И., Лимборская С.А., Мясоедов Н.Ф., Дергунова Л.В.* Семакс и его C-концевой фрагмент PGP влияют на экспрессию генов нейротрофинов и их рецепторов в условиях неполной глобальной ишемии мозга крыс. [The effect of semax and its C-end peptide PGP on expression of the neurotrophins and their receptors in the rat brain during incomplete global ischemia]. *Молекулярная Биология.* 2011; 45 (6): 1026–1035. PMID: 22295573. [In Russ.]
28. *Shu X., Zhang Y., Xu H., Kang K., Cai D.* Brain-derived neurotrophic factor inhibits glucose intolerance after cerebral ischemia. *Neural. Regen. Res.* 2013; 8 (25): 2370–2378. <http://dx.doi.org/10.3969/j.issn.1673-5374.2013.25.008>. PMID: 25206547
29. *Miyake K., Yamamoto W., Tadokoro M., Takagi N., Sasakawa K., Nitta A., Furukawa S., Takeo S.* Alterations in hippocampal GAP-43, BDNF, and L1 following sustained cerebral ischemia. *Brain Res.* 2002; 935 (1–2): 24–31. [http://dx.doi.org/10.1016/S0006-8993\(02\)02420-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0006-8993(02)02420-4). PMID: 12062469
30. *Uchida H., Yokoyama H., Kimoto H., Kato H., Araki T.* Long-term changes in the ipsilateral substantia nigra after transient focal cerebral ischaemia in rats. *Int. J. Exp. Pathol.* 2010; 91 (3): 256–266. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2613.2010.00712.x>. PMID: 20353427

33. Живолупов С.А., Самарцев И.Н., Марченко А.А., Пуляткина О.В. Прогностическое значение содержания в крови нейротрофического фактора мозга (BDNF) при терапии некоторых функциональных и органических заболеваний нервной системы с применением адаптола. *Журн. неврологии и психиатрии им. С.С.Корсакова*. 2012; 112 (4): 37–41. PMID: 22810739
34. Pikula A., Beiser A.S., Chen T.C., Preis S.R., Vargias D., DeCarli C., Au R., Kelly-Hayes M., Kase C.S., Wolf P.A., Vasan R.S., Seshadri S. Serum brain-derived neurotrophic factor and vascular endothelial growth factor levels are associated with risk of stroke and vascular brain injury: framingham study. *Stroke*. 2013; 44 (10): 2768–2775. <http://dx.doi.org/10.1161/STROKEAHA.113.001447>. PMID: 23929745
35. Голосная Г.С., Петрухин А.С., Терентьев А.А., Дуленков А.Б. Нейротрофический фактор головного мозга (BDNF) в ранней диагностике внутримозговых кровоизлияний и перивентрикулярной лейкомаляции у новорожденных детей. *Вопросы соврем. педиатрии*. 2005; 4 (3): 13–18.
36. Попова Ю.Ю., Желев В.А., Михалев Е.В., Филиппов Г.П., Барановская С.В., Ермоленко С.П. Характеристика нейроспецифических маркеров у глубококондоношенных новорожденных с гипоксическим поражением центральной нервной системы. *Сибирский мед. журнал (Томск)*. 2007; 22 (4): 5–10.
37. Kiprianova I., Freiman T.M., Desiderato S., Schwab S., Galmbacher R., Gillardon F., Spranger M. Brain-derived neurotrophic factor prevents neuronal death and glial activation after global ischemia in the rat. *J. Neurosci. Res.* 1999; 56 (1): 21–27. [http://dx.doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4547\(19990401\)56:1%3C21::AID-JNR3%3E3.0.CO;2-Q](http://dx.doi.org/10.1002/(SICI)1097-4547(19990401)56:1%3C21::AID-JNR3%3E3.0.CO;2-Q). PMID: 10213471
38. Narantuya D., Nagai A., Sheikh A.M., Masuda J., Kobayashi S., Yamaguchi S., Kim S.U. Human microglia transplanted in rat focal ischemia brain induce neuroprotection and behavioral improvement. *PLoS One*. 2010; 5 (7): e11746. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0011746>. PMID: 20668522
31. Korpachev V.G., Lysenkov S.P., Tel L.Z. Modelirovanie klinicheskoi smerti i postreanimatsionnoi bolezni u krysa. [Modeling clinical death and postresuscitation disease in rats]. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimentalnaya Terapiya*. 1982; 3: 78–80. PMID: 7122145. [In Russ.]
32. Ritter C., Miranda A.S., Giombelli V.R., Tomasi C.D., Comim C.M., Teixeira A.L., Quevedo J., Dal-Pizzol F. Brain-derived neurotrophic factor plasma levels are associated with mortality in critically ill patients even in the absence of brain injury. *Crit. Care*. 2012; 16 (6): R234. <http://dx.doi.org/10.1186/cc11902>. PMID: 23245494
33. Zhivolupov S.A., Samartsev I.N., Marchenko A.A., Pulyatkin O.V. Prognosticheskoe znachenie sodержaniya v krovi neirotroficheskogo faktora mozga (BDNF) pri terapii nekotorykh funktsionalnykh i organicheskikh zabolevaniy nervnoi sistemy s primeneniem adaptola. [The prognostic significance of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) for phobic anxiety disorders, vegetative and cognitive impairments during conservative treatment including adaptol of some functional and organic diseases of nervous system]. *Zhurnal Nevrologii i Psikiatrii Imeni S.S.Korsakova*. 2012; 112 (4): 37–41. PMID: 22810739. [In Russ.]
34. Pikula A., Beiser A.S., Chen T.C., Preis S.R., Vargias D., DeCarli C., Au R., Kelly-Hayes M., Kase C.S., Wolf P.A., Vasan R.S., Seshadri S. Serum brain-derived neurotrophic factor and vascular endothelial growth factor levels are associated with risk of stroke and vascular brain injury: framingham study. *Stroke*. 2013; 44 (10): 2768–2775. <http://dx.doi.org/10.1161/STROKEAHA.113.001447>. PMID: 23929745
35. Golosnaya G.S., Petrukhin A.S., Terentyev A.A., Dulenkov A.B. Neirotrofichesky faktor golovnoego mozga (BDNF) v rannei diagnostike vnutrizheludochkovykh krovoizliyanii i periventrikulyarnoi leukomaliyatsii u novorozhdennykh detei. [The brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in early diagnostics of intraventricular hemorrhages and periventricular leukomalacia in neonates]. *Voprosy Sovremennoi Pediatrii*. 2005; 4 (3): 13–18. [In Russ.]
36. Popova Yu.Yu., Zhelev V.A., Mikhalev E.V., Filippov G.P., Baranovskaya S.V., Ermolenko S.P. Kharakteristika neirospetsificheskikh markerov u glubokonedonoshennykh novorozhdennykh s gipoksicheskim porazheniem tsentralnoi nervnoi sistemy. [Characteristics of neurospecific markers in premature newborns having hypoxic injury of central nervous system]. *Sibirsky Meditsinsky Zhurnal (Tomsk)*. 2007; 22 (4): 5–10. [In Russ.]
37. Kiprianova I., Freiman T.M., Desiderato S., Schwab S., Galmbacher R., Gillardon F., Spranger M. Brain-derived neurotrophic factor prevents neuronal death and glial activation after global ischemia in the rat. *J. Neurosci. Res.* 1999; 56 (1): 21–27. [http://dx.doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4547\(19990401\)56:1%3C21::AID-JNR3%3E3.0.CO;2-Q](http://dx.doi.org/10.1002/(SICI)1097-4547(19990401)56:1%3C21::AID-JNR3%3E3.0.CO;2-Q). PMID: 10213471
38. Narantuya D., Nagai A., Sheikh A.M., Masuda J., Kobayashi S., Yamaguchi S., Kim S.U. Human microglia transplanted in rat focal ischemia brain induce neuroprotection and behavioral improvement. *PLoS One*. 2010; 5 (7): e11746. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0011746>. PMID: 20668522

Поступила 18.02.2015

Submitted 18.02.2015

ВЛИЯНИЕ ЦЕЛЕНАПРАВЛЕННОЙ ТЕРАПИИ РАЗЛИЧНЫМИ ИНФУЗИОННЫМИ СРЕДАМИ НА СОДЕРЖАНИЕ ВНЕСОСУДИСТОЙ ВОДЫ ЛЕГКИХ У КАРДИОХИРУРГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ

Г. Б. Мороз, Е. В. Фоминский, А. Н. Шилова, А. М. Караськов,
И. А. Корнилов, М. Г. Пустоветова, В. В. Ломиворотов

Новосибирский НИИ патологии кровообращения им. академика Е.Н. Мешалкина Минздрава России
Россия, 630055, г. Новосибирск, ул. Речкуновская, 15

Impact of Goal-Oriented Therapy with Different Infusion Media on Pulmonary Extravascular Water Levels in Cardiac Surgery Patients

G. B. Moroz, E. V. Fominsky, A. N. Shilova, A. M. Karaskov,
I. A. Kornilov, M. G. Pustovetova, V. V. Lomivorotov

Academician E. N. Meshalkin Novosibirsk Research Institute of Circulation Pathology, Ministry of Health of the Russian Federation
15, Rechkunovskaya St., Novosibirsk 630055, Russia

Цель работы. Изучить влияние целенаправленной инфузионной терапии с использованием сбалансированного солевого раствора, 4% сукцинированного желатина и 6% раствора гидроксиэтилированного крахмала 130/0,42 на содержание внесосудистой воды легких у больных ишемической болезнью сердца, оперированных в условиях искусственного кровообращения. **Материалы и методы.** Проведено проспективное, рандомизированное, простое слепое, клиническое исследование, изучающее влияние целенаправленной инфузионной терапии с использованием сбалансированного солевого раствора, 4% сукцинированного желатина и 6% раствора гидроксиэтилированного крахмала 130/0,42 на содержание внесосудистой воды легких у больных ишемической болезнью сердца, оперированных в условиях искусственного кровообращения. Целевым показателем гемодинамики был индекс глобального конечного диастолического объема, он поддерживался в пределах 680–850 мл/м². Внесосудистая вода легких измерялась при помощи метода транспульмональной термодилуции, также исследовали гидробаланс, лактат, сатурацию смешанной венозной крови, параметры гемодинамики, концентрацию тропонина I. **Результаты.** Анализ значений индекса внесосудистой воды легких на протяжении исследования не выявил различий в содержании внесосудистой воды легких между группами. Для поддержания гемодинамики в интраоперационном и послеоперационном периоде требовались большие объемы сбалансированного кристаллоидного раствора. В группе кристаллоидов баланс за операцию был значительно выше и составил 2000 [1415–2200] мл; в группе с применением желатина – 1020 [650–1563] мл; в группе с применением раствора гидроксиэтилированного крахмала – 1070 [550–1675] мл ($p=0,001$). Сатурация смешанной венозной крови, лактат, концентрация тропонина I были сопоставимы на этапах исследования между группами. **Заключение.** Выявлено, что инфузионная терапия с использованием сбалансированного солевого раствора не приводит к увеличению содержания внесосудистой воды легких у больных ишемической болезнью сердца, оперированных в условиях искусственного кровообращения, наравне с инфузионной терапией на основе коллоидных растворов. Для достижения целевых показателей гемодинамики требуется больший объем кристаллоидного раствора, чем при использовании коллоидных инфузионных сред. **Ключевые слова:** инфузионная терапия; кристаллоидные растворы; коллоидные растворы; транспульмональная термодилуция; внесосудистая вода легких; индекс глобального конечного диастолического объема; гидробаланс.

Objective: to study the impact of goal-oriented infusion therapy using balanced salt solution, 4% succinylated gelatin, and 6% hydroxyethyl starch 130/0.42 solution on pulmonary extravascular water levels in coronary heart disease patients operated on under extracorporeal circulation. **Materials and methods.** A prospective, randomized, single-blind clinical study investigating the impact of goal-oriented infusion therapy using balanced salt solution, 4% succinylated gelatin, and 6% hydroxyethyl starch 130/0.42 solution on pulmonary extravascular water levels was conducted in coronary heart disease patients operated on under extracorporeal circulation. The hemodynamic target was the global end-diastolic volume index which was maintained in the range from 680 to 850 ml/m². Pulmonary extravascular water was measured by a transpulmonary thermodilution technique; hydrobalance, lactate, mixed venous oxygen saturation, hemodynamic parameters, and troponin I concentrations were also investigated. **Results.** Analysis of the values of the pulmonary extravascular water index revealed no differences between the groups in pulmonary extravascular water levels throughout the study. Large volumes of balanced crystalloid solution were required to maintain intraoperative and postoperative hemodynamics. Balance

Адрес для корреспонденции:

Глеб Мороз
E-mail: glebmoroz@gmail.com

Correspondence to:

Gleb Moroz
E-mail: glebmoroz@gmail.com

after surgery was considerably higher and amounted to 2000 [1415–2200] ml in the crystalloid group, 1020 [650–1563] ml in the gelatin group, and 1070 [550–1675] ml in the hydroxyethyl starch solution ($p=0.001$). Mixed venous oxygen saturation, lactate, and troponin I concentrations were comparable between the groups at the study stages. **Conclusion.** It was found the infusion therapy using balanced salt solution failed to result in an increase in pulmonary extravascular water levels in coronary heart disease patients operated on under extracorporeal circulation as did colloid solution-based infusion therapy. Achieving hemodynamic targets requires a large volume of crystalloid solution than the use of colloid infusion solution. **Key words:** infusion therapy, crystalloid solutions, colloid solutions, transpulmonary thermodilution, pulmonary extravascular water, global end-diastolic volume index, hydrobalance.

DOI:10.15360/1813-9779-2015-3-54-64

Введение

Инфузионная терапия является важным и неотъемлемым компонентом обеспечения кардиохирургических операций и раннего послеоперационного периода. Для поддержания оптимальных показателей гемодинамики важным звеном является адекватный волемический статус. На сегодняшний день существует большой выбор различных инфузионных сред, которые в зависимости от своих физико-химических разделяются на две основные группы: коллоидные и кристаллоидные растворы. Известно, что коллоидные растворы имеют ряд преимуществ над кристаллоидными: для восполнения объема внутрисосудистой жидкости требуется значительно меньший объем раствора, они способствуют более быстрому восполнению внутрисосудистого объема и не приводят к развитию тканевого отека [1–4]. Считается, что большие объемы кристаллоидов способны приводить к тканевому отеку, в том числе и отеку легочной ткани [5].

Известно, что положительный водный баланс и обусловленный им отек тканей в послеоперационном периоде увеличивают количество осложнений и уровень летальности [6–7]. С другой стороны кристаллоидные растворы не оказывают отрицательного влияния на функцию почек, не способствуют нарушениям коагуляции, не вызывают аллергических реакций, в отличие от коллоидов [8–12].

В исследованиях последних лет ставятся под сомнения причисленные преимущества коллоидов. Показано, что возникновение отека легких и респираторные нарушения не связаны каким-либо образом с типом применяемого раствора [13]. В исследованиях у пациентов с сепсисом и септическим шоком выявлено, что для достижения целевых гемодинамических параметров требуется лишь на 30% меньший объем коллоидных растворов по сравнению с кристаллоидными, при этом риск развития тканевого отека сопоставим при использовании обеих групп инфузионных сред [13–15]. Данные о преимуществах коллоидов над кристаллоидами у кардиохирургических пациентов также неоднозначны [16].

Принимая во внимание перечисленные факты и их противоречивость, целью настоящего исследования было изучение влияния инфузионной терапии на основе современных растворов на формирование отека тканей у больных ИБС, которым была выполнена реваскуляризация миокарда в условиях искусственного кровообращения.

Introduction

Infusion therapy is one of the important components of anesthetic management in cardiac surgery and early postoperative period. The volume status of patient is important to support hemodynamic goals. The fluids are divided into two main groups: colloids and crystalloids. Colloids possess several advantages over crystalloids. The main advantage is that colloids cause less tissue swelling [1–4]. It is believed, that large amounts of crystalloids can lead to tissue edema, including pulmonary edema [5]. Positive water balance and tissue swelling in postoperative period increase the number of complications and mortality rates [6, 7]. However, crystalloids do not affect renal function, do not promote coagulation disturbances and do not cause allergic reactions, unlike the colloids [8–12].

Data from recent studies have called into question this advantage of colloid solutions. It is shown that the occurrence of pulmonary edema and respiratory disorders is not related in any way to the type of the used solution [13]. In studies in patients with sepsis and septic shock it is revealed that in order to achieve hemodynamic goals it requires only 30% smaller volume of colloids compared to crystalloids, with the risk of tissue edema comparable in both groups [13–15]. Data about benefits of colloids over crystalloids in cardiac surgery patients are also ambiguous [16].

Taking into account these facts and their inconsistency, the purpose of the present study was to investigate the effect of infusion therapy based on modern solutions on the formation of edema in patients with coronary artery disease who underwent myocardial revascularization with cardiopulmonary bypass.

Materials and Methods

During period from January, 2013 to June, 2014 a prospective, randomized, single-blind clinical trial was performed. Informed consent form was signed by all participants in the study. Inclusion criteria: patients with coronary artery disease with strong indications for CABG with CPB. Exclusion criteria: emergency surgery, patients age above 75 years, left ventricular ejection fraction less than 40%, myocardial infarction less than 6 months ago, glomerular filtration rate less than 60 ml/min, the patient's body mass index less than 20 or more than 35 kg/m².

The study included 91 patients with coronary artery disease. All patients underwent coronary artery bypass surgery with cardiopulmonary bypass. Patients were randomly allocated by sealed envelopes into 3 groups: balanced crystalloid solution group (ster), gelatin-group (gel), HES 6%-group (tetr). In every group patients received appropriate solution for CPB prime and to providing the hemodynamic goals (Global end diastolic volume index (GEDVI) – 680–850 ml/m²). Infusion therapy for physiological fluid requirements, compensation for loss of water and electrolytes

Материал и методы

В период с января 2013 г. по июнь 2014 г. проведено проспективное, рандомизированное, простое слепое, клиническое исследование. Было получено одобрение локального этического комитета на проведение исследования. Форма информированного согласия подписана всеми участниками исследования. Критерии включения: пациенты с ишемической болезнью сердца (ИБС), которым была показана реваскуляризация миокарда в условиях искусственного кровообращения (ИК).

Критериями исключения являлись: экстренное хирургическое вмешательство, возраст пациента старше 75 лет, фракция выброса левого желудочка менее 40%, перенесенный инфаркт миокарда давностью менее 6 месяцев, скорость клубочковой фильтрации менее 60 мл/мин, индекс массы тела пациента менее 20 или более 35 кг/м².

В исследовании принял участие 91 пациент с ИБС. Всем пациентам была проведена операция аортокоронарного шунтирования в условиях искусственного кровообращения. В день оперативного вмешательства пациенты были рандомизированы при помощи метода запечатанных конвертов на три группы: группа Ster — инфузионная терапия с использованием сбалансированного солевого раствора (Стерофундин изотонический, B. Braun, Германия); группа Gel — инфузионная терапия с использованием 4% раствора сукцинированного желатина (Гелофузин, B. Braun, Германия); группа Tetr — инфузионная терапия с использованием 6% раствора гидроксиэтилированного крахмала (ГЭК) 130/0,42 в сбалансированном солевом растворе (Тетраспан, B. Braun, Германия). Инфузионную терапию для обеспечения физиологической потребности в жидкости, возмещения потерь воды и электролитов, связанных с предшествующим ограничением приема жидкости и пищи, перспирацией, испарением, а также диурезом, во всех группах проводили с использованием сбалансированного солевого раствора (Стерофундин изотонический). Для этих целей раствор вводился во время оперативного вмешательства со скоростью 3–4 мл/кг/ч, в послеоперационном периоде до окончания первых суток со скоростью 2 мл/кг/ч. Для технологического обеспечения ИК, а также устранения дефицита внутрисосудистого объема жидкости в каждой группе использовали соответствующий исследуемый раствор (Ster — Стерофундин изотонический; Gel — 4% Гелофузин; в группе Tetr — Тетраспан).

Определение волемического статуса проводили путем измерения индекса глобального конечного диастолического объема (ИГКДО) при помощи метода транспульмональной термодилуции. Определение ИГКДО производили как среднее значение, полученное при трехкратном болюсном введении охлажденного раствора 0,9% NaCl. Раствор термоиндикатора вводили в правое предсердие через проксимальный порт центрального венозного катетера, находящегося во внутренней яремной вене. Значения 680–850 мл/м² являлись целевыми для ИГКДО. При ИГКДО ниже 680 мл/м² проводили инфузию одним из трех растворов в зависимости от групповой принадлежности в объеме 500 мл в течение 30 мин. При ИГКДО выше 850 мл/м² использовали фуросемид, либо проводили инфузию нитроглицерина в зависимости от клинических особенностей. При СИ менее 2,2 л/мин/м² применяли добутамин в стартовой дозе 3,0 мкг/кг/мин. При значениях ИОПСС < 600 дин·с·см⁻⁵/м² применяли норадреналин. Анестезиологическое обеспечение: севофлюран 0,5–1,0 МАК, фентанил 2,5–3,5 мкг/кг/ч, пипекурония бромид (0,1 мг/кг во время индукции), пропофол 2–4 мг/кг/ч (во время ИК). В интра- и послеоперационном периоде использовали идентичный протокол ИВЛ с контролем по объему: дыхательный объем 8 мл/кг должной массы тела, ЧДД 12–14/мин (для поддержания нормокапнии) и ПДКВ с уровнем необходимым для достижения SpO₂ >95% (Fabius Tiro и Evita XL, Dräger, Германия). Резервуар ИК заполняли 1500 мл одного из трех пред-

ассоциированных с prior restricted intake of fluid and food, per-spiration, evaporation and diuresis in all groups were carried out using a balanced crystalloid solution. For these purposes, the solution was introduced during the surgery — 3–4 ml/kg/hr, first day postoperatively — 2 ml/kg/h. For CPB prime and for elimination of the intravascular volume deficit in each group appropriate test solution was used (Ster — Sterofundin isotonic; Gel — gelofusin 4%; in the group Tetr — Tetraspan). To control the volume status GEDVI was measured by transpulmonary thermomodulation method. The aimed values of GEDVI were 680–850 ml/m². If GEDVI was below 680 ml/m² patient received bolus (500ml) of one of the test solutions. If CI was less than 2.2 l/min/m², dobutamine was used in initial dose — 3.0 mkg/kg/min. The anesthetic management was the same in all groups. GEDVI, ELWI and hemodynamic parameters (HR, MAP, CVP, mPAP, PCWP, SVI, CI, SVRI) were measured at: T1 — before surgery (after induction); T2 — 5 minutes before CPB; T3 — 5 minutes after CPB; T4 — the end of surgery; T5 — 2 hours after CPB; T6 — 4 hours after CPB; T7 — 6 hours after CPB; T8 — 12 hours after CPB; T9 — after the first postoperative day (POD). Measurements of CI, ELWI, GEDVI and SVI were done by PiCCO Plus (Pulsion Medical Systems AG). PAP and PCWP were measured using a Swan-Ganz catheter (Corodyn TD, B Braun).

To assess the extent of myocardial damage the level of troponin I (Tn I) in circulation was examined; it was carried out in patients with the disease at stages T1, T3, T7, T9 and on the second POD. Balance was calculated at the end of surgery as the difference between the volume of infusion, diuresis, CPB balance and ultrafiltration, to the end of the first post-operative day — as the difference between the of amount infusion, diuresis and blood loss. To evaluate the acid-base status, water-electrolyte metabolism, SvO₂ and lactate the Rapidlab 865 (Bayer Corporation, UK) was employed. To assess the type of the distribution of variables Kolmogorov-Smirnov test was used. Comparative analysis of quantitative traits in cases of normal distribution of variables was performed by one-way ANOVA. In cases of distribution of the variables far from normality the Kruskal-Wallis test was used. Intergroup comparisons were performed using the criterion of Tukey-Kramer. For comparison of qualitative traits Chi-square or Fisher exact test were used. For all statistical tests the Type I error was set as 0.05. The null hypothesis (no difference) was rejected if the probability (P) did not exceed the Type I error. For statistical analysis MedCalc Statistical Software v12.1.4 (MedCalc Software, Mariakerke, Belgium) was employed.

Results and Discussion

Data of all patients who were included into the study (Ster-31 patients; Gel-29 patients; Tetr-31 patients) were used in the statistical analysis. Demographic and clinical characteristics are presented in Table 1; there is no any difference between groups. Significant difference was revealed among the parameters of intraoperative period in CPB time, aortic cross clamp time and in the number of grafts (data presented in Table 2). Length of stay in the intensive care unit (ICU) and hospital stay were similar in all groups (Table 3)

Measured hemodynamic parameters (HR, MAP, CVP, MPAP, PCWP, SVI, CI, SVRI, PVRI, GEDVI) did not exhibit any significant difference in all stages of the study (Table 4). Analysis of ELWI during the study also demonstrated no difference between groups (Table 5, Figure 1). Analysis of SvO₂ and lactate showed no difference between groups. Moreover, there was no difference between groups in Tn I concentration. Initial values (T1) in all groups were equal to 0±0 мкг/л, then Tn I concen-

ставленных растворов. Проведение нормотермического ИК осуществляли в непulsирующем режиме с объемной скоростью перфузии 2,4–2,5 л/мин/м² и уровнем среднего АД 50–70 мм рт. ст. С целью защиты миокарда антероградно применяли фармакохолодовую (4°C) кристаллоидную кардиopleгию. Во время ИК «по требованию» использовали стандартный протокол ультрафильтрации. Глюкокортикостероидные гормоны не применяли. Антифибринолитическим препаратом был раствор аминокaproновой кислоты (20 г).

Измерение индекса внесосудистой воды легких (ИВСВЛ), ИГКДО, а также показателей гемодинамики (ЧСС, САД, ЦВД, сДЛА, ДЗЛК, ИУО, СИ, индекса системного сосудистого сопротивления (ИССС)), производили на следующих этапах (Т): Т1 – исходно (после индукции анестезии); Т2 – 5 мин до начала ИК; Т3 – 5 мин после ИК; Т4 – конце операции; Т5 – 2 ч после ИК; Т6 – 4 ч после ИК; Т7 – 6 ч после ИК; Т8 – 12 ч после ИК; Т9 – по истечении 1-ых суток после операции. Для измерения СИ, ИВСВЛ, ИГКДО, ИУО применяли систему PiCCO Plus (Pulsion Medical Systems AG, Германия). ДЛА и ДЗЛК определяли, используя катетер Сван-Ганса. Для волюметрического и статического гемодинамического мониторинга катетеризировали левую бедренную артерию 5F термодилуционным катетером (PV2015L20N PULSOCATH; Pulsion Medical Systems AG, Мюнхен, Германия), а также правую внутреннюю яремную вену 7F трехпросветным центральным венозным катетером (Certofix, B Braun) и 8F интродьюсером (Intradyn, B Braun), через последний вводили 7F катетер Сван-Ганса (Corodyn TD, B Braun).

Для оценки степени повреждения миокарда производили определение тропонина I (Tn I), забор крови проводили на этапах Т1, Т3, Т7, Т9, а также на вторые сутки после операции.

Гидробаланс к окончанию операции рассчитывали как разницу между объемом введенных инфузионных сред и диурезом, с учетом баланса ИК и ультрафильтрации, к окончанию 1-го послеоперационного дня – как разницу между объемом введенных инфузионных сред и диурезом, а также кровопотерей.

Для оценки кислотно-основного состояния, водно-электролитного обмена, определения SvO₂ и лактата использовали газоанализатор Rapidlab 865 (Bayer Corporation, Великобритания).

Для оценки характера распределения в совокупности по выборочным данным использовали тест Колмогорова-Смирнова. Сравнительный анализ количественных признаков при их правильном распределении проводился при помощи ANOVA. При неправильном распределении использовали Kruskal-Wallis test. Последующие межгрупповые сравнения проводили с помощью критерия Tukey-Kramer. Для сравнения качественных признаков использовали Chi-square тест или Fisher's exact тест. Для всех статистических критериев ошибку первого рода устанавливали равной 0,05. Нулевая гипотеза (отсутствие различий) отвергалась, если вероятность (*p*) не превышала ошибку первого рода. Для статистического анализа использовали программу MedCalc Statistical Software v12.1.4 (MedCalc Software, Mariakerke, Бельгия).

Результаты и обсуждение

Первичные данные всех пациентов, включенных в исследование (Ster-31 пациент; Gel-29 пациент; Tetr-31 пациент), были использованы в статистическом анализе. Демографические и основные клинические характеристики представлены в табл. 1. Среди них не выявили каких-либо межгрупповых отличий.

Среди показателей интраоперационного периода достоверные различия выявили во времени ИК, времени окклюзии аорты и количестве шунтов (данные

tration was increased 6 hours after surgery to 2.1±0.7 mkg/l, and then to 2 POD accompanied by gradual reduction of troponin I concentration to 0.8±0,6 mkg/l (Table 6).

Total volume of infusion during the surgery was higher in group Ster – 1400 [1400–1900] ml compared with Gel-1400 [1000–1650] and Tetr – 1400 ml [1000–1600] ml (*p*=0.005). However, the amount of solution required to maintain goals of GEDVI and the need for their administering were comparable in all groups. Balance during CPB was also higher in the Ster group – 1150 [880–1430] ml; Gel – in 500 [30–1432] 550 ml; Tetr – [0–1250] ml (*p*=0.029), diuresis during CPB was significantly higher in the Ster group too – 1200 [900–1500] ml, the volume of urine output during CPB in Gel group – 600 [400–663] ml; in Tetr group – 700 [400–1075] ml (*p*=0.001). In all groups, the ultrafiltration volume was comparable, but the requirement for its performance was significantly lower in the Ster group (16%) than in the Gel (59%) and Tetr (61%) groups (*p*=0.001).

The total urine output during the surgery was significantly higher in the Ster group – 2000 [1600–2200] ml than in the Gel and Tetr, 1400 [1175–1713] and 1500 ml [1000–2000] ml, respectively (*p*= 0.016). Even against the backdrop of higher rates of diuresis in Ster group, balance during the surgery in it was 2 times higher and made up 2000 [1415–2200] ml; Gel – in 1020 [650–1563] 1070 ml Tetr – [550–1675] ml (*p*=0.001).

There was no difference between groups in balance for POD-1. Patients in the group Ster, however, required greater volume of infusion to maintain hemodynamic goals. In the Ster group patients received 2690 [2243–4328] ml, in Gel-group – 2150 [1610–2650] ml, in Tetr-group 2100 [1925–2623] ml (*p*=0.005). In the Ster Group there were also higher rates of diuresis (*p*=0.005). It should be noted that the total balance (during the study), summary infusion volume and summary diuresis were significantly higher in the Ster group.

In this study we investigated only balanced types of infusion fluids were studied because they do not lead to a hyperchloremic acidosis and possess higher safety profile in comparison with other solutions employed in surgical patients [17–19] Volumetric monitoring with transpulmonary thermodilution technique was chosen due to the fact that the commonly used indicators CVP and PCWP limit appreciated level of filling of heart chambers, and because they could not predict increasing of stroke volume following administering of intravenous fluids [17, 20, 22]. Global end diastolic volume index was chosen as a goal because it adequately characterizes the filling of heart chambers and is correlated with the data obtained by transesophageal echocardiography and accurately shows the correlation between the stroke volume and preload [17, 23, 24]. Pulmonary extravascular water index is a specific and sensitive indicator of volumetric monitoring, reflecting the liquid content in the lung tissue [25–27]. There is a dependence between ELWI and severity of respiratory dysfunction, and outcomes in ICU

Original Observation

Таблица 1. Периперационная характеристика пациентов.

Table 1. Demographic and clinical characteristics.

Indicators	Values of indicators in the groups			
	Ster (<i>n</i> =31)	Gel (<i>n</i> =29)	Tetr (<i>n</i> =31)	<i>P</i> value
Age (years)	62±6	62±6	61±7	0.74
Female, <i>n</i> (%)	8 (25)	3 (10)	8 (25)	0.23
Body weight index (kg/m ²)	29±3.5	29±3.4	29±2.7	0.99
LV ejection fraction (%)	61±8.4	63±8	61±6	0.50
Postinfarction cardiosclerosis, <i>n</i> (%)	18 (58)	19 (65)	18 (58)	0.79
Chronic heart failure (NYHA)	2.8±0.4	2.7±0.6	3.4±2.2	0.60
Brachiocephalic Trunk atherosclerosis, <i>n</i> (%)	13 (41)	16 (55)	19 (61)	0.29
Stroke in anamnesis, <i>n</i> (%)	1 (3)	5 (17)	1 (3)	0.65
diabetes mellitus, <i>n</i> (%)	9 (29)	8 (38)	11 (35)	0.77
Angina, <i>n</i>				
I FC, <i>n</i> (%)	10 (32)	3 (10)	7 (22)	
II FC, <i>n</i> (%)	5 (16)	9 (31)	6 (19)	
III FC, <i>n</i> (%)	15 (48)	14 (48)	14 (45)	
IV FC, <i>n</i> (%)	1 (3)	0	1 (3)	0.31
EuroSCORE	3±2	3±2	3±2	0.65

Note (примечание): Indicators — показатели; age (years) — возраст (годы); female — женский пол; body weight index (kg/m²) — индекс массы тела (кг/м²); LV (left ventricle) ejection fraction — фракция выброса левый желудочек; postinfarction cardiosclerosis — постинфарктный кардиосклероз; NYHA (chronic heart failure) — хроническая сердечная недостаточность; brachiocephalic trunk — брахиоцефальные артерии; stroke in anamnesis — острое нарушение мозгового кровообращения в анамнезе; diabetes mellitus — сахарный диабет; angina — стенокардия напряжения; FC (functional class) — функциональный класс; EuroSCORE — европейская шкала оценки риска кардиохирургической операции.

Таблица 2. Показатели интраоперационного периода.

Table 2. Parameters of intraoperative period.

Indicators	Values of indicators in the groups			
	Ster (<i>n</i> =31)	Gel (<i>n</i> =29)	Tetr (<i>n</i> =31)	<i>P</i> value
Number of grafts	2.5±0.5	2±0.5	3±0.6	0.01
Endarterectomy, <i>n</i> (%)	4 (13)	1 (3)	4 (13)	0.42
CPB time (min)	60±15.5	52±12	65±19	0.007
Aortic cross clamp time (min)	36 [28-45]	28 [24-35]	37 [29-48]	0.004
Ventilation time (h)	5±2	5.5±2	6±3	0.79
Inotropic support, <i>n</i> (%)	6 (19)	4 (13)	4 (12)	0.74

Note (примечание): Indicators — показатели; number of grafts — количество шунтов; endarterectomy — энтертеректомия; CPB time (min) — время ИК (искусственное кровообращение, мин); aortic cross clamp time (min) — время окклюзии аорты (мин); ventilation time (h) — длительность ИВЛ (искусственная вентиляция легких, ч); inotropic support — потребность в инотропной поддержке; values of indicators in the groups — значения показателей в группах; value — значение *P*.

Таблица 3. Длительность нахождения пациентов в ОРИТ и стационаре.

Table 3. Length of ICU-stay and hospital stay.

Indicators	Values of indicators in the groups			
	Ster (<i>n</i> =31)	Gel (<i>n</i> =29)	Tetr (<i>n</i> =31)	<i>P</i> value
Length of ICU-stay (days)	1.3±0.4	1.4±0.8	1.6±0.8	0.24
Length of hospital stay (days)	16±3.4	17±2.7	18±4	0.11

Note (примечание): Indicators — показатели; Length of ICU-stay (days) — длительность пребывания в отделении реанимации и интенсивной терапии (дни); length of hospital stay (days) — длительность госпитализации (дни); Values of indicators in the groups — значения показателей в группах; value — значение *P*.

представлены в табл. 2). Время ИК в группе Tetr (65±19) мин было больше чем в группе Gel (52±12) мин (*p*=0,007). Время окклюзии аорты было достоверно меньше в группе Gel и составило 28 [24–35] мин по сравнению с Ster — 36 [28–45] мин. и Tetr — 37 [29–48] мин (*p*=0,004). В группе Tetr пациентам было выполнено большее количество шунтов чем в группе Gel (3±0,6 и 2±0,5 соответственно; *p*=0,01). Длительность пребы-

patients [28–31]. We choose a cohort of patients with CAD due to the fact that it is the largest group of cardiac patients around the world [32]. The main result of the present work is that regardless of the type of solution used, content of extravascular lung water did not differ between the groups in all points of study. According to the data to maintain the hemodynamic goals it required more infusions with the balanced crystalloid solution in

Таблица 4. Показатели гемодинамики.

Table 4. Hemodynamic parameters.

Indicators	Values of indicators in the groups during the study								1-POD
	baseline	5 min before CPB	5 min after CPB	End of surgery	After CPB				
					2 h	4 h	6 h	12 h	
HR/min									
Ster	59±8	58±10	78±11	80±11	80±10	81±11	84±10	86±11	86±10
Gel	57±13	61±13	80±12	77±12	78±12	75±9	76±10	80±11	82±11
Tetr	55±10	61±12	78±11	77±10	80±12	80±12	79±12	81±11	81±11
CI (l/min/m ²)									
Ster	2±0.4	2.4±0.4	3.0±0.5	2.6±0.4	2.9±0.4	2.9±0.5	3±0.5	3±0.6	3.1±0.4
Gel	2±0.3	2.3±0.4	3.3±0.6	2.7±0.6	2.8±0.5	2.8±0.5	3±0.4	2.9±0.4	3±0.4
Tetr	2.1±0.3	2.5±0.5	3.3±0.7	3.0±0.4	3.0±0.7	3.1±0.6	2.9±0.5	2.9±0.4	3.0±0.5
SVI (ml/m ² /beat)									
Ster	35±8	36±6	38±8	33±6	36±7	37±7	36±7	37±8	37±8
Gel	37±7	39±10	42±9	35±8	36±8	38±5	39±7	37±7	37±7
Tetr	38±8	40±11	43±7	39±5	39±8	39±5	37±6	37±	38±6
MAP (mm Hg)									
Ster	83±13	79±10	70±9	70±8	73±8	74±8	76±8	79±7	80±8
Gel	82±15	77±10	73±9	74±10	72±11	76±9	79±8	85±11	83±9
Tetr	78±13	79±13	70±8	68±8	76±10	76±10	78±10	80±10	80±8
SVRI (dynes•sec/cm ⁻⁵ /m ²)									
Ster	3017±850	2408±672	1661±414	1846±384	1756±388	1773±353	1804±332	1757±326	1751±11
Gel	2937±702	2243±831	1579±412	1841±345	1866±530	1809±345	1843±258	2040±432	1947±362
Tetr	2937±702	2243±831	1579±412	1841±350	1803±574	1716±528	1870±384	1930±442	1874±442
PCWP (mm Hg)									
Ster	12±3	11±3	12±3	12±3	12±2	12±3	11±3	12±4	12±4
Gel	12±3	12±2	13±3	14±3	13±3	12±3	13±4	13±3	13±3
Tetr	11±3	13±4	14±3	13±3	13±2	12±2	12±3	12±3	12±3
mPAP (mmHg)									
Ster	19±5	18±4	18±3	19±4	21±4	21±4	21±4	23±4	23±4
Gel	18±5	16±4	20±5	20±4	20±4	19±4	20±5	21±6	20±5
Tetr	18±5	18±5	19±4	19±4	20±3	19±3	21±4	20±4	22±4
PVRI (dynes•sec/cm ⁻⁵ /m ²)									
Ster	222±158	221±99	155±108	206±99	233±101	250±99	230±102	248±126	275±119
Gel	221±175	240±110	222±176	160±127	214±119	215±138	198±111	193±110	209±136
Tetr	213±138	188±137	215±171	150±88	207±63	176±96	242±130	229±110	258±125
CVP (mm Hg)									
Ster	9±3	9±3	9±3	11±3	12±3	12±3	11±4	11±4	1±4
Gel	9±3	8±2	10±2	12±3	11±3	11±3	11±3	12±3	12±6
Tetr	9±4	9±4	11±3	12±3	11±3	10±3	11±3	10±4	11±4
GEDVI (ml/m ²)									
Ster	735±122	717±93	726±106	697±107	691±125	693±118	709±103	768±123	767±94
Gel	770±126	776±133	827±160	784±741	779±179	810±178	838±144	870±156	876±176
Tetr	745±112	748±131	756±114	737±87	712±93	726±88	729±95	767±89	813±137

Note (примечание): Indicators — показатели; HR (heart rate)/min — частота сердечных сокращений/мин; CI (cardiac index, l/min/m²) — сердечный индекс, л/мин/м²; SVI (stroke volume index, ml/m²/beat) — индекс ударного объема, мл/м²/удар; MAP (mean arterial pressure, mm Hg) — среднее артериальное давление, мм рт. ст.; SVRI (systemic vascular resistance Index, dynes•sec/cm⁵/m²) — индекс системного сосудистого сопротивления, дин•с•см⁵/м²; PCWP (pulmonary capillary wedge pressure, mm Hg) — давление заклинивания легочных капилляров, мм рт. ст.; mPAP (Mean Pulmonary Artery Pressure, mmHg) — среднее давление в легочной артерии, мм рт. ст.; PVRI (Pulmonary Vascular Resistance Index, dynes•sec/cm⁵/m²) — индекс легочного сосудистого сопротивления, дин•с•см⁵/м²; CVP (Central Venous Pressure, mmHg) — центральное венозное давление, мм рт. ст.; GEDVI (global end diastolic volume index, ml/m²) — индекс глобального конечного диастолического объема, мл/м²; Values of indicators in the groups during the study — значения показателей в группах в ходе исследования; baseline — исходно; before CPB (cardiopulmonary bypass) — до искусственного кровообращения (ИК); after CPB — после ИК; End of surgery — конец операции; POD (postoperative day) — послеоперационный день; min — мин; h — ч.

вания пациентов в отделении реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) и длительность госпитализации были сопоставимы между группами (табл. 3)

Среди показателей гемодинамики (ЧСС, САД, ЦВД, сДЛА, ДЗЛК, ИУО, СИ, ИССС, ИЛСС, ИГКДО) не выявили достоверных различий на этапах исследования (табл. 4). Анализ значений ИВСВЛ на протяжении исследования также не показал различий

patients, as well as during the first postoperative day. It was accompanied by more intensive urine output. Summary balance for the operation was significantly higher in balanced crystalloid solution group. However, there was no any influence on the content of extravascular lung water and there were no any respiratory disorders. It should be noted that in this study reported a sufficiently short CPB time, in which any changes that may

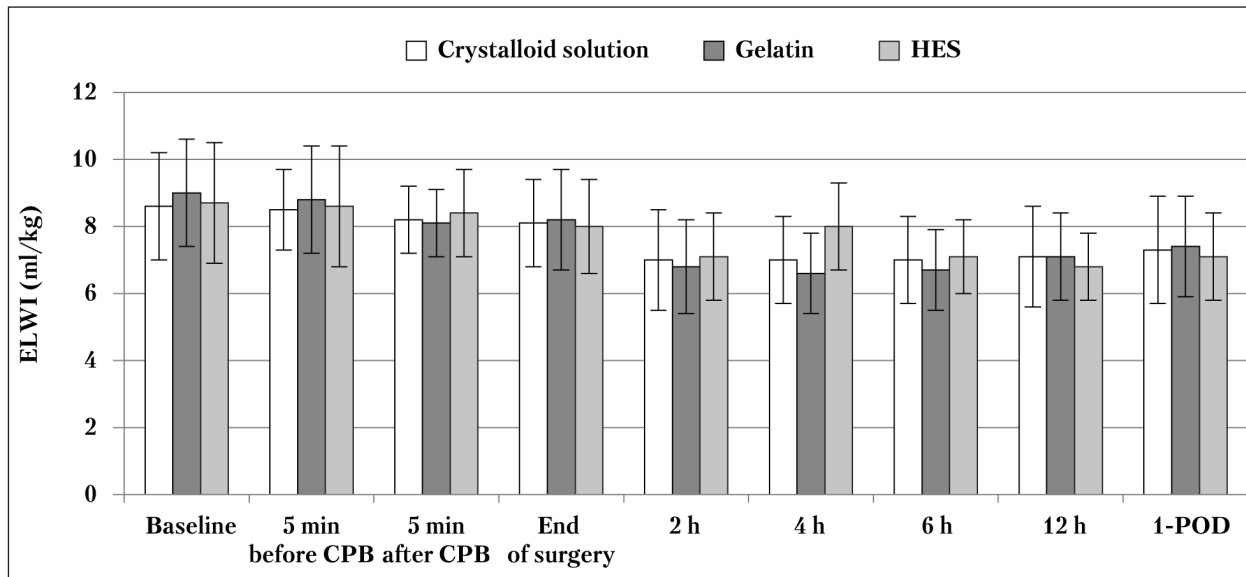
Original Observation

Таблица 5. Динамика ИВСВЛ (мл/кг).

Table 5. Dynamic of ELWI (ml/kg).

Groups	Values of indicators in the groups during the study								
	baseline	5 min	5 min	End of	After CPB, h				1-POD
		before CPB	after CPB	surgery	2	4	6	12	
Ster	8.6±1.6	8.5±1.2	8.2±1	8.1±1.3	7.0±1.5	7.0±1.3	7.0±1.3	7.1±1.5	7.3±1.6
Gel	9.0±1.6	8.8±1.6	8.1±1.0	8.2±1.5	6.8±1.4	6.6±1.2	6.7±1.2	7.1±1.3	7.4±1.5
Tetr	8.7±1.8	8.6±1.8	8.4±1.3	8.0±1.4	7.1±1.3	8.0±1.3	7.1±1.1	6.8±1.0	7.1±1.3

Note (примечание): Groups — группы; values of indicators (ml/kg) in the groups during the study — значения показателей (мл/кг) в группах в ходе исследования; baseline — исходно; before CPB (cardiopulmonary bypass) — до искусственного кровообращения (ИК); after CPB — после ИК; end of surgery — конец операции; POD (postoperative day) — послеоперационный день; ELWI (extra lung water index) — ИВСВЛ (индекс внесосудистой воды легких); min — мин; h — ч.



Динамика индекса внесосудистой воды легких (ИВСВЛ) (мл/кг).

Dynamic of extra lung water index (ELWI) (ml/kg).

Note (примечание): Crystalloid solution — стерофундин; gelatin — гелофузин; HES — тетраспан; baseline — исходно; before CPB (cardiopulmonary bypass) — до искусственного кровообращения (ИК); after CPB — после ИК; end of surgery — конец операции; POD (postoperative day) — послеоперационный день; min — мин; h — ч.

Таблица 6. Динамика Тропонина I (мкг/л).

Table 6. Troponin I concentration (mkg/l).

Groups	Values of troponin I concentration (mkg/l) in the groups during the study				
	baseline	5 min after CPB	6 h after CPB	1 POD	2 POD
Ster	0±0	0.9±0.5	2.0±0.7	1.5±0.6	0.9±0.6
Gel	0±0	0.7±0.5	1.7±0.9	1.5±1.0	0.9±0.6
Tetr	0±0	0.7±0.5	2.1±0.7	1.5±0.5	0.8±0.6

Note (примечание): Groups — группы; values of troponin I concentration (mkg/l) in the groups during the study — значения тропонина I (мкг/л) в группах в ходе исследования; baseline — исходно; after CPB (cardiopulmonary bypass) — после искусственного кровообращения; POD (postoperative day) — послеоперационный день; min — мин; h — ч.

в содержании внесосудистой воды легких между группами (табл. 5, рис. 1). При анализе SvO₂ и лактата не выявили межгрупповых различий на протяжении всего исследования. Не наблюдалось разницы между группами при оценке Tn I. Исходные значения (T1) во всех группах были равны 0±0 мкг/л, концентрация Tn I увеличивалась к 6 часам после операции до 2,1±0,7 мкг/л, затем, ко 2-м суткам отмечали постепенное снижение уровня Tn I до 0,8±0,6 мкг/л (табл. 6). Общий объем инфузии за время операции был выше в Группе

lead to increased vascular permeability are not so much expressed. Therefore, we can not exclude possibility that if CPB time had been much longer the result would have been different.

Lactate level during surgery and in the postoperative period did not exceed 4 mmol/l. It is known that the exceeding this level in cardiac surgery patients is associated with a higher risk of complications, increased length of ICU stay and hospital stay [33]. In all groups there was adequate blood supply of tissues and organs, evidenced by

Ster- 1400 [1400–1900] мл по сравнению с Gel-1400 [1000–1650] мл и Tetr- 1400 [1000–1600] мл ($p=0,005$). При этом количество вводимых растворов необходимых для поддержания целевых показателей ИГКДО в операционной, а также потребность в их введении были сопоставимы между группами.

Баланс во время ИК был выше в группе Ster и составлял 1150 [880–1430] мл; в Gel — 500 [30–1432] мл и Tetr- 550 [0–1250] мл ($p=0,029$), при этом диурез во время ИК достоверно выше в группе Ster — 1200 [900–1500] мл, объем диуреза во время ИК в группе Gel составил 600 [400–663] мл, в Tetr — 700 [400–1075] мл ($p=0,001$). Во всех группах объем ультрафильтрации, проводившейся во время ИК, сопоставим, однако необходимость в ее проведении была значительно ниже в группе Ster (16%), чем в Gel (59%) и Tetr (61%) ($p=0,001$).

Суммарный диурез к концу операции составил в группе Ster — 2000 [1600–2200] мл, что было значительно выше чем в группах Gel и Tetr, 1400 [1175–1713] мл и 1500 [1000–2000] мл соответственно ($p=0,016$). На фоне более высоких показателей диуреза в группе Ster баланс за операцию был выше в 2 раза и составил 2000 [1415–2200] мл; в Gel — 1020 [650–1563] мл в Tetr — 1070 [550–1675] мл ($p=0,001$).

Отсутствовали различия в гидробалансе между группами к концу ПОД-1. Однако пациентам в группе Ster потребовался больший объем инфузии для поддержания целевых показателей гемодинамики. В группе Ster пациенты получили 2690 [2243–4328] мл, в группе Gel — 2150 [1610–2650] мл, в группе Tetr — 2100 [1925–2623] мл ($p=0,005$). В группе Ster также отмечали более высокие показатели диуреза ($p=0,005$). Следует отметить, что суммарный баланс (за время всего исследования), а также суммарный объем введенного инфузионного раствора и суммарный диурез были достоверно выше в группе Ster.

В представленной работе исследовали сбалансированные виды инфузионных растворов в связи с тем, что они не приводят к гиперхлоремическому ацидозу и имеют более высокий профиль безопасности в сравнении с другими растворами у хирургических пациентов [17–19]. Волюметрический мониторинг, который выполнялся в данной работе при помощи методики транспульмональной термоделиции, был выбран в связи с тем, что распространенные показатели мониторинга сердечно-сосудистой системы (ЦВД, ДЗЛК) не позволяют в полной мере оценить степень наполнения камер сердца, а также не являются предикторами увеличения ударного объема сердца на внутривенное введение жидкости [17, 20–22]. Целевым показателем, на который была в данном исследовании ориентирована инфузионная терапия был выбран ИГКДО. По данным многих современных исследователей ИГКДО позволяет адекватно оценивать наполнение полостей сердца. В ряде исследований показано что ИГКДО коррелирует с данным, получаемыми при чреспищеводной эхокардиографии. ИГКДО наиболее точно показывает зависимость СВ от преднагрузки [17, 23, 24]. Индекс внесо-

satisfactory SvO₂ (62–76%) at all stages of the study. Gradual increase of troponin I concentration to 6 after operation (T7), and then decrease towards the end of POD-2 can be associated with mechanical action on the myocardium during the surgery as well as aortic cross clamping. This fact was not accompanied by any clinical manifestations and was not associated with any dynamics of CI at this stage.

The present study has several limitations. Above all, it is a single-center study. It is also necessary to take into account the fact that patients included in this study have normal ejection fraction and there was no long CPB time in all cases. Consequently, these results cannot be compared with more severe category of patients with CAD who exhibit lower left ventricular ejection fraction and prolonged CPB perfusion time.

Conclusion

The goal-directed therapy with balanced crystalloid solution allows maintaining hemodynamic goals in patients with coronary artery disease undergoing cardiac surgery with cardiopulmonary bypass, as well as colloids. To achieve the intravascular volume sufficient for maintaining optimal hemodynamic and oxygen delivery in tissues significantly increased volumes of crystalloid solution than colloid are required. Goal-directed therapy with the balanced crystalloid fluid does not increase the extravascular lung water, as well as colloid-based infusion therapy. Larger volumes of crystalloid saline are compensated by more intensive urine output. Administering the infusion fluids used in this study does not affect the troponin I concentration, which serves as a biomarker of absence of any myocardial damage. The absence of differences in clinical course of postoperative period between groups administering with different fluids makes balanced crystalloid solution preferable in CABG surgery patients.

судистой воды легких является специфичным и чувствительным показателем волюметрического мониторинга, отражающим содержание жидкости в легочной ткани [25–27]. Более того, выявлена корреляционная связь между ИВСВЛ и тяжестью респираторной дисфункции, а также исходом лечения пациентов ОРИТ [28–31]. Выбор популяции пациентов обусловлен тем, что она представляет собой наиболее многочисленную группу кардиохирургических пациентов во всем мире [32]. Основным результатом представленной работы является то, что независимо от вида использованного раствора содержание внесосудистой воды легких не отличалось между группами во всех точках исследования при проведении инфузионной терапии, основанной на достижении целевых показателей ИГКДО. Согласно представленным данным во время операции, так же как и во время первого послеоперационного дня для поддержания целевых значений гемодинамики потребовался больший объем сбалансированного кристаллоид-

ного раствора, на фоне более высоких показателей диуреза. Суммарный баланс за всю операцию был значительно выше в группе с применением кристаллоидов. Тем не менее, не отмечалось какого-либо влияния на содержание внесосудистой воды легких, а также не наблюдалось нарушений со стороны дыхательной системы. Однако следует отметить, что в данном исследовании зарегистрировано достаточно непродолжительное время ИК, при котором маловероятны какие-либо изменения, которые могут привести к увеличению сосудистой проницаемости. Нельзя исключить, что при более длительном ИК данные могли бы отличаться.

Уровень лактата на протяжении оперативного вмешательства и в послеоперационном периоде не превышал 4 ммоль/л. Известно, что превышение этого уровня у кардиохирургических пациентов связано с более высоким риском осложнений, увеличением длительности пребывания в отделении реанимации и длительности госпитализации [33]. Во всех группах обеспечивалось адекватное кровоснабжение тканей и органов, об этом свидетельствуют удовлетворительные показатели SvO_2 (62–76%) на всех этапах исследования. Постепенное нарастание концентрации тропонина I к 6 после операции (Т7), а затем снижение ко 2 суткам можно связать с механическим воздействием на миокард во время операции, а также с проводимой во всех случаях окклюзией аорты. Данный факт не сопровождался какими-либо клиническими проявлениями и не связан с динамикой показателей СИ на данном этапе.

Представленное исследование имеет ряд ограничений. Прежде всего, оно является одноцентровым. Также необходимо учитывать тот факт, что исследуемая

группа представляла собой пациентов с нормальной фракцией выброса и непродолжительным искусственным кровообращением. Следовательно, полученные результаты не могут быть отнесены к более тяжелой категории больных ишемической болезнью сердца, имеющих низкую фракцию выброса левого желудочка или к пациентам, которым проводилось длительное ИК.

Заключение

Целенаправленная инфузионная терапия сбалансированным солевым раствором позволяет поддерживать целевые показатели гемодинамики у больных ишемической болезнью сердца, оперированных в условиях искусственного кровообращения, наравне с коллоидными растворами. Для достижения объема внутрисосудистой жидкости, позволяющего поддерживать оптимальные показатели гемодинамики и доставку кислорода к тканям, требуется значительно больший объем кристаллоидного раствора, чем при использовании коллоидов. Целенаправленная инфузионная терапия сбалансированным солевым раствором не приводит к увеличению содержания внесосудистой воды легких, как и при инфузионной терапии коллоидными растворами. Использованные в исследовании растворы не приводят к увеличению маркера повреждения миокарда — тропонина I, что свидетельствует об отсутствии какого-либо повреждающего воздействия данных инфузионных сред на миокард. Отсутствие различий клинического течения послеоперационного периода между группами делает применение сбалансированных кристаллоидных растворов предпочтительным.

Литература

1. Bojar R.M. Manual of perioperative care in adult cardiac surgery. 5th ed. Wiley-Blackwell; 2011.
2. Паромов К.В., Ленкин А.И., Кузков В.В., Киров М.Ю. Целенаправленная оптимизация гемодинамики в периоперационном периоде: возможности и перспективы. *Патология кровообращения и кардиохирургия*. 2014; 3: 59–66.
3. Fink M.P., Abraham E., Vincent J.L., Kochanek P. Textbook of Critical Care. Philadelphia; 2005.
4. Косовских А.А., Чурилов Ю.А., Кан С.Л., Лызлов А.Н., Кирсанов Т.В., Вартанян А.Р. Центральная гемодинамика и микроциркуляция при критических состояниях. *Общая реаниматология*. 2013; 9 (1): 18–22. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-1-18>
5. Baum T.D., Wang H., Rothschild H.R., Gang D.L., Fink M.P. Mesenteric oxygen metabolism, ileal mucosal hydrogen ion concentration, and tissue edema after crystalloid or colloid resuscitation in porcine endotoxic shock: comparison of Ringer's lactate and 6% hetastarch. *Circ. Shock*. 1990; 30 (4): 385–397. PMID: 1693551
6. Rackow E.C., Falk J.L., Fein I.A., Siegel J.S., Packman M.I., Haupt M.T., Kaufman B.S., Putnam D. Fluid resuscitation in circulatory shock: a comparison of the cardiorespiratory effects of albumin, hetastarch, and saline solutions in patients with hypovolemic and septic shock. *Crit. Care Med.* 1983; 11 (11): 839–850. <http://dx.doi.org/10.1097/00003246-198311000-00001>. PMID: 6194934
7. Holmes J.H., Connolly N.C., Paull D.L., Hill M.E., Guyton S.W., Ziegler S.F., Hall R.A. Magnitude of the inflammatory response to cardiopulmonary bypass and its relation to adverse clinical outcomes. *Inflamm. Res.* 2002; 51 (12): 579–586. PMID: 12558191
8. Marx G., Pedder S., Smith L., Swaraj S., Grime S., Stockdale H., Leuwer M. Resuscitation from septic shock with capillary leakage: hydroxyethyl starch (130 kd), but not Ringer's solution maintains plasma volume and systemic oxygenation. *Shock*. 2004; 21 (4): 336–341. <http://dx.doi.org/10.1097/00024382-200404000-00008>. PMID: 15179134

References

1. Bojar R.M. Manual of perioperative care in adult cardiac surgery. 5th ed. Wiley-Blackwell; 2011.
2. Paromov K.V., Lenkin A.I., Kuzkov V.V., Kirov M.Yu. Tselenapravlenaya optimizatsiya gemodinamiki v perioperatsionnom periode: vozmozhnosti i perspektivy. [Goal-oriented optimization of hemodynamics during perioperative period: opportunities and future perspectives]. *Patologiya Kровоobrashcheniya i Kardiokhirurgiya*. 2014; 3: 59–66. [In Russ.]
3. Fink M.P., Abraham E., Vincent J.L., Kochanek P. Textbook of Critical Care. Philadelphia; 2005.
4. Kosovskikh A.A., Churlyayev Yu.A., Kan S.L., Lyzlov A.N., Kirsanov T.V., Vartanyan A.R. Tsentralnaya gemodinamika i mikrotsirkulyatsiya pri kriticheskikh sostoyaniyakh. *Obshchaya Reanimatologiya*. [Central hemodynamics and microcirculation in critical conditions. *General Reanimatology*]. 2013; 9 (1): 18–22. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-1-18>. [In Russ.]
5. Baum T.D., Wang H., Rothschild H.R., Gang D.L., Fink M.P. Mesenteric oxygen metabolism, ileal mucosal hydrogen ion concentration, and tissue edema after crystalloid or colloid resuscitation in porcine endotoxic shock: comparison of Ringer's lactate and 6% hetastarch. *Circ. Shock*. 1990; 30 (4): 385–397. PMID: 1693551
6. Rackow E.C., Falk J.L., Fein I.A., Siegel J.S., Packman M.I., Haupt M.T., Kaufman B.S., Putnam D. Fluid resuscitation in circulatory shock: a comparison of the cardiorespiratory effects of albumin, hetastarch, and saline solutions in patients with hypovolemic and septic shock. *Crit. Care Med.* 1983; 11 (11): 839–850. <http://dx.doi.org/10.1097/00003246-198311000-00001>. PMID: 6194934
7. Holmes J.H., Connolly N.C., Paull D.L., Hill M.E., Guyton S.W., Ziegler S.F., Hall R.A. Magnitude of the inflammatory response to cardiopulmonary bypass and its relation to adverse clinical outcomes. *Inflamm. Res.* 2002; 51 (12): 579–586. PMID: 12558191
8. Marx G., Pedder S., Smith L., Swaraj S., Grime S., Stockdale H., Leuwer M. Resuscitation from septic shock with capillary leakage: hydroxy-

9. Navickis R.J., Haynes G.R., Wilkes M.M. Effect of hydroxyethyl starch on bleeding after cardiopulmonary bypass: a meta-analysis of randomized trials. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 2012; 144 (1): 223–230. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jtcvs.2012.04.009>. PMID: 22578894
10. Rioux J.P., Lessard M., De Bortoli B., Roy P., Albert M., Verdant C., Madore F., Troyanov S. Pentastarch 10% (250 kDa/0.45) is an independent risk factor of acute kidney injury following cardiac surgery. *Crit. Care Med.* 2009; 37 (4): 1293–1298. <http://dx.doi.org/10.1097/CCM.0b013e31819cc1a0>. PMID: 19242349
11. Niemi T.T., Suojäranta-Ylinen R.T., Kukkonen S.I., Kuitunen A.H. Gelatin and hydroxyethyl starch, but not albumin, impair hemostasis after cardiac surgery. *Anesth. Analg.* 2006; 102 (4): 998–1006. <http://dx.doi.org/10.1213/01.ane.0000200285.20510.b6>. PMID: 16551888
12. Колесников С.В., Борисов А.С. Острое почечное повреждение: новые аспекты известной проблемы. *Патология кровообращения и кардиохирургия.* 2013; 4: 69–73.
13. Verheij J., van Lingen A., Raijmakers P.G., Rijsburger E.R., Veerman D.P., Wisselink W., Girbes A.R., Groeneveld A.B. Effect of fluid loading with saline or colloids on pulmonary permeability, oedema and lung injury score after cardiac and major vascular surgery. *Br. J. Anaesth.* 2006; 96 (1): 21–30. <http://dx.doi.org/10.1093/bja/aei286>. PMID: 16311279
14. Finfer S., Bellomo R., Boyce N., French J., Myburgh J., Norton R.; SAFE Study Investigators. A comparison of albumin and saline for fluid resuscitation in the intensive care unit. *N. Engl. J. Med.* 2004; 350 (22): 2247–2256. PMID: 15163774
15. Myburgh J.A., Finfer S., Bellomo R., Billot L., Cass A., Gattas D., Glass P., Lipman J., Liu B., McArthur C., McGuinness S., Rajbhandari D., Taylor C.B., Webb S.A.; CHEST Investigators; Australian and New Zealand Intensive Care Society Clinical Trials Group. Hydroxyethyl starch or saline for fluid resuscitation in intensive care. *N. Engl. J. Med.* 2012; 367 (20): 1901–1911. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa1209759>. PMID: 23075127
16. Perner A., Haase N., Guttormsen A.B., Tenhunen J., Klemenzson G., Aneman A., Madsen K.R., Møller M.H., Elkjær J.M., Poulsen L.M., Bendtsen A., Winding R., Steensen M., Berezowicz P., Søe-Jensen P., Bestle M., Strand K., Wiis J., White J.O., Thornberg K.J., Quist L., Nielsen J., Andersen L.H., Holst L.B., Thormar K., Kjældgaard A.L., Fabritius M.L., Mondrup F., Pott F.C., Møller T.P., Winkel P., Wetterslev J.; 6S Trial Group; Scandinavian Critical Care Trials Group. Hydroxyethyl starch 130/0.42 versus Ringer's acetate in severe sepsis. *N. Engl. J. Med.* 2012; 367 (2): 124–134. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa1204242>. PMID: 22738085
17. Habicher M., Perrino A.Jr., Spies C.D., von Heymann C., Wittkowski U., Sander M. Contemporary fluid management in cardiac anesthesia. *J. Cardiothorac. Vasc. Anesth.* 2011; 25 (6): 1141–1153. <http://dx.doi.org/10.1053/j.jvca.2010.07.020>. PMID: 20947379
18. Яковлев А.Ю., Кичин В.В., Николайский В.О., Калентьев Г.В., Рябиков Д.В., Рябиков М.А., Протасов Д.М., Галанина Т.А., Сморгалов А.Ю., Евдокимова О.С. Эффективность применения стерофундина изотонического после острой массивной кровопотери в эксперименте. *Общая реаниматология.* 2013; 9 (3): 24–29. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-3-24>
19. McCluskey S.A., Karkouti K., Wijesundera D., Minkovich L., Tait G., Beattie W.S. Hyperchloremia after noncardiac surgery is independently associated with increased morbidity and mortality: a propensity-matched cohort study. *Anesth. Analg.* 2013; 117 (2): 412–421. <http://dx.doi.org/10.1213/ANE.0b013e318293d81e>. PMID: 23757473
20. Shaw A.D., Bagshaw S.M., Goldstein S.L., Scherer L.A., Duan M., Schermer C.R., Kellum J.A. Major complications, mortality, and resource utilization after open abdominal surgery: 0.9% saline compared to Plasma-Lyte. *Ann. Surg.* 2012; 255 (5): 821–829. <http://dx.doi.org/10.1097/SLA.0b013e31825074f5>. PMID: 22470070
21. Boulain T., Achard J.M., Teboul J.L., Richard C., Perrotin D., Ginies G. Changes in BP induced by passive leg raising predict response to fluid loading in critically ill patients. *Chest.* 2002; 121 (4): 1245–1252. <http://dx.doi.org/10.1378/chest.121.4.1245>. PMID: 11948060
22. Koning N.J., Atasever B., Vonk A.B., Boer C. Changes in microcirculatory perfusion and oxygenation during cardiac surgery with or without cardiopulmonary bypass. *J. Cardiothorac. Vasc. Anesth.* 2014; 28 (5): 1331–1340. <http://dx.doi.org/10.1053/j.jvca.2013.04.009>. PMID: 24035060
23. Chappell D., Jacob M., Hofmann-Kiefer K., Conzen P., Rehm M. A rational approach to perioperative fluid management. *Anesthesiology.* 2008; 109 (4): 723–740. <http://dx.doi.org/10.1097/ALN.0b013e3181863117>. PMID: 18813052
24. Hofer C.K., Furrer L., Matter-Ensner S., Maloigne M., Klaghofer R., Genoni M., Zollinger A. Volumic preload measurement by thermodilution: a comparison with transoesophageal echocardiography. *Br. J. Anaesth.* 2005; 94 (6): 748–755. PMID: 15790674
25. Wittkowski U., Spies C., Sander M., Erb J., Feldheiser A., von Heymann C. Haemodynamic monitoring in the perioperative phase. Available systems, practical application and clinical data. *Anaesthesist.* 2009; 58 (8): 764–778, 780–766. <http://dx.doi.org/10.1007/s00101-009-1590-4>. PMID: 19669105
9. Navickis R.J., Haynes G.R., Wilkes M.M. Effect of hydroxyethyl starch on bleeding after cardiopulmonary bypass: a meta-analysis of randomized trials. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 2012; 144 (1): 223–230. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jtcvs.2012.04.009>. PMID: 22578894
10. Rioux J.P., Lessard M., De Bortoli B., Roy P., Albert M., Verdant C., Madore F., Troyanov S. Pentastarch 10% (250 kDa/0.45) is an independent risk factor of acute kidney injury following cardiac surgery. *Crit. Care Med.* 2009; 37 (4): 1293–1298. <http://dx.doi.org/10.1097/CCM.0b013e31819cc1a0>. PMID: 19242349
11. Niemi T.T., Suojäranta-Ylinen R.T., Kukkonen S.I., Kuitunen A.H. Gelatin and hydroxyethyl starch, but not albumin, impair hemostasis after cardiac surgery. *Anesth. Analg.* 2006; 102 (4): 998–1006. <http://dx.doi.org/10.1213/01.ane.0000200285.20510.b6>. PMID: 16551888
12. Колесников С.В., Борисов А.С. Острое почечное повреждение: новые аспекты известной проблемы. [Acute kidney injury: new aspects of the well-known problem]. *Патология Кровообращения и Кардиокirurgия.* 2013; 4: 69–73. [In Russ.]
13. Verheij J., van Lingen A., Raijmakers P.G., Rijsburger E.R., Veerman D.P., Wisselink W., Girbes A.R., Groeneveld A.B. Effect of fluid loading with saline or colloids on pulmonary permeability, oedema and lung injury score after cardiac and major vascular surgery. *Br. J. Anaesth.* 2006; 96 (1): 21–30. <http://dx.doi.org/10.1093/bja/aei286>. PMID: 16311279
14. Finfer S., Bellomo R., Boyce N., French J., Myburgh J., Norton R.; SAFE Study Investigators. A comparison of albumin and saline for fluid resuscitation in the intensive care unit. *N. Engl. J. Med.* 2004; 350 (22): 2247–2256. PMID: 15163774
15. Myburgh J.A., Finfer S., Bellomo R., Billot L., Cass A., Gattas D., Glass P., Lipman J., Liu B., McArthur C., McGuinness S., Rajbhandari D., Taylor C.B., Webb S.A.; CHEST Investigators; Australian and New Zealand Intensive Care Society Clinical Trials Group. Hydroxyethyl starch or saline for fluid resuscitation in intensive care. *N. Engl. J. Med.* 2012; 367 (20): 1901–1911. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa1209759>. PMID: 23075127
16. Perner A., Haase N., Guttormsen A.B., Tenhunen J., Klemenzson G., Aneman A., Madsen K.R., Møller M.H., Elkjær J.M., Poulsen L.M., Bendtsen A., Winding R., Steensen M., Berezowicz P., Søe-Jensen P., Bestle M., Strand K., Wiis J., White J.O., Thornberg K.J., Quist L., Nielsen J., Andersen L.H., Holst L.B., Thormar K., Kjældgaard A.L., Fabritius M.L., Mondrup F., Pott F.C., Møller T.P., Winkel P., Wetterslev J.; 6S Trial Group; Scandinavian Critical Care Trials Group. Hydroxyethyl starch 130/0.42 versus Ringer's acetate in severe sepsis. *N. Engl. J. Med.* 2012; 367 (2): 124–134. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa1204242>. PMID: 22738085
17. Habicher M., Perrino A.Jr., Spies C.D., von Heymann C., Wittkowski U., Sander M. Contemporary fluid management in cardiac anesthesia. *J. Cardiothorac. Vasc. Anesth.* 2011; 25 (6): 1141–1153. <http://dx.doi.org/10.1053/j.jvca.2010.07.020>. PMID: 20947379
18. Yakovlev A.Yu., Kichin V.V., Nikolsky V.O., Kalentyev G.V., Ryabikov D.V., Ryabikov M.A., Protasov D.M., Galanina T.A., Smorkalov A.Yu., Evdokimova O.S. Effektivnost primeneniya sterofundina izotonicheskogo posle ostroi massivnoi krvopoteri v eksperimente. *Obshchaya Reanimatologiya.* [Efficacy of employment of isotonic sterofundin after experimental hemorrhagic shock. *General Reanimatology.*] 2013; 9 (3): 24–29. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-3-24>. [In Russ.]
19. McCluskey S.A., Karkouti K., Wijesundera D., Minkovich L., Tait G., Beattie W.S. Hyperchloremia after noncardiac surgery is independently associated with increased morbidity and mortality: a propensity-matched cohort study. *Anesth. Analg.* 2013; 117 (2): 412–421. <http://dx.doi.org/10.1213/ANE.0b013e318293d81e>. PMID: 23757473
20. Shaw A.D., Bagshaw S.M., Goldstein S.L., Scherer L.A., Duan M., Schermer C.R., Kellum J.A. Major complications, mortality, and resource utilization after open abdominal surgery: 0.9% saline compared to Plasma-Lyte. *Ann. Surg.* 2012; 255 (5): 821–829. <http://dx.doi.org/10.1097/SLA.0b013e31825074f5>. PMID: 22470070
21. Boulain T., Achard J.M., Teboul J.L., Richard C., Perrotin D., Ginies G. Changes in BP induced by passive leg raising predict response to fluid loading in critically ill patients. *Chest.* 2002; 121 (4): 1245–1252. <http://dx.doi.org/10.1378/chest.121.4.1245>. PMID: 11948060
22. Koning N.J., Atasever B., Vonk A.B., Boer C. Changes in microcirculatory perfusion and oxygenation during cardiac surgery with or without cardiopulmonary bypass. *J. Cardiothorac. Vasc. Anesth.* 2014; 28 (5): 1331–1340. <http://dx.doi.org/10.1053/j.jvca.2013.04.009>. PMID: 24035060
23. Chappell D., Jacob M., Hofmann-Kiefer K., Conzen P., Rehm M. A rational approach to perioperative fluid management. *Anesthesiology.* 2008; 109 (4): 723–740. <http://dx.doi.org/10.1097/ALN.0b013e3181863117>. PMID: 18813052
24. Hofer C.K., Furrer L., Matter-Ensner S., Maloigne M., Klaghofer R., Genoni M., Zollinger A. Volumic preload measurement by thermodilution: a comparison with transoesophageal echocardiography. *Br. J. Anaesth.* 2005; 94 (6): 748–755. PMID: 15790674

Original Observation

26. Michard F. Bedside assessment of extravascular lung water by dilution methods: temptations and pitfalls. *Crit. Care Med.* 2007; 35 (4): 1186–1192. <http://dx.doi.org/10.1097/01.CCM.0000259539.49339.66>. PMID: 17334247
27. Chung F.T., Lin S.M., Lin S.Y., Lin H.C. Impact of extravascular lung water index on outcomes of severe sepsis patients in a medical intensive care unit. *Respir. Med.* 2008; 102 (7): 956–961. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rmed.2008.02.016>. PMID: 18397821
28. Kuzkov V.V., Kirov M.Y., Sovershaev M.A., Kuklin V.N., Suborov E.V., Waerhaug K., Bjertnaes L.J. Extravascular lung water determined with single transpulmonary thermodilution correlates with the severity of sepsis induced acute lung injury. *Crit. Care Med.* 2006; 34 (6): 1647–1653. <http://dx.doi.org/10.1097/01.CCM.0000218817.24208.2E>. PMID: 16625129
29. Ломиворотов В.В., Фоминский Е.В., Непомнящих В.А., Ефремов С.М., Чернявский А.М., Ломиворотов В.Н., Шилова А.Н., Карасков А.М. Влияние раствора натрия хлорида гидроксипропиленкарбамата (200/0,5) на функцию легких и гемодинамику больных, оперированных с искусственным кровообращением. *Общая реаниматология.* 2012; 8 (5): 38–46. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2012-5-38>
30. Ломиворотов В.В., Фоминский Е.В., Мороз Г.Б., Шмырев В.А., Ломиворотов В.Н. Сравнительный анализ инфузионной терапии у больных ишемической болезнью сердца, оперированных в условиях искусственного кровообращения. *Патология кровообращения и кардиохирургия.* 2013; 4: 15–22.
31. Кузьков В.В., Орлов М.М., Крючкова Д.А., Суборов Е.В., Бьертнес Л.Я., Киров М.Ю. Оценка внесосудистой воды легких во время обширных торакальных вмешательств и в послеоперационном периоде. *Общая реаниматология.* 2012; 8 (5): 31–37. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2012-5-31>
32. Weiser T.G., Regenbogen S.E., Thompson K.D., Haynes A.B., Lipsitz S.R., Berry W.R., Gawande A.A. An estimation of the global volume of surgery: a modelling strategy based on available data. *Lancet.* 2008; 372 (9633): 139–144. [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(08\)60878-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(08)60878-8). PMID: 18582931
33. Hu B.Y., Laine G.A., Wang S., Solis R.T. Combined central venous oxygen saturation and lactate as markers of occult hypoperfusion and outcome following cardiac surgery. *J. Cardiothorac. Vasc. Anesth.* 2012; 26 (1): 52–57. <http://dx.doi.org/10.1053/j.jvca.2011.07.021>. PMID: 21924630
25. Wittkowski U., Spies C., Sander M., Erb J., Feldheiser A., von Heymann C. Haemodynamic monitoring in the perioperative phase. Available systems, practical application and clinical data. *Anaesthesist.* 2009; 58 (8): 764–778, 780–766. <http://dx.doi.org/10.1007/s00101-009-1590-4>. PMID: 19669105
26. Michard F. Bedside assessment of extravascular lung water by dilution methods: temptations and pitfalls. *Crit. Care Med.* 2007; 35 (4): 1186–1192. <http://dx.doi.org/10.1097/01.CCM.0000259539.49339.66>. PMID: 17334247
27. Chung F.T., Lin S.M., Lin S.Y., Lin H.C. Impact of extravascular lung water index on outcomes of severe sepsis patients in a medical intensive care unit. *Respir. Med.* 2008; 102 (7): 956–961. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rmed.2008.02.016>. PMID: 18397821
28. Kuzkov V.V., Kirov M.Y., Sovershaev M.A., Kuklin V.N., Suborov E.V., Waerhaug K., Bjertnaes L.J. Extravascular lung water determined with single transpulmonary thermodilution correlates with the severity of sepsis induced acute lung injury. *Crit. Care Med.* 2006; 34 (6): 1647–1653. <http://dx.doi.org/10.1097/01.CCM.0000218817.24208.2E>. PMID: 16625129
29. Lomivorotov V.V., Fominsky E.V., Nepomnyashchikh V.A., Efremov S.M., Chernyavsky A.M., Lomivorotov V.N., Shilova A.N., Karaskov A.M. Vliyanie rastvora natriya khlorida gidroksietilenkrakhmala (200/0,5) na funktsiyu legkikh i gemodinamiku bolnykh, operirovannykh s iskusstvennym krovoobrashcheniem. *Obshchaya Reanimatologiya.* [Effect of NaCl/hydroxyethyl starch 200/0.5 on lung function and hemodynamics in patients operated on under extracorporeal circulation. *General Reanimatology*]. 2012; 8 (5): 38–46. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2012-5-38>. [In Russ.]
30. Lomivorotov V.V., Fominsky E.V., Moroz G.B., Shmyrev V.A., Lomivorotov V.N. Sravnitelnyi analiz infuzionnoi terapii u bolnykh ishemicheskoi boleznyu serdtsa, operirovannykh v usloviyakh iskusstvennogo krovoobrashcheniya. [Comparative analysis of fluid therapy in coronary artery bypass grafting surgery]. *Patologiya Krovoobrashcheniya i Kardiokhirurgiya.* 2013; 4: 15–22. [In Russ.]
31. Kuzkov V.V., Orlov M.M., Kryuchkova D.A., Suborov E.V., Byertnes L.Ya., Kirov M.Yu. Otsenka vnesosudistoi vody legkikh vo vremya obshirnykh torakalnykh vmeshatelstv i v posleoperatsionnom periode. *Obshchaya Reanimatologiya.* [Estimation of extravascular lung water during and after extensive thoracic interventions. *General Reanimatology*]. 2012; 8 (5): 31–37. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2012-5-31>. [In Russ.]
32. Weiser T.G., Regenbogen S.E., Thompson K.D., Haynes A.B., Lipsitz S.R., Berry W.R., Gawande A.A. An estimation of the global volume of surgery: a modelling strategy based on available data. *Lancet.* 2008; 372 (9633): 139–144. [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(08\)60878-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(08)60878-8). PMID: 18582931
33. Hu B.Y., Laine G.A., Wang S., Solis R.T. Combined central venous oxygen saturation and lactate as markers of occult hypoperfusion and outcome following cardiac surgery. *J. Cardiothorac. Vasc. Anesth.* 2012; 26 (1): 52–57. <http://dx.doi.org/10.1053/j.jvca.2011.07.021>. PMID: 21924630

Поступила 29.12.2014

Submitted 29.12.2014

МЕТОДЫ ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОЙ ДЕТОКСИКАЦИИ В ЛЕЧЕНИИ ДЕСТРУКТИВНОГО ПАНКРЕАТИТА

Е. Л. Исмаилов, С. Н. Ералина, Б. Б. Текесбаев, Р. Б. Абдрасулов

Казахский национальный медицинский университет им. С. Д. Асфендиярова,
кафедра анестезиологии и реаниматологии с курсом неотложной скорой помощи
Института последиplomного образования
Республика Казахстан, 050000, г. Алматы, ул. Толеби, 88

Extracorporeal Detoxification Methods in the Treatment of Destructive Pancreatitis

E. L. Ismailov, S. N. Eralina, B. B. Tekesbaev, R. B. Abdrasulov

Department of Anesthesiology and Reanimatology with Course of Emergency Care,
Institute of Postgraduate Education, S. D. Asfendiyarov Kazakh National Medical University
88, Tolebi Street, Almaty 050000, Republic of Kazakhstan

Рост заболеваемости деструктивным панкреатитом за последнее десятилетие и высокие показатели летальности (до 20–45%) говорят о высокой социальной, медицинской и экономической значимости этого заболевания. *Цель исследования* — изучить эффективность экстракорпоральных методов детоксикации в комплексном лечении деструктивного панкреатита. *Материалы и методы исследования.* В исследование было включено 20 больных с деструктивным панкреатитом, находившихся на стационарном лечении в отделении реанимации и интенсивной терапии ГКБ №4 г. Алматы, в возрасте от 40 до 53 лет. *Результаты и их обсуждение.* При анализе полученных результатов исследования выявлено, что раннее включение методов экстракорпоральной детоксикации в комплексном лечении деструктивного панкреатита обеспечивает снижение клинических признаков эндотоксикоза, что в 61% случаев позволило предупредить развитие анурической формы почечной недостаточности, а в 22% случаев и вовсе избежать развития полиорганной недостаточности. Показана необходимость и эффективность раннего применения альбуминового диализа, гемодиализации в комплексном лечении сепсиса и септического шока при деструктивных панкреатитах, что приводит к достоверному снижению летальности. Максимальный детоксикационный потенциал альбуминового диализа при сепсисе, осложняющем течение деструктивного панкреатита, реализуется благодаря сочетанию различных механизмов элиминации токсических веществ — конвекции, сорбции и диффузии в экстракорпоральном контуре. *Вывод:* раннее использование методов экстракорпоральной детоксикации при деструктивном панкреатите приводит к достоверному снижению летальности. *Ключевые слова:* MARS — молекулярная адсорбционная рециркуляционная система, ГДФ-гемодиализация, панкреонекроз.

The rise in the incidence of acute necrotic pancreatitis in the past decade and high mortality rates of as high as 20–45% all suggest that the disease is of high social, medical, and economic importance. *Objective:* to study the efficiency of extracorporeal detoxification methods in the combination treatment of patients with severe destructive pancreatitis. *Subjects and methods.* The investigation enrolled 20 patients aged 40 to 53 years with destructive pancreatitis treated in the intensive care unit, Almaty City Clinical Hospital Four. *Results and discussion.* Analysis of the findings over time could reveal that early incorporation of extracorporeal detoxification methods in the combination treatment of pancreatic necrosis provides a reduction in the clinical signs of endotoxemia, which could prevent anuric acute renal failure in 61% of the cases and completely safeguard against multiple organ dysfunction in 22%. The investigation showed the necessity and efficiency the early use of albumin dialysis, hemodiafiltration in the combination treatment of sepsis and septic shock in destructive pancreatitis, leading to a significant reduction in mortality rates. The maximum detoxification potential of albumin dialysis in sepsis complicating the course of destructive pancreatitis is achieved by a combination of different mechanisms for elimination of toxic substances, such as convection, sorption, and diffusion, in the extracorporeal circuit. *Conclusion.* Early use of extracorporeal detoxification methods in patients with severe destructive diseases of the pancreas results in a significant reduction in mortality rates. *Key words:* molecular adsorbent recirculating system, hemodiafiltration, pancreatic necrosis.

DOI:10.15360/1813-9779-2015-3-65-74

Введение

Несмотря на значительные достижения современной медицины, абдоминальный сепсис остается одним из наиболее грозных осложнений хирургической

Introduction

Despite considerable achievements in modern medicine, abdominal sepsis remains one of the most severe complications of surgical infections and has the highest mor-

Адрес для корреспонденции:

Еркинбек Исмаилов
E-mail: kesha069@gmail.com

Correspondence to:

Erkinbek Ismailov
E-mail: kesha069@gmail.com

инфекции и имеет наибольший показатель летальности, который достигает 70–90%, не имея отчетливой тенденции к снижению [1].

Одной из причин, приводящих к развитию абдоминального сепсиса, является острый деструктивный панкреатит, или панкреонекроз. Рост заболеваемости деструктивным панкреатитом за последнее десятилетие [2], относительно молодой и трудоспособный возраст большинства больных — от 25 до 60 лет [3], длительность лечения и большие экономические затраты на его проведение [4–6], высокие показатели летальности — до 20–45% [7, 8] — все это свидетельствует о высокой социальной, медицинской и экономической значимости изучаемого заболевания. Особенностью панкреонекроза является многообразие клинических вариантов его осложнений, наиболее опасными из которых являются полиорганная недостаточность (ПОН), перитонит, сепсис, флегмоны забрюшинной клетчатки, аррозивные кровотечения [9]. Наиболее опасным является период гемодинамических расстройств и панкреатогенного шока. Высокая летальность обусловлена патогенетическими особенностями течения деструктивного панкреатита, а именно усилением интоксикации, выбросом в кровь большого количества медиаторов воспаления (ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, ФНО- α), транслокацией в кровь низко- и среднемолекулярных токсических веществ из желудочно-кишечного тракта. В итоге развивается «медиаторный хаос» и ПОН. Лечение ПОН является проблемой реаниматологии далекой от ее решения. Несмотря на углубление знаний патофизиологических процессов, появление новых генераций антибактериальных препаратов, совершенствование технологий жизнеобеспечения и хирургической техники, ПОН остается одной из главных причин летальности в отделениях реанимации и интенсивной терапии, особенно при развитии сепсиса и септического шока. В последние годы научно-исследовательский интерес вызывает оценка перспективности раннего начала продленной заместительной почечной терапии (ЗПТ) при сепсисе, не дожидаясь развернутой клинико-лабораторной картины ПОН, с целью предупреждения ее развития. Однако в литературе недостаточно четко сформулированы объективные критерии раннего начала ЗПТ. С одной стороны, начало ЗПТ при сепсисе (до развития ПОН) влечет высокие экономические затраты, так как невозможно достоверно прогнозировать дальнейшее течение заболевания, с другой стороны, начало в условиях септического шока и развернутой картины ПОН не обладает органопротективным эффектом и не способствует снижению затрат на лечение [10].

Применение экстракорпоральных методов детоксикации в комплексном лечении деструктивного панкреатита, осложненного сепсисом и септическим шоком, позволяет устранить гистотоксическую гипоксию и является средством предупреждения развития ПОН [11].

Цель исследования — изучить эффективность экстракорпоральных методов детоксикации в комплексном лечении деструктивного панкреатита.

ality rate, which reaches 70–90%, without a distinct downward trend [1].

One of the reasons that lead to the development of abdominal sepsis is the acute destructive pancreatitis or pancreatic necrosis. Increased incidence of pancreatitis in the last decade [2], a relatively young and working age majority of patients — from 25 to 60 years [3], the increased duration of treatment and costs [4–6], and high mortality rate (up to 20–45% [7, 8]) testify for the high social, medical and economic importance of this pathologic condition. The increased variability of clinical patterns including complications, the most dangerous of which include multiple organ failure (MOF), peritonitis, sepsis, pyogenic cellulitis of retroperitoneal fat and erosive bleeding [9]. The most dangerous period includes hemodynamic disorders and pancreatogenic shock. The high mortality rate is due to pathogenic features of destructive pancreatitis accompanied by increased intoxication, release of a large number of inflammatory mediators (IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α) into the blood, translocation of middle and low toxic substances from the gastrointestinal tract into the blood. As a result, a «mediator chaos» and MOF are developing. Treatment of MOF is far from solving problem of resuscitation. Despite the increasing knowledge of pathophysiological processes, the emergence of new generations of antibacterial drugs, improving of life support technology and surgical techniques, MOF is a major cause of mortality in the intensive care units, mainly because of development of severe sepsis and septic shock. In recent years, research interest has been aroused with the evaluation of perspective of the early onset of extended renal replacement therapy (RRT) in sepsis with no need in waiting for the expanded clinical and laboratory MOF picture, in order to prevent its development. However, the objective criteria for the early start of RRT have not been thoroughly clarified. On the one hand, the beginning of RRT in sepsis (before the development of MOF) results in high economic costs, since it is impossible to reliably predict the further course of the disease; on the another hand, a start of renal replacement therapy in septic shock and detailed MOF picture has no organ protective effect and does not contribute to reduction of treatment cost [10].

The use of extracorporeal detoxification methods in the complex treatment of destructive pancreatitis complicated by sepsis and septic shock eliminates histotoxic hypoxia and is directed to prevent the development of MOF [11].

The research objective of the study was to evaluate the effectiveness of extracorporeal detoxification methods in the complex treatment of destructive pancreatitis.

The research tasks included:

1. Evaluation of the severity of endotoxemia in destructive pancreatitis.
2. Assessment of hemodynamic parameters in patients with destructive pancreatitis.
3. Assessment of the effectiveness of extracorporeal detoxification methods.
4. Determining the impact of a small volume infusion therapy on the clinical picture of the disease.

Задачи исследования:

1. Определение степени тяжести эндотоксикоза при деструктивном панкреатите.
2. Оценка гемодинамических показателей у больных деструктивным панкреатитом.
3. Оценка эффективности экстракорпоральных методов детоксикации.
4. Оценка влияния малообъемной инфузионной терапии на клиническую картину заболевания.

Материал и методы

В исследование включили 20 больных с деструктивным панкреатитом, находившихся на стационарном лечении в отделении реанимации и интенсивной терапии ГКБ №4 г. Алматы, в возрасте от 40 до 53 лет. Среди обследованных больных было 14 мужчин (70%) и 6 женщин (30%). По характеру некротического поражения — с геморрагическим панкреонекрозом было 9 больных (45%), с жировым панкреонекрозом 7 (35%), и смешанная форма встречалась в 4 (20%) случаях. Основными причинами деструктивного панкреатита были: алиментарный фактор — 35%, злоупотребление алкоголем — 30%, желчно-каменная болезнь — 15%, причина не установлена в 20%. 75% больных поступило через 12–24 часа от начала заболевания.

Всем больным проводили комплексное клиничко-лабораторное и инструментальное обследование, включающее сбор анамнестических данных, физикальное обследование, оценку клинических и биохимических показателей, морфологическое исследование при выполнении хирургического вмешательства, а также ежедневное выполнение УЗИ при поступлении и в динамике.

Ультрасонографию проводили на аппаратах SonoAcePico (Корея), Vivid-7 (General Electric, США), Toshiba Xario. Определялись форма, контуры, размеры поджелудочной железы в целом и каждого из ее отделов, эхогенность, и состояние панкреатического протока, наличие и отсутствие парапанкреатических инфильтратов, абсцессов, кист, а также состояние начального отдела тонкой кишки (парез, наличие жидкости в просвете кишки с хаотическим движением или вялая антиперистальтика), гидроторакса, расширение ретрогастрального пространства и др. Оценку частоты встречаемости ультразвуковых признаков проводили 3 раза в следующие сроки с момента заболевания: до 12 часов, от 12 до 24 ч и более 1 сут.

Критерии включения в исследование:

- 1) Наличие тяжелого сепсиса / септического шока;
- 2) Тяжесть состояния по шкале APACHE-II от 12 до 26 баллов;
- 3) Оценка тяжести ПОН по шкале SOFA от 12 до 21 балла.

В зависимости от характера проводимой интенсивной терапии больные были разделены на 2 группы.

1 группа (основная) — с деструктивными формами панкреатита ($n=10$, 6 мужчин, 4 женщины), получающие стандартную интенсивную терапию (блокада секреции поджелудочной железы, обеспечение системной и регионарной микроциркуляции, ИВЛ, цитокиновая блокада, антибактериальная терапия, возмещение водно-электролитных и метаболических потерь, хирургическая детоксикация, дренирование), дополненную методами экстракорпоральной детоксикации: альбуминовый диализ на аппарате MARS (Gambro, Германия), гемодиализация (ГДФ) — на аппарате Multifiltrate (фирмы Fresenius, Германия), плазмаферез — на аппарате Haemonetics (США), внутрисосудистое лазерное облучение крови (ВЛОК) — на аппарате лазерной терапии «Матрикс-ВЛОК» (Adamant Group, Казахстан), ультрафиолетовое облучение крови — на аппарате «Матрикс-ВЛОК» с излучающей головкой МС-ВЛОК-365. Инфузионную терапию дополняли препаратами Сорбилант и Реосорбилант (Юлия Фарм, Украина).

Materials and Methods

The study enrolled 20 patients (40–53 years old) with destructive pancreatitis hospitalized in the Intensive care unit of CCH No. 4 in Almaty city. The cohort of examined patients included 14 men (70%) and 6 women (30%). Nine patients (45%) were with hemorrhagic necrotizing pancreatitis, 7 (35%) patients had a fatty pancreatonecrosis, whereas mixed forms were found in 4 (20%) cases. The main causes of destructive pancreatitis were the following: dietary factor — 35%, alcohol abuse — 30%, cholelithiasis — 15%, the cause has not been specified in 20%. —Most patients (75%) were admitted in 12–24 hours after the disease onset.

All the patients underwent complex clinic and laboratory and instrumental examination including the collection of anamnestic data, physical examination, evaluation of clinical and biochemical parameters, morphological studies following performed surgery, as well as ultrasound at admission and on an every-day base.

Ultrasonography was performed on the following devices: SonoAcePico (Korea), Vivid-7 (General Electric, USA), Toshiba Xario (Japan). They determined the shape, contours, size of the pancreas as a whole and each of its departments, echogenicity, and the state of the pancreatic duct, the presence and the absence of parapancreatic infiltrates, abscesses, cysts, as well as the condition of the initial compartments of the small intestine (paresis, the presence of fluid in the lumen of the intestine with a random movement or sluggish antiperistalsis), hydrothorax, expansion of the retrogastral space, etc. Evaluation of the incidence of ultrasound patterns was carried out three times (before 12 hours, from 12 until 24 hours and more than 24 hours) from the time of the disease.

Criteria for enrollment into the study:

- 1) presence of severe sepsis / septic shock;
- 2) severity by APACHE-II scale equals from 12 to 26 points;
- 3) assessment of the severity of MOF by SOFA scale equals from 12 to 21 points.

Depending on the nature of ongoing intensive care the patients were divided into 2 groups.

Group 1 (study group): patients with destructive forms of pancreatitis ($n=10$, 6 men, 4 women), receiving standard intensive therapy (blockade of pancreatic secretion, providing systemic and regional microcirculation, mechanical lungs ventilation — MLV, cytokine blockade, antibiotic therapy, compensation for water/electrolyte and metabolic losses, surgical detoxification, drainage), supplemented with extracorporeal detoxification methods: albumin dialysis on MARS apparatus (Gambro, Germany), hemodiafiltration (HDF) — with a Multifiltrate apparatus (Fresenius, Germany), plasmapheresis — with Haemonetics apparatus (USA), intravenous laser blood irradiation (ILBI) — with Matrix-VLOK laser therapy apparatus (Adamant Group, Kazakhstan), ultraviolet irradiation of blood — with Matrix-VLOK apparatus with MS-VLOK-365 radiation head. The infusion therapy was supplemented with Sorbilact and Rheosorbilact (Yuria-Pharm, Ukraine).

Group 2 (control) — patients with destructive forms of pancreatitis who received standard therapy — 10 patients (8 men and 2 women) and traditional infusion therapy (HES medications, gelofusine, crystalloids). Extracorporeal detoxification was carried out by plasmapheresis, intravenous laser blood irradiation (ILBI), ultraviolet irradiation (UVI) of blood, enterosorption.

The severity by APACHE II scale in group 1 was estimated to be 24.2 ± 1.2 points, in a group 2 it was 23.4 ± 2.3 points. The severity by SOFA scale was 12.3 ± 0.1 points (group 1) and, 12.1 ± 0.1 points (group 2). There were no differences between the groups in severity at admission to hospital.

Extracorporeal detoxification program in the patients of group 1 (study group) was as follows:

- 1) Surgical correction;
- 2) ILBI and UVI of blood in 3–4 hours after the surgical correction;

Guidelines for Practitioner

2 группа (сравнения) — больные с деструктивными формами панкреатита, получавшие стандартную терапию — 10 человек (8 мужчин и 2 женщины) и традиционную инфузионную терапию (препараты ГЭК, гелофузин, кристаллоиды). Проводили экстракорпоральную детоксикацию и дезинтоксикацию (плазмаферез, внутрисосудистое лазерное облучение крови (ВЛОК), ультрафиолетовое облучение крови (УФО)), энтеросорбция.

Тяжесть по шкале АРАСНЕ II составила в 1 группе $24,2 \pm 1,2$ балла, во 2 группе $23,4 \pm 2,3$ балла. Тяжесть по шкале SOFA составила в 1 группе $12,3 \pm 0,1$ балла, во 2 группе $12,1 \pm 0,1$ балла. Различий между группами по тяжести состояния при поступлении в стационар не было.

Программа экстракорпоральной детоксикации у больных в 1 группе (исследуемая) состояла в следующем:

- 1) Хирургическая коррекция
- 2) Через 3–4 часа после хирургической коррекции — ВЛОК и УФО крови
- 3) Плазмаферез начинали проводить через 6–8 часов после операции
- 4) ГДФ и альбуминовый диализ — подключали через 8–12 часов после операции

Программа экстракорпоральной детоксикации у больных с некротической формой панкреатита во 2 группе (контрольная) включала:

- 1) Хирургическую коррекцию
- 2) Через 3–4 часа после хирургической коррекции ВЛОК и УФО крови
- 3) Плазмаферез начинали проводить через 6–8 часов после операции

Проведение ГДФ и альбуминового диализа осуществляли в период между оперативными вмешательствами и на 7 день лечения в ОРИТ, 1 раз в сутки, продолжительностью 8–12 часов, 3–5 сеансов ГДФ и 1–2 сеанса альбуминового диализа. Основными показателями являлось ухудшение клинического состояния, рост эндогенной интоксикации с усугублением ПОН, отражающей тяжесть сепсиса.

Первые сеансы ГДФ и альбуминового диализа начинали, как минимум, через 6–8 ч после завершения оперативного вмешательства. Сосудистый доступ — двухпросветный венозный катетер Certofix DuoHF. Скорость потока крови через гемодиализатор для гемодинамически стабильных больных устанавливали равным 150–200 мл/мин. У больных, которые нуждались в инфузии симпатомиметиков — 80–100 мл/мин с постепенным наращиванием скорости и пролонгацией сеанса детоксикации до 12 ч.

ГДФ выполняли на аппарате «Multifiltrate» (Fresenius, ФРГ) с применением стандартных пакетированных стерильных растворов на основе бикарбонатного буфера. Замещение в объеме 2000–4000 мл/час проводили методом предфильтрации на гемодиализаторах AV600S. Поток диализирующего раствора составил 2000–4000 мл/час.

Альбуминовый диализ проводили на аппарате MARS Monitor 1 TC в комбинации с аппаратом «Multifiltrate». Контуры аппарата MARS заполняли 600 мл 20% раствора альбумина. Скорость перфузии альбумина — 150 мл/мин. Антикоагуляцию осуществляли гепарином при постоянной инфузии со скоростью 8–10 ЕД/кг/ч под контролем показателей коагулограммы. Скорость ультрафильтрации составила 50–150 мл/ч.

Лечение было дополнено проведением дискретного плазмафереза на аппарате «Haemonetics PCS-2», с целью удаления антигенов, антител, биогенных аминов, иммунных комплексов, продуктов распада тканей гнойно-воспалительного происхождения [5, 8].

Дискретный плазмаферез проводили с первых суток после хирургической санации очага инфекции и антибактериальной терапии. Перед плазмаферезом проводили коррекцию гипопротейнемии, гипогликемии, анемии, водно-электролитных нарушений. При неустойчивой гемодинамике использовали вазопрессоры (дофамин, мезатон и т.д.). Однократный

3) плазмаферез был проведен в 6–8 часов после операции;

4) HDF и альбумин диализ были начаты 8–12 часов после операции.

Extracorporeal detoxification program in the patients with necrotizing form of pancreatitis in group 2 (control) included:

- 1) Surgical correction;
- 2) ILBI and UVI of blood in 3–4 hours after the surgical correction;
- 3) plasmapheresis was conducted in 6–8 hours after the surgery.

HDF and albumin dialysis were started in the period between the surgical interventions and in the 7th day of the treatment in the resuscitation and intensive care unit, once a day, with a duration for 8–12 hours; 3–5 sessions of HDF and 1–2 sessions of albumin dialysis were performed. The main indications were worsening of the clinical condition, the growth of endogenous intoxication with aggravation of MOF that reflected the severity of sepsis.

The first HDF sessions and albumin dialysis started at least 6–8 hours after completion of the surgery. The vascular access was performed through Certofix DuoHF double-barreled venous catheter. The blood flow rate through a hemodiafilter for hemodynamically stable patients was established as 150–200 ml/min. In the patients who needed infusion of sympathomimetics the blood flow was 80–100 ml/min with a gradual gathering the speed and prolongation of detoxification session up to 12 hours.

GDF was performed by means of Multifiltrate apparatus using standard packaged sterile solutions on the basis of bicarbonate buffer. Substitution in volume of 2000–4000 ml/h was carried out by predilution with AV600S hemodiafilters. The dialysis fluid flow was 2000–4000 ml/h.

Albumin dialysis was performed by means of MARS Monitor 1 TS apparatus combined with Multifiltrate apparatus. MARS flow section was filled with 600 ml of 20% albumin solution. Albumin perfusion rate was 150 ml/min. Anticoagulation was carried out with heparin at a constant infusion of 8–10 U/kg/h under the control of coagulation parameters. Ultrafiltration rate was 50–150 ml/h.

The treatment was complemented by carrying out a discrete plasmapheresis by Haemonetics PCS-2 machine to remove antigens, antibodies, biogenic amines, immune complexes, the decay products of tissue purulent-inflammatory origin [5, 8].

Discrete plasmapheresis was performed from the first day after surgery rehabilitation of the focus of infection and antibiotic therapy. Before the plasmapheresis hypoproteinemia, hypoglycemia, anemia, fluid and electrolyte abnormalities were corrected. In unstable hemodynamics vasopressors were used (dofamine, mesaton etc.). Single volume of plasma exfusion was 600–1200 ml. Exfused plasma volume in patients of group 1 was filled up with donor fresh frozen plasma (40%), 10–20% solution of albumin (20%), colloid-crystalloid solutions (40%). Depending on the initial severity of the condition, the effectiveness and tolerance of treatments 3–6 plasmapheresis sessions were performed every 24–48 hours.

Quantum therapy methods were employed in both groups according to the following procedure:

— Intravenous laser blood irradiation (ILBI) — emission wavelength 635 nm, radiation power at the fiber end 1.5–2 mWt, exposure time was 20 min, within 7–10 days to decreasing the inflammatory responses and improving microcirculation.

— Ultraviolet irradiation (UVI) of blood was performed at wavelength of 365 nm, at radiation power at the fiber end of 1.0 mWt and exposure time of 5–7 min within 10 days to stimulate cellular and humoral immunity [4, 6, 9].

Infusion support was provided with Sorbilact and Rheosorbilact solutions (Yuria-Pharm, Ukraine), which both belong to the low-volume infusion means and have been injected intravenously by drop infusion of 30–40 drops/min. In patients with shock the volume of infusion was 600–1000 ml (10–15

объем эксфузии плазмы составлял 600–1200 мл. Объем эксфузированной плазмы у больных 1 группы восполняли донорской свежемороженой плазмой (40%), 10–20%-раствором альбумина (20%), коллоидно-кристаллоидными растворами (40%). В зависимости от исходной тяжести состояния, эффективности и переносимости процедуры проводили 3–6 сеансов плазмафереза каждые 24–48 часов.

Методы квантовой терапии применялись в обеих группах по следующей методике:

— Внутрисосудистое лазерное облучение крови (ВЛОК) — длина волны излучения 635 нм, мощность излучения на конце световода 1,5–2 мВт, время воздействия составляло 20 мин, в течение 7–10 дней, с противовоспалительной целью и для улучшения микроциркуляции.

— Ультрафиолетовое облучение крови (УФО) — длина волны 365 нм, мощность излучения на конце световода 1,0 мВт, время воздействия 5–7 мин в течение 10 дней, с целью стимуляции клеточного и гуморального иммунитета [4, 6, 9].

Инфузионную поддержку осуществляли препаратами Сорбилакт и Реосорбилакт (Украина, Юлия Фарм), которые относятся к малообъемным инфузионным средствам. Препараты вводили внутривенно капельно 30–40 кап./мин. При шоке объем инфузии составил 600–1000 мл (10–15 мл/кг массы тела), сначала струйно, потом капельно. Основными составляющими препаратов являются сорбитол и натрия лактат. Оба препарата содержат электролиты (натрий, калий, кальций, магний) в сбалансированном соотношении. Натрия лактат имеет нейтральную реакцию, но при введении в сосудистое русло диссоциирует на ионы натрия и молочную кислоту, которая метаболизируется в печени до натрия бикарбоната, что повышает резервную и титруемую щелочность крови. Коррекция метаболического ацидоза при этом осуществляется постепенно и не вызывает резких колебаний pH, в отличие от воздействия натрия бикарбоната.

Сорбитол ($C_6H_{14}O_6$) — шестиатомный спирт, который быстро включается в общий метаболизм, используется для срочных энергетических потребностей, повышает энергетический баланс, усиливает процессы регенерации гепатоцитов, обладает антикетогенным действием. Гипертонический (20%) раствор сорбитола имеет высокую осмолярность и оказывает диуретический эффект, а изотонический (6%) обладает дезагрегантными свойствами [12, 13].

Для оценки гемодинамических показателей проводили измерение АД (систолическое, диастолическое, среднее), центрального венозного давления, частоты сердечных сокращений, пульса. Оценку транспорта кислорода осуществляли по газовому и кислотно-основному составу крови, пульсоксиметрии и капнографии.

Забор крови для исследования осуществляли поэтапно в течение всего периода нахождения больного в ОРИТ: на 1, 3, 5, 7 суток до и после сеансов экстракорпоральной детоксикации.

Лабораторные обследования больных включали общий анализ крови и мочи, биохимический анализ крови (общий белок, альбумины, мочевины, креатинин, билирубин общий, прямой, не прямой, АЛТ, АСТ, глюкоза, электролиты, амилаза, лактат), состояние системы гемостаза (ПТИ, фибриноген).

Результаты и обсуждение

Больные поступали в тяжелом и крайне тяжелом состоянии с клинической картиной острого панкреатита и интоксикации, при УЗИ органов брюшной полости подтвержден деструктивный панкреатит — увеличение размеров железы, снижение эхогенности паренхимы, формирование очагов деструкции, появление жидкости в сальниковой сумке, формирование кист.

«Гемодинамический профиль» в обеих группах соответствовал гиподинамическому типу кровообращения

(мл/кг of the body weight), first by stream infusion, than by drop infusion. The main components of the drugs included sorbitol and sodium lactate. Both drug formulations contained electrolytes (sodium, potassium, calcium, magnesium) in a balanced ratio. Sodium lactate has a neutral reaction, however, when introduced into the bloodstream it dissociated to sodium ions and lactic acid metabolized in the liver to sodium bicarbonate that increased alkalinity of the blood. The correction of metabolic acidosis is then carried out gradually and did not cause sudden fluctuations of pH unlike the exposure of sodium bicarbonate.

Sorbitol ($C_6H_{14}O_6$), the hexabasic alcohol, that is quickly included in the overall metabolism, was employed for immediate energy needs, increasing the energy balance, strengthening the processes of regeneration of hepatocytes, and to ensure antiketogenic effect. Hypertensive (20%) sorbitol solution has high osmolarity and has diuretic effect, and 6% isotonic one has antiplatelet properties [12, 13].

To evaluate the hemodynamic parameters the blood pressure (systolic, diastolic, mean), central venous pressure, heart rate and pulse were measured. Assessment of oxygen transport was carried out on the basis of gas and acid composition of the blood, pulse oximetry and capnography.

Blood samples were harvested on days 1, 3, 5, 7 before and after sessions of the extracorporeal detoxification during the patient's stay at the ICU.

Laboratory examination of the patients included routine blood and urine tests blood biochemistry (total protein, albumin, urea, creatinine, total, direct and indirect bilirubin, ALT, AST, glucose, electrolytes, amylase, lactate) and status of the hemostasis system evaluation (PTI, fibrinogen).

Results and Discussion

The patients were admitted in severe and critical condition with a clinical picture of acute pancreatitis and intoxication, ultrasound of the abdomen confirmed destructive pancreatitis — an increased size of the pancreas, decreased echogenicity of the parenchyma, the formation of foci of destruction, the appearance of the liquid in the peritoneal omental sac, formation of cysts.

Hemodynamic profile in both groups corresponded to hypodynamic type of blood circulation, which was caused by sepsis and hypovolemia related not only to the redistribution of the liquid, but also to its increased losses (perspiration, secretion into the gastrointestinal tract, etc.). Increases in heart rate, in some cases up to 150 per minute, were considered as an important element of compensatory mechanism aimed to maintain a sufficient blood supply to organs and tissues. The hemodynamic stabilization required large doses of sympathomimetics (dofamine 6–12 mcg/kg/min, mesaton 200–2000 mg/kg/min, adrenalin 200–2000 mg/kg/min).

Group 1 patients demonstrated no improvements of hemodynamics during the first two hours after starting the extracorporeal detoxification session. By three hours of HDF and albumin dialysis an increase of the systolic blood pressure was evidenced by 12.5% in the setting of the deceleration of heart rate by 8%. Beginning from hour 7 the stabilization of systemic hemodynamics allowed to stop the administering of catecholamines in 10% of cases, and in 45% of patients the initial dose of dofamine and/or adrenalin was reduced to 25% or even less dose, or completely rejected. The average dose of dofamine was 1.4 mcg/kg/h

Guidelines for Practitioner

Таблица 1. Число больных в процентах, получавших инотропную поддержку.
Table 1. Percent of patients receiving inotropic support during the study.

Patient groups	Percent (%) of patients after the admittance to ICU at the stages of study, days					
	1 st	3 ^d	5 th	7 th	9 th	12 th
1	83.3	40	14.8	—	—	—
2	80	80	64	50	36.8	28.6

Note (примечание): patient groups — группы больных; percent (%) of patients after the admittance to ICU at the stages of study, days — процент больных после поступления в ОРИТ на этапах исследования, дни.

ния, что было обусловлено сепсисом и гиповолемией, связанной не только с перераспределением жидкости, но и с повышенными ее потерями (перспирация, секреция в желудочно-кишечный тракт и т. д.). Увеличение ЧСС, в ряде случаев до 150 уд. в мин, рассматривали как важное звено компенсаторного механизма, направленного на поддержание достаточного кровоснабжения органов и тканей. Для стабилизации гемодинамики требовалось введение больших доз симпатомиметиков (дофамин 6–12 мкг/кг/мин, мезатона 0,02–0,2 мкг/кг/мин, адреналина 0,02–0,2 мкг/кг/мин).

У больных 1 группы, в течение первых 2 ч после начала сеанса экстракорпоральной детоксикации, улучшения показателей гемодинамики не отмечалось. К 3 ч ГДФ и альбуминового диализа отмечено увеличение САД на 12,5%, на фоне урежения ЧСС на 8%. К началу 7 ч стабилизация системной гемодинамики позволила в 10% случаев прекратить введение катехоламинов, у 45% больных удалось снизить исходные дозы дофамина и/или адреналина в четыре и более раз, или полностью от них отказаться. В среднем дозировка дофамина составила 1–4 мкг/кг/ч к концу первых сут. В 1 группе инотропную поддержку у всех больных полностью прекращали к 7 сут, тогда как во 2 группе только к 15 сут (табл. 1).

Таким образом, проведение экстракорпоральных методов детоксикации приводило к стабилизации гемодинамики в более ранние сроки, это связано с быстрой элиминацией цитокинов, коррекцией осмотического равновесия и протезированием гомеостатической функции почек. По показателям «красной крови» и тромбоцитов достоверных статистических изменений в группах не отмечено.

Достоверно снижался уровень лейкоцитов, ЛИИ, лимфоцитов, палочкоядерных и юных форм нейтрофилов. На момент поступления в ОРИТ уровень лейкоцитов в обеих группах превышал нормальные показатели (от 9 до $16 \times 10^9/\text{л}$). Снижение лейкоцитоза в 1 группе до нормальных цифр (среднее значение $8,6 \pm 2,6$) отмечено к 7-м суткам. Во 2 группе количество лейкоцитов сохранялось повышенным в течение всего анализируемого срока. В биохимическом анализе крови отмечали статистически достоверные изменения уровня белка, альбумина, мочевины, креатинина, билирубина, АЛТ, АСТ, амилазы и лактата.

В течение 7-х суток количество общего белка крови у больных всех групп оставалось ниже нормальных значений. На 3–5-е сутки отмечено, что количество общего белка у больных 1 группы выше на 10,3% по срав-

то к концу первого дня. В группе 1 инотропная поддержка во всех пациентах была полностью прекращена к 7 сут, тогда как во 2 группе только к 15 сут (табл. 1).

Сlightly elevated CVP as a result of the PTA was normalized on day 3. Thus, the extracorporeal detoxification methods resulted in hemodynamic stabilization at an earlier date, this is due to the rapid elimination of cytokines, osmotic balance correction and prosthetics of homeostatic kidney function. There were no significant differences between groups in values of parameters of «red blood» and platelets. The level of white blood cells, leukocyte index of intoxication and lymphocytes, stab and young forms of neutrophils was significantly reduced.

At the time of admission to the ICU the levels of white blood cells in both groups exceeded normal levels (from 9 to $16 \times 10^9/\text{l}$). Decrease in white blood cells in group 1 to normal values (mean of 8.6 ± 2.6) was observed on day 7. In group 2, the number of leucocytes remained elevated during the entire period of staying of patients in the ICU. Biochemical testing of blood revealed statistically significant changes in the level of protein, albumin, urea, creatinine, bilirubin, ALT, AST, amylase and lactate.

Within seven days the total protein in the blood of patients from both groups remained below normal values. On days 3–5 the amount of total protein in patients of group 1 was 10.3% higher compared to group 2. On day 7 an increased albuminuria (21.6% more than norm) was observed in group 1 compared to group 2 (Table 2).

On day 3 patients from group 1 experienced a decrease of total bilirubin by 46.2%, ALT — by 33.3%, AST — 34.4%, urea — to normal values by 49.3%, creatinine — to normal values by 23.4%, amylases by 49% compared to group 2 followed by normalization of values on day 7. At all stages of the study, blood glucose levels in both groups remained within the normal range, but in group 1 the blood glucose level was kept at a lower values correspondent to lowest limits of norm. In 3–5 days in group 1 fibrinogen levels decreased to normal values by 27.9% compared to group 2. By day 3 in group 1 an increase in platelet counts to normal values by 10.5% was noted compared with group 2.

The LII exceeded the norm by 5 times already from the first day of the ICU admittance, that, according to the literature, demonstrates lacking of immunity and expressed endogenous intoxication. The LII high values indicate the need of more active disintoxication therapy and, on the other hand, confirmed the presence of pathological changes of the immune system.

Таблица 2. Динамика биохимических показателей.
Table 2. Dynamics of biochemical parameters in patients.

Parameters	Groups	Parameters prior to surgery	Parameters after the surgery at the stages of study, days			
			1 st	3 ^d	5 th	7 th
Blood protein, g/l	2	63.1±3.4	56.1±2.4	53.2±1.5	54.4±0.7	52.1±1.4
	1	60.2±2.3*	56.3±2.1*	58.6±1.3*	57.2±1.7*	58.2±1.5*
Albumins, g/l	2	36.9±3.1	29.2±0.2	26.8±1.3	30.9±3.2	31.5±2.1
	1	35.7±3.2*	28.7±0.4*	32.4±1.1*	35.2±2.1*	36.1±2.4*
Total bilirubin, mmol/l	2	19.1±1.4	26.5±2.1	35.1±2.4	25.4±1.2	16.2±2.6
	1	23.3±1.1*	29.1±1.4*	18.9±2.7*	12.1±1.5*	9.4±1.3*
ALT, mcm*h	2	0.59±0.11	0.54±0.21	0.57±0.12	0.53±0.11	0.47±0.17
	1	0.63±0.1*	0.46±0.19*	0.38±0.14*	0.23±0.21*	0.21±0.13*
AST, mcm*h	2	0.57±0.15	0.56±0.14	0.61±0.17	0.55±0.15	0.43±0.12
	1	0.60±0.12*	0.50±0.18*	0.40±0.12*	0.28±0.23*	0.24±0.21*
Blood urea, mmol/l	2	8.5±0.6	10.1±2.4	14.2±3.1	9.1±0.4	8.3±1.2
	1	8.6±1.1*	8.9±2.2*	7.2±1.6*	5.8±1.8*	4.2±1.2*
Creatinine, mmol/l	2	0.098±0.02	0.120±0.05	0.128±0.06	0.118±0.01	0.110±0.02
	1	0.115±0.01*	0.119±0.04*	0.110±0.03*	0.075±0.02	0.049±0.05*
Glucose, mmol/l	2	7.1±0.4	6.8±0.4	6.3±0.5	5.7±0.7	5.9±0.9
	1	7.3±0.3*	6.0±1.2*	5.1±0.4*	4.7±0.4*	4.6±0.8*
Amilase, mmol/l	2	2063.1±3.4	2056.1±2.4	1853.2±1.5	1854.4±0.7	1652.1±1.4
	1	2160.2±2.3*	2056.3±2.1*	1058.6±1.3*	257.2±1.7*	58.2±1.5*

Note (примечание): * — significant differences compared to the 2 group — достоверность различий по сравнению со группой 2 ($P<0,05$); parameters — показатель; groups — группы; parameters prior to surgery — значения показателей до операции; parameters after the surgery at the stages of study, days — значения показателей после операции на этапах исследования; blood protein — белок крови; albumins — альбумины; total bilirubin — билирубин общий; ALT — АЛТ; AST — АСТ; blood urea — мочевины крови; creatinine — креатинин; glucose — глюкоза; amilase — амилаза; g/l — г/л; mmol/l — ммоль/л; mcm*h — мкм*ч.

нению со 2 группой. На 7-е сутки в группе 1 фиксировали рост альбуминемии до нормальных значений (на 21,6% достоверно больше, $p<0,05$ по сравнению с группой 2) (табл. 2). Далее все изменения в % приведены также по сравнению с группой 2.

К 3-м суткам в 1 группе отмечали снижение общего билирубина на 46,2%, АЛТ — на 33,3%, АСТ — на 34,4%, мочевины — до нормальных значений (на 49,3%), креатинина — до нормальных значений (на 23,4%), амилазы — на 49% с последующей нормализацией к 7-м суткам. На всех этапах исследования уровень гликемии в обеих группах оставался в пределах нормальных значений, но в 1 группе уровень глюкозы крови постоянно находился на нижней границе нормы. На 3–5-е сутки в 1 группе отмечали снижение уровня фибриногена до нормальных значений (на 27,9%). К 3-м суткам в 1 группе отметили увеличение количества тромбоцитов до нормальных значений (на 10,5%).

ЛИИ превышал норму в 5 раз уже с 1-х суток заболевания, что, по данным литературы, свидетельствует о недостаточности иммунитета и выраженной эндогенной интоксикации. Высокие значения ЛИИ свидетельствуют о необходимости более активной дезинтоксикационной терапии, с другой стороны, подтверждают наличие патологических изменений иммунной системы.

К 3-м суткам в 1 группе отметили уменьшение ЛИИ на 59,2% по сравнению со 2 группой. Выявили, что раннее включение методов экстракорпоральной детоксикации в комплексном лечении панкреонекроза снижает тяжесть эндотоксикоза на 2–3-е сутки послеоперационного периода, во 2 группе — только на 15-е сутки (табл. 3).

On day 3 a decrease of the LII pattern by 59.2% was noted in a group 1 compared to group 2. It was revealed that early inclusion of methods of extracorporeal detoxification in the complex treatment of pancreatic necrosis reduces the severity of endotoxemia in 2–3 postoperative days, in group 2 — only in 15 days (Table 3).

The analysis of the data showed that in group 1 lactate level came back to norm in 7 days (mean 1.8 ± 0.5 mmol/l), in group 2 — in 15 days (mean 1.7 ± 0.2 mmol/l).

It was found that early extracorporeal detoxification in the complex treatment of pancreatic necrosis reduced clinical manifestations of endotoxemia in group 1 by 30–50% compared to group 2. Thus, patients in group 1 experienced a two-fold decrease in APACHE II scoring and a decrease in the severity of endotoxemia in 2–3 postoperative days were observed, whereas in a group 2 the same changes were observed only on day 15 (Table 4).

Using the SOFA scaling the patients of group 2 remained longer in a critical condition resulted in higher mortality (41.1%), whereas in group 1 all patients survived (Table 5).

Alterations of vital functions in destructive pancreatitis are due to a decreased organ perfusion. This study demonstrate that early inclusion of complex extracorporeal detoxification treatment of destructive pancreatitis leads to reduction of clinical patterns of endotoxemia by 30–50% in concert with a decreased APACHE II point values in a group 1 compared to the control (group 2). Hemodynamic stabilization, the ability to reduce the doses of agonists and recovery of renal function suggest a possible normalization of all visceral blood flow, which in 61% of cases prevented the development of anuric form of acute renal failure, and

Guidelines for Practitioner

Таблица 3. Динамика лейкоцитарного индекса интоксикации.

Table 3. Dynamics of leukocyte index of intoxication.

Patient groups	Leukocyte at the stages of study, days							
	1 st	3 ^d	5 th	7 th	9 th	12 th	15 th	18 th
1	5.7±1.05	3.37± 0.4	2.7±0.3	1.6±0.5	—	—	—	—
2	5.7±1.07	5.2±0.4	5.7±0.5	5.5± 0.4	5.7±0.4	5.8±0.6	3.9±0.2	—

Note (примечание): patient groups — группы больных; leukocyte at the stages of study, days — значения показателей на этапах исследования, сутки.

Таблица 4. Динамика тяжести состояния больных с некротической формой панкреатита ($M \pm m$).Table 4. Dynamics of severity of necrotic pancreatitis forms (by APACHE II scale) of the patients with ($M \pm m$).

Index	Groups	Value of index on study investigation, days					
		on admission	3 ^d	7 th	9 th	12 th	15 th
APACHE II, points	2	23.4±2.3	22.2±1.3	21.6±1.4	19.6±1.4	17.6±1.3	11.6±1.4
	1	24.2±1.2	13.1±1.3	10.7±1.2	—	—	—

Note (примечание): index — показатель; groups — группы больных; on admission — при поступлении; value of index on study investigation, days — значение показателей на этапах исследования, сутки; APACHE II, points — тяжесть состояния по шкале APACHEII, баллы.

Таблица 5. Выраженность полиорганной недостаточности по шкале SOFA.

Table 5. Evaluation of multiple organ failure by SOFA scale.

Patient groups	Value of SOFA scale (points) index on study investigation, days							Mortality, day18
	1 st	3 ^d	5 th	7 th	9 th	12 th	15 th	
2	12–14	13–14	15–16	17–18	18–19	18–19	20–21	41.1%
1	12–14	6–7	3–4	1–2	—	—	—	—

Note (примечание): patient groups — группы больных; value of SOFA scale (points) index on study investigation, days — динамика показателей по шкале SOFA (баллы) на этапах исследования, сутки; mortality — летальность.

Анализ полученных данных показал, что в 1 группе уровень лактата приходил к норме к 7-м суткам (среднее значение $1,8 \pm 0,5$ ммоль/л), во 2 группе — к 15-м суткам (среднее значение $1,7 \pm 0,2$ ммоль/л).

Выявили, что раннее проведение экстракорпоральной детоксикации в комплексном лечении панкреонекроза обеспечивает снижение клинических проявлений эндотоксикоза в 1 группе на 30–50% по сравнению со 2 группой. Таким образом, у больных 1 группы отметили двукратное снижение среднего балла по шкале APACHE II и уменьшение тяжести эндотоксикоза уже на 2–3-е сутки послеоперационного периода, во 2 группе — только на 15-е сутки (табл. 4).

По шкале SOFA больные 2 группы долгое время оставались в тяжелом состоянии, что отразилось на летальности (41,1%), тогда как в 1 группе летальных случаев не было (табл. 5).

Таким образом, нарушения витальных функций, развивающиеся при деструктивном панкреатите, являются отражением нарушений органной перфузии. При анализе полученных результатов исследования в динамике удалось выявить, что раннее включение экстракорпоральной детоксикации в комплексное лечение деструктивного панкреатита обеспечивает уменьшение клинических признаков эндотоксикоза в 1 группе на 30–50% по сравнению со 2 контрольной группой. У больных 1 группы отметили двукратное снижение среднего балла по шкале APACHE II и уменьшение тя-

decreased the number of developed MOF in in 22% of cases. Most importantly, the extracorporeal detoxification methods aided significantly to reducing the mortality. The use of low-capacity fluid therapy (Sorbilact and Reosorbilact) allowed to restore peristalsis at an earlier time point (prior to day 2 or 3) and reduce edema.

Conclusion

1. Early inclusion of extracorporeal detoxification in a comprehensive treatment protocol of destructive pancreatitis reduces clinical signs of endotoxemia by 30–50%.

2. Hemodynamics in a destructive pancreatitis corresponds to a hypodynamic type of circulation caused by sepsis and reactions to hypovolemia. Extracorporeal detoxification resulted in hemodynamic stabilization at an earlier date presumably due to the rapid elimination of cytokines, osmotic balance correction and prosthetics of homeostatic kidney function.

3. Inclusion of albumin dialysis and hemodiafiltration in the complex intensive therapy of severe sepsis and septic shock in destructive pancreatitis makes it easier to stabilize hemodynamics, reduces the need in adrenoceptor agonists, significantly decreases the symptoms of severe intoxication. Maximum capacity of detoxification by an albumin dialysis is implemented through a combination of different principles of elimination of toxic substances —

жести эндотоксикоза уже на 2–3-е сутки послеоперационного периода, во 2 группе — только на 15-е сутки. Стабилизация гемодинамики, возможность уменьшения доз адреномиметиков и восстановление функции почек свидетельствуют о возможной нормализации всего висцерального кровотока, что в 61% случаев позволило предупредить развитие анурической формы острой почечной недостаточности, а в 22% случаев — избежать развития ПОН. Проведение экстракорпоральных методов детоксикации позволило достоверно снизить летальность. Использование малообъемной инфузионной терапии (Сорбилакт и Реосорбилакт) позволило в более ранние сроки восстановить перистальтику ко 2–3-м суткам, а также уменьшить отечный синдром.

Выводы

1. При деструктивном панкреатите отмечается выраженный эндотоксикоз с повышением лейкоцитарного индекса интоксикации. Раннее включение экстракорпоральной детоксикации в комплекс лечения деструктивного панкреатита обеспечивает снижение клинических признаков эндотоксикоза на 30–50%.

2. Гемодинамические показатели при деструктивном панкреатите соответствуют гиподинамическому типу кровообращения, что обусловлено сепсисом и реакцией организма на гиповолемию. Проведение экстракорпоральных методов детоксикации приводит к стабилизации гемодинамики в более ранние сроки, что

связано с быстрой элиминацией цитокинов, коррекцией осмотического равновесия и протезированием гомеостатической функции почек.

4. Включение гексгидроксилов в формулы Сорбилакта и Реосорбилакта помогает нормализовать гемодинамические параметры, уменьшает отечный синдром и стимулирует перистальтику кишечника.

связано с быстрой элиминацией цитокинов, коррекцией осмотического равновесия и протезированием гомеостатической функции почек.

3. Включение альбуминового диализа и гемодиализа в комплексную интенсивную терапию сепсиса и септического шока при деструктивном панкреатите позволяет быстрее стабилизировать гемодинамику, уменьшить потребность в адреномиметиках, а также значительно снизить проявления интоксикации. Максимальный детоксикационный потенциал альбуминового диализа реализуется благодаря сочетанию различных принципов элиминации токсических веществ — конвекции, сорбции и диффузии в экстракорпоральном контуре MARS. Использование методов экстракорпоральной детоксикации при деструктивном панкреатите приводит к достоверному снижению летальности.

4. Применение шестиатомных спиртов в составе Сорбилакта и Реосорбилакта позволяет нормализовать гемодинамические показатели, уменьшает отечный синдром и стимулирует перистальтику кишечника.

Литература

1. Мороз В.В., Григорьев Е.В., Чурляев Ю.А. Абдоминальный сепсис. М.; 2006: 192.
2. Баженов С.Ф., Толстой А.Д., Красногоров В.Б., Кurygin A.A., Синенченко Г.И., Сухарев В.Ф., Гринев М.В., Лапшин В.Н., Вербицкий В.Г., Киселев В.А., Кабанов М.Ю., Гольцов В.Р. Острый панкреатит. Протоколы диагностики и лечения. Санкт-Петербургский НИИ скорой помощи им. И.И. Джanelidze. СПб.; 2004: 12.
3. Ермолов А.С., Иванов П.А., Беляев А.А. Роль малоинвазивных вмешательств при лечении острого панкреатита. Мат-лы городского семинара. М.: НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского; 2003: 5–9.
4. Гостышев В.К., Глушко В.А. Панкреонекроз и его осложнения. Основные принципы хирургической тактики. Хирургия. Журн. им. Н.И.Пирогова. 2003; 3: 50–54. PMID: 12698653
5. Горский В.А., Ковальчук Л.В., Агапов М.А., Хорева М.В., Ованесян Э.Р., Никонова А.С., Греченко В.В. Антимедиаторная терапия в комплексном лечении острого деструктивного панкреатита. Хирургия. Журн. им. Н.И.Пирогова. 2010; 3: 54–61. PMID: 20524238
6. Beger H.G., Rau B., Isenmann R. Natural history of necrotizing pancreatitis. *Pancreatology*. 2003; 3 (2): 93–101. <http://dx.doi.org/10.1159/000070076>. PMID: 12774801
7. Попова Е.Ю., Кузнецов Н.А., Владимиров В.Г., Заринская С.А., Андрейцев А.Н., Бронштейн А.Т., Кузин А.Н. Поражение забрюшинной клетчатки при деструктивном панкреатите. Хирургия. Журн. им. Н.И.Пирогова. 2004; 8: 52–55. PMID: 15340319
8. Buter A., Imrie C.W., Carter C.R., Evans S., McKay C.J. Dynamic nature of early organ dysfunction determines outcome in acute pancreatitis. *Br. J. Surg.* 2002; 89 (3): 298–302. <http://dx.doi.org/10.1046/j.0007-1323.2001.02025.x>. PMID: 11872053
9. Филимонов М.И., Гельфанд Б.Р., Бурневич С.З. Деструктивный панкреатит: комплексная диагностика и лечение. *Новый мед. журнал*. 1997; 4 (3): 10–13.
10. Хорошилов С.Е., Никулин А.В. Эфферентное лечение критических состояний. *Общая реаниматология*. 2012; 8 (4): 30–41. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2012-4-30>

References

1. Moroz V.V., Grigoryev E.V., Churlyayev Yu.A. Abdominalnyi sepsis. [Abdominal sepsis]. Moscow; 2006: 192. [In Russ.]
2. Bagenko S.F., Tolstoi A.D., Krasnorogov V.B., Kurygin A.A., Sinenchenko G.I., Sukharev V.F., Grinev M.V., Lapshin V.N., Verbitsky V.G., Kiselev V.A., Kabanov M.Yu., Goltsov V.R. Ostryi pankreatit. Protokoly diagnostiki i lecheniya. [Acute pancreatitis. Diagnostic and treatment protocols]. Sankt-Peterburgskiy NII skoroi pomoshchi imeni I.I.Dzhanelidze. Sankt-Peterburg; 2004: 12. [In Russ.]
3. Ermolov A.S., Ivanov P.A., Belyayev A.A. Rol maloinvazivnykh vmeshatelstv pri lechenii ostrogo pankreatita. Materialy gorodskogo seminar. [Role of minimally invasive interventions in the treatment of acute pancreatitis. Proceedings of the town seminar]. Moscow: NII skoroi pomoshchi imeni N.V. Sklifosovskogo; 2003: 5–9. [In Russ.]
4. Gostishchev V.K., Glushko V.A. Pankreonekroz i ego oslozhneniya. Osnovnye printsipy khirurgicheskoi taktiki. [Pancreonecrosis and its complications, basic principles of surgical approach]. *Khirurgiya. Zhurnal Imeni N.I.Pirogova*. 2003; 3: 50–54. PMID: 12698653. [In Russ.]
5. Gorsky V.A., Kovalchuk L.V., Agapov M.A., Khoreva M.V., Ovanesyan E.R., Nikonova A.S., Grechenko V.V. Antimediatornaya terapiya v kompleksnom lechenii ostrogo destruktivnogo pankreatita. [Antimediator therapy in the complex treatment of acute destructive pancreatitis]. *Khirurgiya. Zhurnal Imeni N.I.Pirogova*. 2010; 3: 54–61. PMID: 20524238. [In Russ.]
6. Beger H.G., Rau B., Isenmann R. Natural history of necrotizing pancreatitis. *Pancreatology*. 2003; 3 (2): 93–101. <http://dx.doi.org/10.1159/000070076>. PMID: 12774801
7. Popova E.Yu., Kuznetsov N.A., Vladimirov V.G., Zarinskaya S.A., Andreitsev A.N., Brontvein A.T., Kuzin A.N. Porazhenie zabryushinnoi kletchatki pri destruktivnom pankreatite. [Lesions of retroperitoneal fatty tissue in destructive pancreatitis]. *Khirurgiya. Zhurnal Imeni N.I.Pirogova*. 2004; 8: 52–55. PMID: 15340319. [In Russ.]
8. Buter A., Imrie C.W., Carter C.R., Evans S., McKay C.J. Dynamic nature of early organ dysfunction determines outcome in acute pancreatitis. *Br. J. Surg.* 2002; 89 (3): 298–302. <http://dx.doi.org/10.1046/j.0007-1323.2001.02025.x>. PMID: 11872053

Guidelines for Practitioner

11. Хорошилов С.Е., Никулин А.В., Марухов А.В. Предупреждение развития синдрома полиорганной недостаточности в ферментативной фазе тяжелого острого панкреатита. *Вестн. НМИЦ им. Н.И.Пирогова*. 2014; 9 (1): 58–62.
12. Гуменюк Н.И., Киркилевский С.И. Инфузионная терапия. Теория и практика. Киев: Книга плюс; 2004: 119–123.
13. Кравец В.П., Кравец В.В. Диагностика и лечение больных с парезом кишечника в раннем послеоперационном периоде. *Вестн. Сумского Государственного университета. Серия: Медицина*. 2007; 2: 172–175.
14. Батоцыренов Б.В., Ливанов Г.А., Андрианов А.Ю., Васильев С.А., Кузнецов О.А. Особенности клинического течения и коррекция метаболических расстройств у больных с тяжелыми отравлениями метадонном. *Общая реаниматология*. 2013; 9 (2): 18–22. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-2-18>
15. Еремеева Л.Ф., Менищikov В.В., Бердников А.П., Ямольский А.Ф. Проведение липидной «он лайн» гемодиализации (экспериментальное исследование). *Общая реаниматология*. 2013; 9 (1): 37–42. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-1-37>
16. Корнилов И.А., Гражданкин И.О., Редкин Д.А., Дерягин М.Н., Ефремов С.М., Ломиворотов В.В. Экстракорпоральная мембранная оксигенация при остром инфаркте миокарда, осложнённом кардиогенным шоком. *Общая реаниматология*. 2013; 9 (3): 54–57. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-3-54>
17. Хорошилов С.Е., Никулин А.В., Марухов А.В. Применение плазмафереза в ферментативной фазе тяжелого острого панкреатита. *Общая реаниматология*. 2013; 9 (6): 53–60. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-6-53>
9. Filimonov M.I., Gelfand B.R., Burnevich S.Z. Destruktivnyi pankreatit: kompleksnaya diagnostika i lechenie. [Destructive pancreatitis: a comprehensive diagnosis and treatment]. *Novyi Meditsinsky Zhurnal*. 1997; 4 (3): 10–13. [In Russ.]
10. Khoroshilov S.E., Nikulin A.V. Efferentnoe lechenie kriticheskikh sostoyanii. *Obshchaya Reanimatologiya*. [Efferent treatment for critical conditions. *General Reanimatology*]. 2012; 8 (4): 30–41. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2012-4-30>. [In Russ.]
11. Khoroshilov S.E., Nikulin A.V., Marukhov A.V. Preduprezhdenie razvitiya sindroma poliorgannoi nedostatochnosti v fermentativnoi faze tyazhelogo ostrogo pankreatita. [Prevention of multiple organ dysfunction syndrome in the enzymatic phase of severe acute pancreatitis]. *Vestnik Natsionalnogo Mediko-Khirurgicheskogo Tsentra Imeni N.I.Pirogova*. 2014; 9 (1): 58–62. [In Russ.]
12. Gumenyuk N.I., Kirkilevsky S.I. Infuzionnaya terapiya. Teoriya i praktika. [Infusion therapy. Theory and practice]. Kiev: Kniga plus; 2004: 119–123. [In Russ.]
13. Kravets V.P., Kravets V.V. Diagnostika i lechenie bolnykh s parezom kishechnika v rannem posleoperatsionnom periode. [Diagnosis and treatment of patients with enteroparesis in the early postoperative period]. *Vestnik Sumskogo Gosudarstvennogo Universiteta. Seriya: Meditsina*. 2007; 2: 172–175. [In Russ.]
14. Batotsyrenov B.V., Livanov G.A., Andrianov A.Yu., Vasilyev S.A., Kuznetsov O.A. Osobennosti klinicheskogo techeniya i korrektsiya metabolicheskikh rasstroystv u bolnykh s tyazhelymi otravleniyami metadonom. *Obshchaya Reanimatologiya*. [The clinical course and correction of metabolic disturbances in patients with severe methadone poisoning. *General Reanimatology*]. 2013; 9 (2): 18–22. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-2-18>. [In Russ.]
15. Eremeyeva L.F., Menshchikov V.V., Berdnikov A.P., Yampolsky A.F. Provedenie lipidnoi «on line» gemodifiltratsii (eksperimentalnoe issledovanie). *Obshchaya Reanimatologiya*. [Lipid on-line hemodiafiltration (experimental study). *General Reanimatology*]. 2013; 9 (1): 37–42. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-1-37>. [In Russ.]
16. Kornilov I.A., Grazhdankin I.O., Redkin D.A., Deryagin M.N., Efremov S.M., Lomivorotov V.V. Ekstrakorporalnoe membrannaya oksigenatsiya pri ostrom infarkte miokarda, oslozhnennom kardiogennym shokom. *Obshchaya Reanimatologiya*. [Extracorporeal membrane oxygenation in acute myocardial infarction complicated by cardiogenic shock. *General Reanimatology*]. 2013; 9 (3): 54–57. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-3-54>. [In Russ.]
17. Khoroshilov S.E., Nikulin A.V., Marukhov A.V. Primenenie plazmaferaza v fermentativnoi faze tyazhelogo ostrogo pankreatita. *Obshchaya Reanimatologiya*. [Use of plasmapheresis in the enzymatic phase of severe acute pancreatitis. *General Reanimatology*]. 2013; 9 (6): 53–60. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-6-53>. [In Russ.]

Поступила 26.11.2014

Submitted 26.11.2014

ПРОФЕССОР ЭДУАРД ВЛАДИМИРОВИЧ НЕДАШКОВСКИЙ

К 75-летию со дня рождения



8 апреля 2015 года исполнилось 75 лет профессору кафедры анестезиологии и реаниматологии Северного государственного медицинского университета (СГМУ), выдающемуся ученому, врачу и педагогу Эдуарду Владимировичу Недашковскому. Почетный доктор СГМУ, председатель Ассоциации врачей анестезиологов-реаниматологов Архангельской области, главный внештатный анестезиолог-реаниматолог Министерства здравоохранения Архангельской области, почетный член Всероссийской Федерации анестезиологов-реаниматологов, почетный президент Ассоциации анестезиологов-реаниматологов Северо-Запада, доктор медицинских наук, профессор, Эдуард Владимирович встречает свой юбилей в кругу многочисленных учеников и коллег, продолжая активно трудиться и передавать свой богатейший опыт новым поколениям врачей.

Эдуард Владимирович родился в 1940 году, в 1963 году окончил лечебный факультет Архангельского государственного медицинского института (АГМИ). После окончания клинической ординатуры и практической работы хирургом в 1967 году был избран по конкурсу ассистентом кафедры общей хирургии АГМИ. В 1974 году защитил кандидатскую диссертацию на тему «Применение дроперидола и фентанила в общей анестезии у больных старше 65 лет».

В 1975 году Недашковский Э. В. стал непосредственным организатором курса анестезиологии и реаниматологии, который в 1979 году вошел в состав кафедры факультетской хирургии, а в 1994 году реорганизован в кафедру анестезиологии и реаниматологии. В эти годы была создана новая клиническая база АГМИ в анестезиолого-реанимационном центре на базе городской клинической больницы №1 скорой медицинской помощи. С 1977 по 1984 годы Недашковский Э. В. совмещал педагогическую работу с обязанностями заведующего центром. В этот период он начал разрабатывать принципы управления анестезиолого-реанимационной службой, создал и внедрил в деятельность многих стационаров административные компьютерные программы «Анестезиология» и «Реаниматология». Эта работа легла в основу его докторской диссертации на тему «Оперативное управление анестезиолого-реанимационной службой многопрофильной больницы (системный анализ, моделирование, компьютеризация)», которая была успешно защищена в 1994 году, в связи с чем ему присвоена ученая степень доктора медицинских наук, а в 1995 году — ученое звание профессора.

Многие ученики проф. Недашковского возглавляют анестезиолого-реанимационные службы крупных больниц в городах Северо-Запада, работают в различных регионах России и за рубежом. С 1996 г. кафедра анестезиологии и реаниматологии открыла курс повышения квалификации врачей и стала одним из центров пред- и последилового обучения врачей анестезиологов-реаниматологов на Европейском Севере России и расширила свою клиническую базу за счет 8 основных стационаров Архангельска, Северодвинска и Новодвинска.

С 1990 по 1993 год Недашковский Э. В. исполнял обязанности проректора АГМИ по лечебной работе, где основные усилия его деятельности были направлены на реорганизацию и совершенствование совместной работы клинических кафедр и клинических ЛПУ в новых экономических условиях.

При участии проф. Недашковского Э. В. и возглавляемого им с 1994 по 2011 год коллектива кафедры успешно развиваются новые направления лечебной деятельности, создаются новые структурные подразделения и улучшаются основные показатели деятельности анестезиолого-реанимационной службы стационаров Архангельской области, осваиваются высокие технологии экспресс-диагностики, интенсивной терапии, обезболивания и клинического мониторинга.

Эдуард Владимирович — руководитель 30 завершенных кандидатских и 5 докторских диссертаций. Имеет свыше 560 научных публикаций, является редактором ряда научных сборников, в том числе 20 выпусков «Освежающего курса лекций» по материалам Всемирных и Европейских конгрессов по специальности (пер. с англ.) и журнала Всемирной федерации обществ анестезиологов «Update in anaesthesia», автор и соавтор 16 монографий и руководств, включая Национальное руководство по интенсивной терапии.

В течение четырех лет Эдуард Владимирович был президентом Ассоциации анестезиологов-реаниматологов Северо-Запада. В 2003 году провел в Архангельске 2-й съезд этой ассоциации, а с 2005 года — 5 всероссийских научных конференций с международным участием «Беломорский симпозиум». Является членом редакционных советов журналов «Анестезиология и реаниматология» и «Вестник интенсивной терапии».

Недашковский Э. В. награжден знаком «Отличник здравоохранения», медалью «Ветеран труда», званием «Заслуженный врач РФ», медалью имени Н. М. Амосова, медалью «За укрепление авторитета российской науки», грамотами и благодарностями Администрации Архангельской области, Архангельского областного собрания депутатов, мэрии г. Архангельска, двукратно дипломом лауреата премии им. М. В. Ломоносова.

Большой труженик, выдающийся ученый и организатор здравоохранения, в личном общении Эдуард Владимирович оптимист, добрый, заботливый и отзывчивый человек. Профессор Недашковский является примером для учеников и коллег и пользуется среди них неоспоримым авторитетом и уважением. У Эдуарда Владимировича замечательная семья: сын, двое внуков.

Редакция журнала «Общая реаниматология», коллектив кафедры анестезиологии и реаниматологии СГМУ, друзья, ученики, коллеги сердечно поздравляют Э. В. Недашковского с юбилеем и желают ему крепкого здоровья, долгих лет жизни, дальнейших творческих успехов, хорошего настроения и удачи во всем.

Информация для авторов журнала «Общая реаниматология»

Правила подачи и публикации рукописи, дополненные в соответствии с рекомендациями ICMJE (International Committee of Medical Journal Editors) для научных изданий, входящих в международные базы данных

Правовые аспекты публикации рукописи

Условия публикации рукописи

- Рукописи публикуются при обязательном соблюдении автором этики и правил публикации (подробнее на сайте журнала www.reanimatology.com).
- Рукописи публикуются с соблюдением норм авторского права и конфиденциального отношения к персональным данным авторов.
- Рукописи публикуются бесплатно.
- Рукописи, принятые в журнал, проходят рецензирование на оригинальность, этичность, значимость, адекватность статистической обработки данных на условиях конфиденциальности за исключением выявления фальсификации данных.
- Редколлегия оставляет за собой право сокращать и редактировать рукописи.

Причины снятия с печати и задержки публикации рукописи

- Рукописи, не соответствующие профилю журнала, не принимаются.
- Рукописи, ранее опубликованные, а также направленные в другой журнал или сборник, не принимаются.
- За некорректное оформление и недостоверность представляемых библиографических данных авторы несут ответственность вплоть до снятия рукописи с печати.
- Нарушение правил оформления рукописи, несвоевременный, а также неадекватный ответ на замечания рецензентов и научных редакторов приводят к задержке публикации до исправления указанных недостатков. При игнорировании замечаний рецензентов и научных редакторов рукопись снимается с дальнейшего рассмотрения.
- Рукописи отклоненных работ редакцией не возвращаются.

Интересы сторон: Автор/Редакция

Редакция оставляет за собой право считать, что авторы, предоставившие рукопись для публикации в журнал «Общая реаниматология», согласны с условиями публикации и отклонения рукописи, а также с правилами ее оформления.

Редакция оставляет за собой право считать, что автор, ответственный за переписку с редакцией, выражает позицию всего авторского коллектива.

Автор получает информационные электронные письма обо всех этапах продвижения рукописи, включая уведомление о несоответствии рукописи профилю журнала и правилам оформления; тексты рецензий; решение редколлегии о публикации или отклонении рукописи; верстку отредактированного варианта рукописи для получения авторского допуска к печати. Дополнительную информацию о продвижении рукописи автор может получить по адресу: journal_or@mail.ru; www.reanimatology.com.

Гарантии Автора

Авторы должны гарантировать, что они написали полностью оригинальную работу. Использование любых материалов других авторов допускается только с их разрешения и при обязательной ссылке на этих авторов.

Авторы должны гарантировать, что список авторов содержит только тех лиц, которые внесли ощутимый вклад в концепцию, проект, исполнение или интерпретацию заявленной работы, то есть тех лиц, которые соответствуют критериям авторства.

Авторы должны гарантировать соответствие качества перевода статьи на английский язык международным требованиям.

Гарантии редакции

Редакция должна гарантировать, что любые рукописи, полученные для рецензирования, будут восприниматься как конфиденциальные документы. Они не могут быть показаны другим лицам и обсуждены с ними, за исключением лиц, уполномоченных редакцией.

Редакция должна гарантировать, что неопубликованные материалы, находящиеся в предоставленной статье, не будут использованы в собственном исследовании научного редактора и рецензентов без письменного разрешения автора.

Редакция должна гарантировать, что рецензент не будет допущен к рассмотрению рукописи, если имеет место конфликт интересов в результате его конкурентных, партнерских либо других отношений или связей с кем-либо из авторов, компаний или организаций, связанных с материалом публикации.

Конфликт интересов сторон: Автор/Редакция

Конфликт интересов сторон Автор/Редакция решается путем переговоров сторон в соответствии с действующим законодательством РФ и международными нормативно-правовыми актами, регулирующими публикацию рукописей в медицинских журналах.

Согласие или несогласие на публикацию отредактированного варианта рукописи выражается в электронном письме автора, ответственного за переписку с редакцией.

Редакция и издательство не несут ответственности за мнения, изложенные в публикациях, а также за содержание рекламы.

Сроки продвижения рукописи

— Экспертиза на соответствие профилю журнала и правилам оформления — не более 3-х дней с момента поступления рукописи в редакцию.

— Рецензирование — не более 20-и дней с момента электронной отправки рецензенту рукописи.

— Ответ автора рецензентам — не более 7-и дней с момента электронной отправки автору рецензии.

— Заседание редколлегии — 1 раз в 2 месяца не позднее, чем за 1 месяц до выпуска тиража журнала.

— Оповещение автора о решении редколлегии и ознакомление с версткой отредактированного варианта — не позднее 3-х дней с момента выхода соответствующей информации.

Материалы для публикации рукописи подаются в редакцию на русском и английском языках в виде бумажных листов и идентичных им по содержанию электронных файлов. Материал статей включает по-отдельности:

- 1) титульный лист;
- 2) резюме и ключевые слова;
- 3) название и полный текст рукописи с подписями всех авторов, как в бумажной, так и в электронной версии (в виде скана страницы), подтверждающими участие в выполнении представляемой работы и удостоверяющими согласие с содержанием рукописи;
- 4) таблицы с номером, названием и примечанием (если оно имеется);
- 5) иллюстрации (графики, диаграммы, фотографии, рисунки) — для каждой иллюстрации отдельный бумажный лист и электронный файл;

- 6) подписи к иллюстрациям;
- 7) библиографический список;
- 8) сопроводительное письмо на русском языке на имя главного редактора журнала, подписанное руководителем учреждения, в котором выполнена работа.

Форма сопроводительного письма к материалу для публикации

Главному редактору журнала «Общая реаниматология»
Заслуженному деятелю науки России,
член-корреспонденту РАН, профессору В. В. Морозу
Просим рассмотреть вопрос о публикации ... (вид рукописи; Фамилии, Имена, Отчества всех авторов; название рукописи).

Авторы рукописи ознакомлены с Информацией для авторов, предоставленной журналом «Общая реаниматология», и согласны с правилами подготовки, подачи и публикации рукописи.

Данная рукопись не дублирует предыдущие публикации, в ней не затрагиваются интересы третьих сторон и не нарушаются этические нормы публикации.

Ответственный за переписку с редакцией: Имя, Отчество, Фамилия одного из авторов рукописи, e-mail, телефон, почтовый адрес.

Подпись руководителя учреждения.

Сопроводительное письмо должно быть напечатано на бланке учреждения, в котором выполнена работа.

Адрес отправки материалов для публикации рукописи

Для бумажной версии: Россия, 107031, Москва, ул. Петровка, 25, стр. 2, Редакция журнала «ОБЩАЯ РЕАНИМАТОЛОГИЯ».

Для электронной версии: сайт журнала: www.reanimatology.com; или редакция журнала: journal_or@mail.ru.

Требования к печати

Печать
Односторонняя, ориентация книжная, выравнивание по ширине

Бумага
Белая, формат А4

Шрифт
Times New Roman 12-го размера черного цвета

Интервалы и отступы
Межстрочный интервал 1,5; интервал до и после абзаца — нет; отступ первой строки 1, 25 см

Поля
2,5 см со всех сторон

Нумерация страниц
В правом нижнем углу

Формат файлов
Текст, таблицы, подписи к иллюстрациям — Word;
Графики, диаграммы — Excel;
Рисунки и фотографии — jpeg высокого разрешения

Разрешение при сканировании
Рисунки и другие изображения с использованием линий — 1200 dpi;
Фотография, радиография — не менее 300 dpi;
Фотография, радиография с текстом — не менее 600 dpi.

Единицы измерения
Величины измерений должны соответствовать Международной системе единиц (СИ), температура — шкале Цельсия.

Формулы
В формулах должны быть четко размечены все элементы: строчные и прописные, а также латинские и греческие буквы; подстрочные и надстрочные индексы. В случае цифр и букв, сходных по написанию (0 — цифра, O — буква), должны быть сделаны соответствующие пометки.

Названия

При упоминании аппаратуры в скобках указываются фирма и страна производитель.

Например: Световой зонд одноканального аппарата ЛАКК-02 (НПП «ЛАЗМА», Россия).

В журнале используются международные непатентованные названия (INN) лекарств и препаратов. Торговые (патентованные) названия, под которыми препараты выпускаются различными фирмами, приводятся с указанием фирмы-изготовителя и их международного непатентованного (генерического) названия.

Например: таривид (офлоксацин, «Хехст Мэрион Руссель»).

Латинские названия микроорганизмов приводятся в соответствии с современной классификацией, курсивом. При первом упоминании название микроорганизма дается полностью — род и вид, при повторном упоминании родовое название сокращается до одной буквы.

Например: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptomyces lividans*; *E.coli*, *S.aureus*, *S.lividans*.

Названия генетических элементов даются в трехбуквенном обозначении латинского алфавита строчными буквами, курсивом (tet), кодируемыми соответствующими генетическими элементами продукты — прописными прямыми буквами (TET).

Виды и объем рукописи

Обзорная статья

Не более 25 страниц. Список цитируемой литературы — не менее 100 наименований.

Заказанная статья

По договоренности.

Оригинальная статья

Не более 17 страниц, включая таблицы и иллюстрации. Общее количество таблиц и иллюстраций — не более 7. Список цитируемой литературы — не менее 25 наименований.

Краткая статья

Не более 8 страниц, включая таблицы и иллюстрации. Общее количество таблиц и иллюстраций — не более 2.

Дискуссионная статья (включает сформулированные для обсуждения вопросы)

Не более 5 страниц, включая таблицы и иллюстрации. Общее количество таблиц и иллюстраций — не более 2.

Список цитируемой литературы — не более 16 наименований. Количество вопросов для обсуждения — не более 3.

Резюме (часть статьи)

Не более 250 слов.

Письмо в редакцию

Не более 600 слов. Письма, адресованные сотрудникам редакции, не публикуются.

Структура статей:

1) титульный лист; 2) резюме и ключевые слова; 3) текст статьи, состоящий из разделов: «Введение», «Материалы и методы», «Результаты», «Обсуждение», «Заключение»; 4) таблицы и подписи к ним; 5) иллюстрации и подписи к ним; 6) библиография.

Систематические обзоры рекомендуется готовить по стандартам PRISMA (подробнее на сайте www.reanimatology.com)

Требования к структурным разделам статей

Титульный лист содержит:

- 1) полное название статьи, которое должно быть информативным, достаточно кратким, не включать аббревиатур;
- 2) инициалы и фамилии всех авторов;
- 3) полное название и почтовый адрес учреждений, откуда представляется работа;
- 4) адрес электронной почты, номер телефона, фамилию, имя, отчество автора, ответственного за переписку с редакцией.

Резюме — наиболее читаемая часть работы, основывающаяся на фактах. Текст резюме не должен содержать аббревиатур и сокращений, за исключением единиц измерения, математических величин и терминов.

Резюме должно включать 4 обязательных раздела, выделенных курсивом: 1) цель исследования; 2) материалы и методы; 3) результаты (изложение основных полученных результатов и их статистической значимости); 4) заключение (выводы, основанные на собственных результатах исследования).

Ключевые слова (до 6), предназначенные для индексирования статьи в информационно-поисковых системах. Они размещаются в отдельном абзаце на странице с резюме. От адекватного подбора ключевых слов зависят эффективность поиска статьи и ее последующее цитирование. В связи с этим рекомендуется использовать в качестве ключевых слов общепринятые в научной и практической среде термины и избегать лексики, редко употребляемой в научной литературе.

Введение раскрывает актуальность исследования и освещает состояние вопроса со ссылками на наиболее значимые публикации. В конце введения формулируется цель, отражающая необходимость проведения исследования.

Материалы и методы содержат обоснование выбора материала и методов исследования; включают информацию о факторах, ограничивающих исследование. Если исследование проводили в рамках определенной программы, то здесь указывается ее название. Если клиническая и научная части работы были выполнены на базе разных учреждений, то в этом разделе указывают название учреждения, на базе которого был получен материал для исследования. В этом разделе описывают количественные и качественные характеристики включенных в исследование больных/обследованных или экспериментальных животных; дизайн исследования, использованные клинические, лабораторные, инструментальные, экспериментальные и прочие методики, в том числе методы статистической обработки данных.

Результаты — основная часть рукописи. Их следует представлять в логической последовательности в виде текста, таблиц и иллюстраций. При этом дублирование данных в таблицах и иллюстрациях не допускается. В тексте следует упоминать только наиболее важные данные из таблиц и иллюстраций. Место, где в тексте должны быть расположены таблицы или иллюстрации, отмечается на странице пустой строкой, в середине которой помещается номер таблицы или иллюстрации.

Например:

Рис. 1.

Обсуждение включает в себя интерпретацию результатов и их значимости со ссылкой на соответствующие работы других авторов. Содержание раздела должно быть четким и кратким. Надо выделять новые и важные аспекты результатов своего исследования и по возможности сопоставлять их с данными других исследователей. Не следует повторять сведения, уже приводившиеся в разделе «Введение», и подробные данные из раздела «Результаты». Необходимо отметить ограничения исследования и его практическую значимость. В обсуждение можно включить обоснованные рекомендации.

Заключение содержит тезисы и выводы исследования, основанные на собственных данных.

Благодарности за финансовую или личную помощь должны быть помещены в конце текста. Лица, внесшие существенный интеллектуальный вклад в работу, но не отвечающие критериям авторства и не вошедшие в список соавторов, могут быть отмечены в этом разделе.

Таблицы должны дополнять, но не дублировать текст. Каждая таблица должна иметь порядковый номер соответственно первому упоминанию ее в тексте и краткий заголовок, размещаемый над таблицей. Каждый столбец в таблице должен иметь краткий заголовок (можно использовать аббревиатуры). Все разъяснения и обязательная расшифровка используемых в таблицах аббревиатур приводятся в примечании на русском и английском языках. Там же на русском и английском языках указываются статистические методы, использованные для представления вариативности данных и достоверности различий.

Иллюстрации (графики, диаграммы, фотографии, рисунки)

В бумажной версии на оборотной стороне иллюстраций мягким карандашом должны быть помещены фамилия первого автора, текстовый номер иллюстрации, обозначение верха изображения. Фотографии и рисунки не должны быть перегружены текстовыми надписями.

Подписи к иллюстрациям и таблицам печатаются на отдельной странице через 1,5 интервала. Подпись к каждой иллюстрации и таблице состоит из ее номера, названия и примечания (объяснения частей изображения, символов, стрелок и других его деталей). В подписях к микрофотографиям следует указывать степень увеличения. Для графиков обязательно отмечается, что дано по осям координат.

Название таблиц и иллюстраций, а также примечания к ним оформляются в англо-русском варианте. Англо-русский вариант текста полей таблицы и рисунка следует размещать в примечании перед другими необходимыми разъяснениями.

Например:

Таблица 2. Показатели интраоперационного периода
Table 2. Parameters of intraoperative period

Indicators	Values of indicators in the groups			
	Ster (n=31)	Gel (n=29)	Tetr (n=31)	P value
Number of grafts	2.5±0.5	2±0.5	3±0.6	0.01
Endarterectomy, n (%)	4 (13)	1(3)	4 (13)	0.42
CPB time (min)	60±15.5	52±12	65±19	0.007
Aortic cross clamp time (min)	36	28	37	0.004
	[28–45]	[24–35]	[29–48]	
Ventilation time (h)	5±2	5.5±2	6±3	0.79
Inotropic support, n (%)	6 (19)	4 (13)	4 (12)	0.74

Note (примечание): Indicators — Показатели; Number of grafts — Количество шунтов; Endarterectomy — Эндартерэктомия; CPB time (min) — Время ИК (искусственное кровообращение, мин); Aortic cross clamp time (min) — Время окклюзии аорты (мин); Ventilation time (h) — Длительность ИВЛ (искусственная вентиляция легких, ч); Inotropic support — Потребность в инотропной поддержке; Values of indicators in the groups — Значения показателей в группах; P value — Значение P.

Далее в такой же форме, при необходимости, помещаются комментарии к таблице.

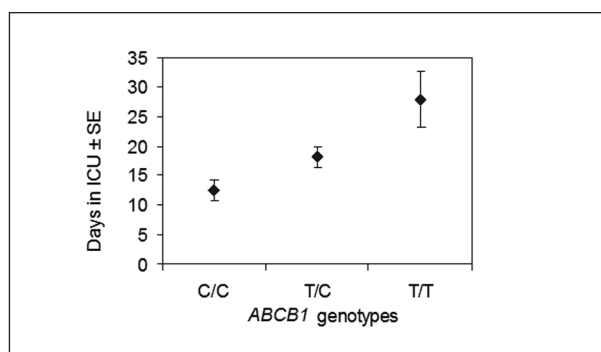


Рис. 1. Генотипы гена ABCB1, ассоциированные с длительностью пребывания в ОРИТ.

Fig. 1. ABCB1 genotypes associations with the number of days in ICU.

Note (примечания): Days in ISU — Число дней в ОРИТ; genotypes — генотипы.

Далее в такой же форме, при необходимости, помещаются комментарии к рисунку.

Библиография (список литературы) печатается на отдельном(ых) листе(ах) через 2 интервала, каждый источник с новой строки под порядковым номером. В списке все работы перечисляются в порядке цитирования (ссылок на них в тексте), а не по алфавиту фамилий первых авторов. При упоминании отдельных фамилий авторов в тексте им должны предше-

ствовать инициалы (фамилии иностранных авторов приводятся в оригинальной транскрипции).

В тексте статьи библиографические ссылки даются арабскими цифрами в квадратных скобках.

В список литературы **НЕ ДОПУСКАЕТСЯ** включение диссертационных работ и авторефератов диссертаций, основное содержание которых изложено в приводимых там публикациях. Ссылки на данные публикации представляются более корректными. **НЕ ДОПУСКАЮТСЯ** также ссылки на тезисы докладов и материалы конференций, содержание которых, как правило, является подготовительным или заключительным этапом написания статьи, ссылка на которую представляется более уместной. Эти положения соответствуют международной практике приведения библиографических ссылок.

Порядок составления списка следующий: а) автор(ы) книги или статьи (курсивом). Включаются ВСЕ (!) авторы (с инициалами после фамилий); б) название книги или статьи; в) выходные данные. В некоторых случаях в качестве авторов книг выступают их редакторы или составители. После фамилии последнего из них в скобках следует ставить (ред.), в иностранных ссылках (ed.).

В библиографическом описании книги после ее названия приводятся: город, где она издана, после двоеточия — название издательства, после точки с запятой — год издания (после года издания ставится двоеточие), страницы. Город, где издана книга, приводится полностью за исключением Москвы (М.) и Санкт-Петербурга (СПб.). Если ссылка дается на главу из книги, сначала упоминаются авторы и название главы, после точки — с заглавной буквы ставится «В кн.:» («In:») и фамилия(и) автора(ов) или выступающего в его качестве редактора, затем название книги и выходные данные ее.

В библиографическом описании статьи из журнала указываются фамилии и инициалы ВСЕХ (!) авторов курсивом, название статьи, журнала (название журнала — курсивом), год, том (указывается только АРАБСКИМИ цифрами), номер журнала, номера страниц «от» и «до». После названий статьи и журнала ставятся точки. Сокращённые названия иностранных журналов приводятся в соответствии с базой данных PubMed (см. Примеры).

Ссылки на иностранные источники должны содержать электронный адрес размещения (PMID) и цифровой идентификатор объекта (doi), которые определяются на сайтах <http://www.ncbi.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=PubMed> и <http://www.crossref.org/guestquery/>, соответственно. Эти же реквизиты должны быть приведены также для отечественных изданий, включаемых в международные базы данных.

Примеры:

КНИГИ

1. Мороз В.В., Лукач В.Н., Шифман Е.М., Долгих В.Т., Яковлева И.И. Сепсис: клинко-патофизиологические аспекты интенсивной терапии. Петрозаводск: Интел Тек; 2004: 291.
2. Полушин Ю.С. Периоперационная кровопотеря и принципы инфузионно-трансфузионной терапии. В кн.: Бунятян А.А., Мизиков В.М. (ред.). Анестезиология. Национальное руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2011: 141–155.
3. Mayer S.A., Sessler D.L. (eds.). Therapeutic hypothermia. N.Y.: Marcel Dekker; 2005: 62.
4. Redwan M., Odemuyiwa S.O., Lacy P., Adamko D.J. The human eosinophil. In: Greer J.P., Foerster J., Rodgers G.M., Paraskevas F., Glader B., Arber D.A., Means R.T. Wintrobe's Clinical Hematology. vol. 1. Philadelphia, USA: Lippincott Williams and Wilkins; 2009: 217–223.

ЖУРНАЛЫ

1. 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. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2012-6-5>
2. Хайруллина А.Я., Ольшанская Т.В., Филимонов Д.С., Козлова Н. М., Гармаза Ю.М., Слобожанкина Е.И. Оптические, наноструктурные и биофизические свойства Zn-индуцированных изменений мембран эритроцитов человека. *Оптика и спектроскопия*. 2011; 110 (4): 574–580.
3. Brunkhorst F.M., Engel C., Bloos F., Meier-Hellmann A., Ragaller M., Weiler N., Moerer O., Gruendling M., Oppert M., Grond S., Olthoff D., Jaschinski U., John S., Rossaint R., Welte T., Schaefer M., Kern P., Kuhnt E., Kiehltopf M., Hartog C., Natanson C., Loeffler M., Reinhart K.; German Competence Network Sepsis (SepNet). Intensive insulin therapy and pentastarch resuscitation in severe sepsis. *N Engl J Med*. 2008; 358 (2): 125–139. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa070716>. PMID: 18184958

Information for English-speaking authors:

Requirements for publication in the journal General Reanimatology based on «International Committee of Medical Journal Editors. Recommendations for the Conduct, Reporting, Editing and Publication of Scholarly Work in Medical Journals», which is available at <http://www.ICMJE.org>.

Стерофундин изотонический

Новое поколение электролитных растворов



Стерофундин изотонический — полностью сбалансированный электролитный раствор, имеющий широкие показания к применению, особенно для проведения инфузионной терапии тяжелым реанимационным пациентам, коррекции гиповолемии при кровотечении, шоке, для заполнения контура аппарата искусственного кровообращения.

Является препаратом выбора:

- в случае экстренного начала инфузионной терапии,
- в условиях отсутствия лабораторного контроля водно-электролитного и кислотно-основного баланса пациента,
- при необходимости введения значительного количества инфузионных растворов.

- Доказанная эффективность
- Отсутствие влияния на систему гемостаза

- Инфузионный раствор, максимально приближенный по составу к плазме крови, способствующий нормализации и поддержанию водно-электролитного баланса и кислотно-основного состояния пациента

B | BRAUN
SHARING EXPERTISE

www.bbraun.ru

ООО «Б. Браун Медикал»

196128, Санкт-Петербург, а/я 34

E-mail: office.spb.ru@bbraun.com

Тел.: (812) 320 4004, факс: (812) 320 5071

117246, Москва, Научный проезд, д.17

Тел.: (495) 777 1272, факс: (495) 745 7232

НЕОТОН

Фосфокреатин

ТРИ уровня ЗАЩИТЫ миокарда



в периоперационном ведении больных с ишемической болезнью сердца

НЕОТОН (фосфокреатин). КРАТКАЯ ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ МЕДИЦИНСКИХ СПЕЦИАЛИСТОВ. Регистрационный номер: П N014030/01-2002. Торговое название препарата: Неотон. МНН: фосфокреатин. Лекарственная форма: порошок для приготовления раствора для инфузий. Состав: 1 флакон содержит: фосфокреатина натрия тетрагидрат 1 г. Описание: порошок белого цвета в виде гранул. Фармакотерапевтическая группа: метаболическое средство. Код АТХ: C01EB06. Показания к применению. Неотон применяется в составе комбинированной терапии следующих заболеваний: острого инфаркта миокарда; хронической сердечной недостаточности; интраоперационной ишемии миокарда; интраоперационной ишемии нижних конечностей, а также в спортивной медицине для профилактики развития синдрома острого и хронического физического перенапряжения и улучшения адаптации спортсменов к экстремальным физическим нагрузкам. Противопоказания: повышенная чувствительность к препарату; хроническая почечная недостаточность (при применении препарата в дозах 5 – 10 г/день); возраст до 18 лет (эффективность и безопасность не установлены). Беременность и период лактации: Клинических данных о применении Неотона при беременности нет. Однако исследования на животных не показали токсического действия препарата на фертильность крыс и эмбриональное развитие кроликов. Неотон можно применять при беременности только тогда, когда польза для матери превышает потенциальный риск для плода. При необходимости применения препарата в период лактации, грудное вскармливание необходимо прекратить. Способ применения и дозы: ТОЛЬКО ВНУТРИВЕННО (капельно или в виде быстрой инфузии). Острый инфаркт миокарда 1 сутки: 2-4 г препарата, разведенного в 50 мл воды для инъекций, в виде в/в быстрой инфузии с последующей в/в инфузией 8-16 г в 200 мл 5% раствора декстрозы (глюкозы) в течение 2 ч. 2 сутки: 2-4 г в 50 мл воды для инъекций в/в капельно (длительность инфузии не менее 30 минут) 2 раза/сут. 3 сутки: 2 г в 50 мл воды для инъекций в/в капельно (длительность инфузии не менее 30 минут) 2 раза/сут. При необходимости курс инфузий по 2 г препарата 2 раза/сут. можно проводить в течение 6 дней. Хроническая сердечная недостаточность В зависимости от состояния пациента можно начать лечение «ударными» дозами по 5-10 г препарата в 200 мл 5% раствора декстрозы (глюкозы) в/в капельно со скоростью 4-5 г/ч в течение 3-5 дней, а затем перейти на в/в капельное введение (длительность инфузии не менее 30 минут) 1-2 г препарата, разведенного в 50 мл воды для инъекций, 2 раза/сут. в течение 2-6 недель или сразу начать в/в капельное введение поддерживающих доз препарата Неотон (1-2 г в 50 мл воды для инъекций 2 раза/сут. в течение 2-6 недель). Интраоперационная ишемия миокарда Рекомендуется курс в/в капельных инфузий длительностью не менее 30 минут по 2 г препарата в 50 мл воды для инъекций 2 раза/сут. в течение 3-5 дней, предшествующих хирургическому вмешательству, и в течение 1-2 дней после него. Во время хирургического вмешательства препарат Неотон добавлять в состав обычного кардиоплегического раствора в концентрации 10 ммоль/л или 2,5 г/л непосредственно перед введением. Интраоперационная ишемия нижних конечностей: 2-4 г препарата Неотон в 50 мл воды для инъекций в виде в/в быстрой инфузии до хирургического вмешательства с последующим в/в капельным введением 8-10 г препарата в 200 мл 5% раствора декстрозы (глюкозы) со скоростью 4-5 г/ч во время хирургического вмешательства и в период реперфузии. В спортивной медицине для профилактики развития синдрома острого и хронического физического перенапряжения и улучшения адаптации спортсменов к экстремальным физическим нагрузкам препарат Неотон следует применять в дозе 1 г/сут в 50 мл воды для инъекций в/в капельно (длительность инфузии не менее 30 минут) в течение 3-4 недель. Побочное действие: Повышенная чувствительность к препарату, снижение артериального давления (при быстром внутривенном введении). Передозировка В настоящее время о случаях передозировки препарата Неотон не сообщалось. Взаимодействие с другими лекарственными средствами: при применении в составе комбинированной терапии препарат Неотон способствует повышению эффективности антиаритмических, антиангинальных средств и средств с положительным инотропным действием. Неотон сохраняет стабильность в воде для инъекций, растворе 5% декстрозы (глюкозы) и в кардиоплегических растворах. Особые указания: Препарат следует вводить в максимально короткие сроки с момента появления признаков ишемии, что обеспечивает более благоприятный прогноз заболевания. Применение препарата Неотон в высоких дозах (5-10 г/сут) сопровождается повышенным захватом фосфатов в почках, что влияет на обмен кальция, секрецию гормонов, регулирующих гомеостаз, функцию почек и обмен пуринов, поэтому не рекомендуется длительное применение препарата Неотон в высоких дозах. Форма выпуска: Порошок для приготовления раствора для инфузий 1 г: 1 г порошка во флаконе из нейтрального бесцветного стекла типа II с резиновой пробкой и алюминиевым колпачком под обмотку с отрывающейся крышечкой. По 1 или 4 флакона вместе с инструкцией по применению в картонной пачке. Условия хранения: Хранить при температуре не выше 30 °С. Срок годности: 3 года. Условия отпуска из аптек: По рецепту.

ALFA WASSERMANN

Производитель: Альфа Вассерманн С.п.А, Виа Е. Ферми 1, 65020 Аланно (Пескара), Италия Alfa Wassermann S.p.A. Via E. Fermi n. 1, 65020 Alanno(Pescara), Italy.
Более подробную информацию смотрите в инструкции по медицинскому применению или обращайтесь в ООО «Альфа Вассерманн» по адресу:
115114 г. Москва, Дербеневская набережная 11А, сектор 2, офис 74 Тел: (495)-913-68-39

AW-RU-NEO-02 (03/14)



БЕМИПАРИН **ЦИБОР®**

**Современный выбор для профилактики
венозной тромбоземболии**

- **Оптимальный
фармакологический
профиль***
- **Выраженный
антитромботический эффект.
Минимальный риск развития
кровотечений***
- **Удобство применения
в клинической практике**



* Planes A; Expert Opin Pharmacother 2003; 4(9):1551-61



**БЕРЛИН-ХЕМИ
МЕНАРИНИ**

ООО «БЕРЛИН-ХЕМИ/А. МЕНАРИНИ», Германия
123317, г. Москва, Пресненская набережная, д. 10, БЦ «Башня на набережной», блок Б
Тел.: (495) 785-01-00, факс: (495) 785-01-01, <http://www.berlin-chemie.ru>

Подробная информация о препарате содержится в инструкции по применению (07.06.2012)
Отпускается по рецепту врача