



www.reanimatology.com

www.niiorramn.ru

ISSN 1813-9779 (print)

ISSN 2411-7110 (online)

ОБЩАЯ РЕАНИМАТОЛОГИЯ GENERAL REANIMATOLOGY

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ
Scientific-and-Practical Journal

Том 11

Volume 11

№ 6

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

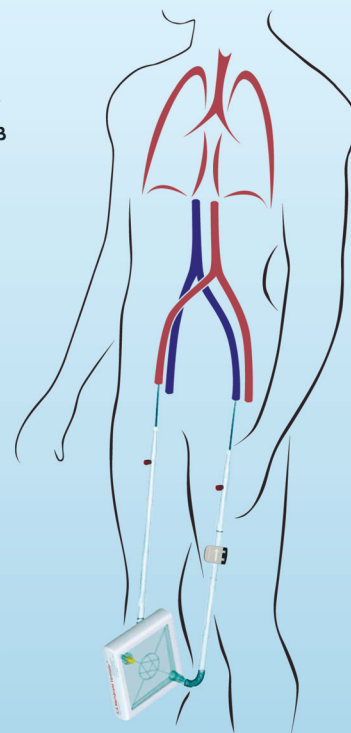
Система iLA обеспечивает эффективную оксигенацию и элиминацию CO_2 , за счет высокотехнологичной мембраны Novalung с уникальным покрытием, позволяющим в течение 29 дней протезировать функцию легких у пациентов с тяжелыми формами дыхательной недостаточности, не поддающимися лечению традиционными режимами 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 Кека, 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 **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. М. САБИРОВ**
Ректор Ташкентского института
усовершенствования врачей, заведующий кафедры
«Анестезиологии и реаниматологии» ТашИУВ,
Главный анестезиолог реаниматолог министерства
здравоохранения Республики Узбекистан,
Председатель Ассоциации анестезиологов
и реаниматологов Республики Узбекистан

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)
- 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. M. SABIROV**, DSc, Professor, Rector of Tashkent Institute
of Postgraduate Medical Education (TIPME),
Head of Department of Anesthesiology and Intensive Care TIPME,
Chief of Anesthesiology and Intensive Care of the Ministry
of Health of the Republic of Uzbekistan,
Chairman of the Association Anesthesiologists
and Intensive Care of the Republic of Uzbekistan

Профессор **Д. В. САДЧИКОВ**
Зав. кафедрой анестезиологии-реаниматологии
Государственного медицинского университета (Саратов)

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»

© 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: vasiliiy.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:
С 2015 г. журнал входит в международную базу SCOPUS
Российский Индекс научного цитирования (РИНЦ),
Index Copernicus International PLC
Каталог периодических изданий Ульрих
Реферативный журнал ВИНТИ (ВИНИТИ РАН)
Двухлетний импакт-фактор журнала в РИНЦ — 1,845

D.V. SADCHIKOV, MD, PhD, DSc, Professor,
Head, Department of Anesthesiology and Reanimatology,
State Medical University (Saratov, Russia)

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)

© «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: vasiliiy.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:

Since 2015 the journal is included in SCOPUS

Russian Science Citation Index (RSCI),

Index Copernicus International PLC

Ulrich's Periodicals Directory Abstract Journal

Russian Institute for Scientific

and Technical Information (VINITI RAS)

Two-Year Impact Factor 1.845

(Russian Science Citation Index)

СОДЕРЖАНИЕ**CONTENTS****МЕТА-АНАЛИЗ****META-ANALYSIS**

- Смирнова С. В., Сальникова Л. Е.* 6 *Smirnova S.V., Salnikova L. E.*
Риск развития пневмонии и полиморфизм
генов *TLR2* и *TLR4*: мета-анализ
Gene Polymorphisms: A Meta-Analysis

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ**ORIGINAL INVESTIGATIONS**

- Рыжков И. А., Заржецкий Ю. В.,* 19 *Ryzhkov I. A., Zarzhetsky Yu. V.,*
Новодержкина И. С.
Влияние перфторана на регуляцию
кожного кровотока при острой кровопотере
(экспериментальное исследование)
Effect of Perfluorane on the Regulation
of Skin Blood Flow in Acute Blood Loss:
Experimental Study
- Перепелица С. А., Седнев О. В.* 28 *Perepelitsa S. A., Sednev O. V.*
Перинатальное нарушение обмена
триглицеридов и холестерина у новорожденных
Perinatal Triglyceride and Cholesterol Metabolic
Disturbances in Newborn Infants
- Гудкова О. Е., Козлов А. П.* 38 *Gudkova O. E., Kozlov A. P.*
Неоднородность распределения электрических
трансмембранных потенциалов
при дефибриляции сердца
Non-Uniformity of the Distribution
of Electrical Transmembrane Potentials
in Cardiac Defibrillation

ОБЗОРЫ**REVIEWS**

- Острова И. В., Аврущенко М. Ш.* 48 *Ostrova I. V., Avrushchenko M. Sh.*
Нейропротективная роль основного фактора
роста фибробластов (*fgf2*) при ишемическом
повреждении головного мозга (обзор)
Neuroprotective Role of Basic Fibroblast
Growth Factor in Ischemic
Brain Lesion: A Review

КЛИНИЧЕСКОЕ НАБЛЮДЕНИЕ**CLINICAL OBSERVATION**

- Улиткина О. Н., Филипповская Ж. С.,* 61 *Ulitkina O. N., Filippovskaya Zh. S.,*
Прокопенко Е. И., Овезов А. М., Лихванцев В. В.
Успешное лечение атипичного
гемолитико-уремического синдрома
у родильницы
Successful Treatment for Atypical
Hemolytic-Uremic Syndrome
in a Puerpera

В ПОМОЩЬ ПРАКТИКУЮЩЕМУ ВРАЧУ**GUIDELINES FOR THE PRACTITIONER**

- Кирасирова Е. А., Лафуткина Н. В.,* 69 *Kirasirova E. A., Lafutkina N. V.,*
Пиминиди О. К., Мамедов Р. Ф., Кузина Е. А.
Особенности интенсивного лечения больных,
перенесших трахеостомию
Features of Intensive Treatment
in Patients after Tracheostomy

СОБЫТИЯ**EVENTS**

- Памяти Заслуженного деятеля Высшей школы,
доктора медицинских наук,
профессора Р. И. Новиковой 79 In Memory of Professor
Raisa I. Novikova
- Правила для авторов 80 Instructions for the Author

РИСК РАЗВИТИЯ ПНЕВМОНИИ И ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ *TLR2* И *TLR4*: МЕТА-АНАЛИЗ

С. В. Смирнова¹, Л. Е. Сальникова^{1,2}

¹ Институт общей генетики им. Н. И. Вавилова,
Россия, 117971, Москва, ул. Губкина, д. 3

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

Risk for Pneumonia and *TLR2* and *TLR4* Gene Polymorphisms: a Meta-Analysis

S. V. Smirnova¹, L. E. Salnikova^{1,2}

¹ V. N. Vavilov Institute of General Genetics
3, Gubkin St., Moscow 117971, Russia

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

Пневмония является одной из наиболее распространенных инфекций с высоким уровнем смертности. Полиморфизм генов толл-подобных рецепторов, относящихся к первой линии защиты иммунной системы, может вносить существенный вклад в индивидуальную вариабельность в связи с риском развития пневмонии. На сегодняшний день этот вопрос недостаточно изучен, а имеющиеся литературные данные противоречивы.

Цель исследования. Мета-анализ ассоциации полиморфных вариантов генов толл-подобных рецепторов и риска развития пневмонии и сопутствующих ей инфекций.

Методы. Для обнаружения возможной ассоциации риска развития пневмонии и сопутствующих инфекций с однонуклеотидными полиморфизмами (SNP) в генах *TLR2* rs5743708 (2258 G>A; Arg753Gln) и *TLR4* rs4986790 (896A>G; Asp299Gly) был выполнен мета-анализ. В исследование было включено 2312 (682 пациента / 1630 индивидуумов контрольной группы) и 3075 (910/2165) представителей европеоидной расы для каждого SNP соответственно. Так как частота минорных аллелей обоих полиморфных вариантов составляет менее 5%, анализ выполнен только для доминантной генетической модели.

Результаты. При анализе общей группы аллель А гена *TLR2* (rs5743708) показал ассоциацию с риском развития пневмонии (OR=1,90, 95% ДИ: 1,02–3,54, $p=0,042$), в то время как для гена *TLR4* (rs4986790) ассоциации с пневмонией выявлено не было. При анализе подгрупп (дети/взрослые и внебольничная пневмония/нозокомиальная пневмония) значимые эффекты отсутствовали.

Выводы. Аллель А гена *TLR2* (rs5743708) может быть фактором риска восприимчивости к пневмонии. Данные результаты имеют перспективы для их использования в клинической практике, однако, в связи с высокой гетерогенностью и недостаточными размерами выборок, требуется подтверждение этих результатов в дальнейших исследованиях.

Ключевые слова: *TLR2*; *TLR4*; полиморфизм; пневмония; мета-анализ

Pneumonia is one of the most common infections with high mortality rates. The gene polymorphism of Toll-like receptors that belong to the first line of defense of the immune system can make a considerable contribution to individual variability due to the risk of pneumonia. Today this issue has not been adequately explored and the data available in the literature are conflicting.

Objective: to carry out a meta-analysis of the association between Toll-like receptor gene polymorphic variants and the risk of pneumonias and its coinfections.

Methods. A meta-analysis was carried out to detect a possible association of the risk of pneumonia and coinfections with single nucleotide polymorphisms (SNP) in the *TLR2* (rs5743708 (2258 G>A; Arg753Gln) and *TLR4*

Адрес для корреспонденции:

Светлана Смирнова
E-mail: vsmirnov64@mail.ru

Correspondence to:

Svetlana Smirnova
E-mail: vsmirnov64@mail.ru

(rs4986790 (896A>G; Asp299Gly) genes. The investigation enrolled 2312 (682 patients/1630 control individuals) and 3075 (910/2165) Caucasians for each SNP, respectively. As the rate of minor alleles of both polymorphic variants was less than 5%; the analysis was made only for a dominant genetic model.

Results. Analysis of the study group showed that the A allele of *TLR2* rs5743708 was associated with the risk of pneumonia (OR = 1.90; 95% CI: 1.02–3.54; $P=0.042$) while *TLR4* rs4986790 was not associated with pneumonia. Analysis of subgroups (children/adults and community-acquired/nosocomial pneumonia) revealed no significant effects.

Conclusion. The A allele of *TLR2* rs5743708 may be a risk factor for susceptibility to pneumonia. These results have promises for their clinical application; however, due to the high heterogeneity and insufficient sizes of samples, these results need to be confirmed by further investigations.

Key words: *TLR2; TLR4; polymorphism; pneumonia; meta-analysis*

DOI:10.15360/1813-9779-2015-6-6-18

Введение

Пневмония является основной причиной смертности среди инфекционных заболеваний для представителей всех возрастных групп, при этом показатели смертности варьируют от 5 до 20% [1, 2]. Несмотря на постоянное совершенствование методов диагностики, применение высокоэффективных антибактериальных препаратов, уровень смертности от пневмонии остается высоким [3, 4]. Различные факторы, характеризующие особенности организма пациента, могут влиять на восприимчивость к пневмонии; среди таких факторов называют пожилой возраст, сопутствующие заболевания, дисфункцию глотания, нутритивный статус и эффективность иммунного ответа на инфекцию. Врожденный иммунный ответ инициируется макрофагами путем распознавания патогенов, их фагоцитирования и секреции медиаторов воспаления. Эффективность ответа зависит от распознавания патоген-ассоциированных молекулярных паттернов (PAMPs), которые позволяют отличать инфекционные агенты от факторов внутренней среды организма и различать патогены между собой [5]. Первичное распознавание инфекционных агентов иммунной системой осуществляется паттерн-распознающими рецепторами врожденного иммунитета. Генетическая изменчивость генов системы распознавания патогенов, предположительно, может частично объяснить индивидуальные различия восприимчивости к инфекциям.

Наиболее изученным классом паттерн-распознающих рецепторов являются толл-подобные рецепторы (TLR), названные в честь Toll рецептора *Drosophila melanogaster*, играющего важную роль в защите организма мухи против грибковых инфекций [6]. Толл-подобные рецепторы (TLRs) принадлежат к группе паттерн-распознающих рецепторов, которые определяют бактериальные, вирусные или грибковые молекулярные структуры или нуклеиновые кислоты и запускают системное воспаление [7]. У человека описано десять TLRs, которые отличаются способностью к распознаванию вирусов, бактерий, грибов и простейших [8–14]. SNPs в ге-

Introduction

Pneumonia is an infectious disease that ranks in the top-10 leading causes of death, with estimated mortality rates varying between 5 and 20% [1, 2]. Despite the increasing development of diagnostic techniques and the use of highly effective antibacterial drugs, pneumonia fatality rate remains high [3, 4]. Many different host factors may play a role in the variability in susceptibility to pneumonia, including an increasing age, comorbidities, swallowing dysfunction, nutritional status and the effectiveness of the immune responses to infection. The innate immune response is initiated by macrophages via recognizing pathogens, phagocytosing them, and secreting inflammatory mediators. Effective response requires the recognition of pathogen-associated molecular patterns (PAMPs) to distinguish the infectious agents from self, and discrimination among pathogens [5]. An initial recognition of infectious pathogens by the innate immune system is mediated by germline-encoded pattern-recognition receptors. Genetic variability in the pathogen recognition system is thought to partially explain individual differences in the susceptibility to infections.

The first and most studied class of pattern-recognition receptors is that of the Toll-like receptors (TLRs), named after the Toll receptor of *Drosophila melanogaster*, which is important in the host defense of the fly against fungal infections [6]. Toll-like receptors (TLRs) are one class of pattern recognition receptors that sense bacterial, viral or fungal molecular structures or nucleic acids and induce systemic inflammation [7]. There are ten human TLRs that have been characterized by their specific ability to recognize viruses, bacteria, fungi, and protozoa [8–14]. SNPs in the toll-like receptor genes might affect the transcription, synthesis, transport and secretion of corresponding proteins, and consequently influence susceptibility and outcomes of infection. Genetic polymorphisms of toll-like receptors have been shown to be associated with several infectious and/or pulmonary diseases such as tuberculosis [15], asthma [16] and respiratory syncy-

нах толл-подобных рецепторов могут влиять на транскрипцию, синтез, транспорт и секрецию соответствующих белков, и, следовательно, на восприимчивость к инфекции и ее исход. Было показано, что полиморфные варианты генов толл-подобных рецепторов, ассоциированы с несколькими инфекционными, в том числе и легочными, заболеваниями, такими как туберкулез [15], астма [16] и респираторно-синцитиальная вирусная инфекция [17]. Недавние исследования изучили ассоциацию между *TLR2* и *TLR4* полиморфизмом и риском развития пневмонии [18–28], однако результаты были противоречивы.

В настоящем исследовании мы проводим мета-анализ ассоциации полиморфных вариантов генов толл-подобных рецепторов и риска развития пневмонии и сопутствующих ей инфекций.

Материал и методы

Поиск, включение и исключение публикаций.

Систематический поиск оригинальных ассоциативных исследований полиморфизма генов «*TLR*» и пневмонии, а также пневмококковой инфекции был произведен с помощью баз данных NCBI, Google Academia и HuGE Navigator (последний поиск осуществлялся 24 июля 2015). В поиске использовали термины: «пневмония», «воспаление легких», «полиморфизм *TLR*». Ссылки, приведенные в подобранных статьях, также проверялись вручную с целью нахождения дополнительных статей. При этом критериями включения были: 1) исследование должно иметь дизайн случай-контроль или когортный тип и изучать ассоциации между полиморфизмом *TLR* и пневмонией с сопутствующими инфекциями, и 2) наличие данных генотипирования для вычисления отношения шансов (OR) с 95% доверительным интервалом. Для каждой публикации, включенной в мета-анализ, была получена следующая информация: фамилия первого автора, год издания, *TLR* SNP, количественные и качественные характеристики пациентов и контрольной группы, данные генотипирования.

Статистический анализ.

Статистический анализ был выполнен с помощью бесплатного пакета программ WinPepi [29] и статистического программного обеспечения R [30], пакет META [31]. Для контрольных групп проводилась оценка равновесия по Харди-Вайнбергу с использованием критерия χ^2 . Эффекты каждого генетического варианта исследовались только по доминантной модели наследования (00 против 01 + 11, т.е. генотип GG против GA+AA для rs5743708; генотип AA против AG+GG для rs4986790), поскольку частота аллелей изучаемых SNP была слишком низкой, чтобы проанализировать и другие генетические модели. Гетерогенность исследований оценивалась с помощью Q критерия Кохрена и I^2 . В связи с высокой неоднородностью исследований ($I^2 \geq 50\%$) во всех случаях применялась модель случайных эффектов. Уровень значимости был установлен P -value $\leq 0,05$ за исключением значимости при оценке гетерогенности (P -value $\leq 0,10$) [32]. Для исследуемых SNP (rs5743708, rs4986790) мета-ана-

лиз был проведен [17]. Recent investigations have examined associations between *TLR2* and *TLR4* polymorphisms and the risk of pneumonia [18–28] with inconsistent results.

In this study, we conducted a meta-analysis to assess possible contribution of genetic variations in toll-like receptors in the risk of infection and invasion of pneumonia-related pathogens and the development of pneumonia.

Materials and Methods

Publication search, inclusion and exclusion.

A systematic search for original research investigating the association between *TLR* polymorphisms and pneumonia, and/or pneumococcal infection was made by using the NCBI, Google Academia and HuGE Navigator databases (the last search was July 24, 2015). We used the terms: «pneumonia» OR «lung inflammation» and «*TLR*» and «polymorphism» OR «polymorphic» OR «variant» OR «locus» OR «allele» OR «SNP». References cited in the retrieved articles were also screened manually to identify additional eligible studies. The inclusion criteria were: 1) a case-control study or a cohort study focused on the association between the *TLR* polymorphism and pneumonia, and/or pneumococcal infection, and 2) enough genotype data to calculate odds ratio (OR) with its 95% confidence interval. The following information was obtained from each publication included in the meta-analysis: first author's name, the year of publication, *TLR* SNPs, quantitative and qualitative characteristics of cases and controls, genotype data.

Statistical analysis.

Statistical analysis was conducted by WinPepi free-ware package of programs [29] and the package Meta [31] of the R statistical software [30]. HWE (Hardy-Weinberg Equilibrium) test in the healthy controls was conducted with χ^2 test. We examined the effect of each genetic variant using only dominant model (00 vs. 01+11; GG vs. GA+AA for rs5743708; AA vs. AG+GG for rs4986790), since the frequency of variant alleles of the studied SNPs was too low to analyze other genetic models. Heterogeneity of the studies was assessed by Cochran's Q-statistic test and I^2 -test. Since heterogeneity between studies was high ($I^2 \geq 50\%$), a random model was applied. Significance was set at a P -value of ≤ 0.05 except in heterogeneity estimation (P value of ≤ 0.10) [32]. Meta-analysis was conducted for the both analyzed SNPs (rs5743708, rs4986790) in the overall group. We performed also a sensitivity analysis exploring the overall effect after exclusion of each study in turn. The subgroup analysis included the analysis in (i) adult and pediatric groups, (ii) CAP and NP groups. Publication bias has not been assessed because of low sensitivity of these tests due to lower than ten the number of studies [33].

Results and Discussion

A total of 11 full-text articles were included in our meta-analysis. All the studies were performed in Caucasian populations. Main characteristics, including first author, publication year, studied genes and SNPs, sample size, source and characteristics of controls, spe-

Таблица 1. Характеристики включенных в анализ статей, изучающих ассоциации полиморфизмов *TLR2* и *TLR4* с развитием пневмонии различного генеза, сопутствующих инфекций и инвазивной пневмококковой болезнью.
Table 1. Characteristics of the included articles that studied associations of *TLR2* and *TLR4* polymorphisms with pneumonia-related infection and pneumonia development.

First author, year	Genes (SNPs)	Case (n), age	Control (n), age	Source controls	Controls	Pneumonia type	Outcome
Hawn 2005	<i>TLR2</i> (rs4986790, rs4986791)	102, adult	495, adult	HB	Healthy	CAP	Legionnaires' disease
Moens 2007	<i>TLR2</i> (rs5743708), <i>TLR4</i> (rs4986790)	72, adult	178, adult	PB	Healthy	CAP	Pneumonia in patients with invasive pneumococcal disease
Yuan 2008	<i>TLR2</i> (rs5743708), <i>TLR4</i> (rs4986790, rs4986791)	85, pediatric	409, NA	NA	Healthy	—	Diseases / complications of various localization caused by pneumococcus
Endeman 2009	<i>TLR2</i> (rs5743708), <i>TLR4</i> (rs4986790)	200, adult	313, adult	HB	Healthy	CAP	Community-acquired pneumonia
Carvalho 2009	<i>TLR2</i> (rs5743708), <i>TLR4</i> (rs4986790)	87, adult	134, adult	HB	No viral infection in allogeneic stem cell transplantation	NP	Viral pneumonia in allogeneic stem cell transplantation
Kumpf 2010	<i>TLR4</i> (rs4986790)	159, adult	176, adult	NA	Healthy	VAP	Ventilator associated pneumonia
Esposito 2012	<i>TLR2</i> (rs5743708), <i>TLR4</i> (rs4986790, rs4986791)	18, pediatric	164, pediatric	HB	Healthy	CAP	Pneumonia in children infected by the pandemic A/H1N1/2009 influenza virus
Telleria-Orriols 2013	<i>TLR2</i> (rs5743708), <i>TLR4</i> (rs4986790)	92, pediatric	66, pediatric	HB	Healthy	—*	Pneumonia and sepsis in patients with <i>S.pneumoniae</i> infections
Misch 2013	<i>TLR2</i> (rs5743708)	94, adult	262, adult	NA	Healthy	CAP	Legionnaires' disease
Rodriguez-Osorio 2013	<i>TLR4</i> (rs4986790, rs4986791)	44, adult	126, adult	NA	Healthy	—*	Intra-abdominal infection and/or pneumonia
Schnetke 2015	<i>TLR2</i> (rs5743708), <i>TLR4</i> (rs4986790)	51, adult	104, adult	HB	Patients with acute myeloid leukemia after induction chemotherapy	NP	Pneumonia in patients with acute myeloid leukemia after induction chemotherapy

Note: HB — Hospital-based; PB — Population-based; NA — Not available; CAP — Community-acquired Pneumonia; NP — Nosocomial Pneumonia; VAP — Ventilator-Associated Pneumonia; * — mixed case groups.

Примечание: First author year — первый автор, год (то же в табл. 2); Genes — гены; Case — больные (то же в табл. 2–4); Control — контроль (то же в табл. 2–4); age — возраст; Source controls — источник контроля; Controls — контроль; Pneumonia type — тип пневмонии; Outcome — нозологическая форма; adult — взрослые (то же в табл. 4); pediatric — дети (то же в табл. 4); HB — госпитальный; PB — популяционный; NA — нет данных; Healthy — здоровые; No viral infection in allogeneic stem cell transplantation — отсутствие вирусной инфекции после трансплантации аллогенных стволовых клеток; Patients with acute myeloid leukemia after induction chemotherapy — больные с острой миелоидной лейкемией после индукционной химиотерапии; CAP — внебольничная пневмония; NP — нозокомиальная пневмония; VAP — вентилятор-ассоциированная пневмония; Legionnaires' disease — болезнь легионеров; Pneumonia in patients with invasive pneumococcal disease — пневмония у больных с инвазивной пневмококковой болезнью; Diseases/complications of various localization caused by pneumococcus — заболевания/осложнения различной локализации, вызванные пневмококком; Community-acquired pneumonia — внебольничная пневмония; Viral pneumonia in allogeneic stem cell transplantation — вирусная пневмония после трансплантации аллогенных стволовых клеток; Ventilator associated pneumonia — вентилятор-ассоциированная пневмония; Pneumonia in children infected by the pandemic A/H1N1/2009 influenza virus — пневмония у детей, инфицированных вирусом гриппа A/H1N1/2009; Pneumonia and sepsis in patients with *S.pneumoniae* infections — пневмония и сепсис у больных с инфекцией *S.pneumoniae*; Intra-abdominal infection and/or pneumonia — интра-абдоминальная инфекция и / или пневмония; Pneumonia in patients with acute myeloid leukemia after induction chemotherapy — пневмония у больных с острой миелоидной лейкемией после индукционной химиотерапии; * — mixed case groups — смешанные группы больных.

лиз проводился в общих группах, а также в подгруппах, объединенных по возрасту и типу пневмонии: дети/взрослые, внебольничная (ВП)/ нозокомиальная пневмония (НП). Кроме того мы провели анализ чувствительности, изучая изменение эффекта путем последовательного исключения данных каждого исследования из общего анализа. Систематическая ошибка, связанная с предпочтительной публикацией положительных результатов исследования (publication bias), не оценивалась из-за низкой чувствительности теста при количестве исследований меньше десяти [33].

cific type and characteristics of pneumonia are presented in Table 1. The eleven studies were composed of eight adult and three pediatric studies. Pneumonia was addressed in the context of Legionnaires' disease, invasive pneumococcal disease, viral infection, and other very heterogeneous clinical conditions. Five groups of investigators studied CAP, three studied NP, and other studies analyzed mixed cases or did not give any information on which type of pneumonia was studied. For outcomes with more than two available studies relevant to selection criteria, a meta-analysis was performed for

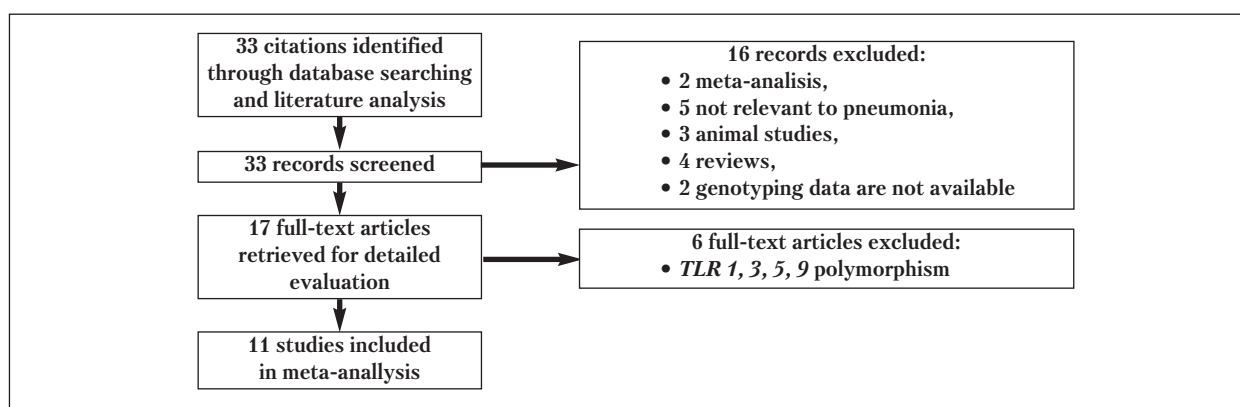


Рис. 1. Последовательность подбора литературы.

Fig. 1. Flowchart of literature search.

Примечание: 33 citations identified through database searching and literature analysis — 33 цитирования, определенных с помощью поиска баз данных и анализа литературы. 33 records screened — 33 работы проанализированы. 17 full-text articles retrieved for detailed evaluation — 17 полнотекстовых статей, выбранных для детальной оценки. 11 studies included in meta-analysis — 11 исследований включены в мета-анализ. 16 records excluded: 2 meta-analysis, 5 not relevant to pneumonia, 3 animal studies, 4 reviews, 2 genotyping data are not available — 16 работ исключены: 2 мета-анализа, 5 не связанных с пневмонией работ, 3 исследования на животных, 4 обзора, 2 работы без данных генотипирования. 6 full-text articles excluded: TLR 1, 3, 5, 9 polymorphism — 6 полнотекстовых статей исключены: TLR 1, 3, 5, 9 полиморфизм.

Результаты и обсуждение

Всего в данный мета-анализ было включено 11 полнотекстовых статей. Все исследования были проведены на представителях европеоидной расы. Основные характеристики включенных исследований (фамилия первого автора, год издания, изученные гены и SNP, размеры выборок, источник и характеристики контрольных групп, тип и характеристика пневмонии) представлены в таблице 1. Из данных исследований 8 проведены на взрослых выборках, 3 — на детских. Пневмония рассматривалась в контексте болезни легионеров, инвазивной пневмококковой инфекции, вирусной инфекции и других разнообразных клинических условий. Пять работ посвящены изучению ВП, три работы рассматривали НП, в остальных исследованиях анализировались смешанные группы пациентов или тип пневмонии не указывался. Мета-анализ проводился для оценки ассоциации SNP rs5743708 (*TLR2*) и rs4986790 (*TLR4*) с развитием пневмонии и сопутствующих инфекций в группах более чем с двумя доступными исследованиями по критериям отбора. Четыре работы также содержали информацию для rs4986791 (1196C>T, Thr399Ile) гена *TLR4*, однако в данных исследованиях в общей сложности всего десять человек были носителями минорного аллеля, в связи с чем мета-анализ для *TLR4* rs4986791 не проводился.

На рисунке 1 представлен процесс подбора и включения исследований в виде блок-схемы в соответствии с принципами PRISMA [34]. Мета-анализ был проведен для 682 пациентов и 1630 представителей контрольной группы в исследовании *TLR2* rs5743708 и 910/2165 индивидуумов при анализе полиморфизма *TLR4* rs4986790. В

SNPs rs5743708 (*TLR2*) and rs4986790 (*TLR4*) and the risk of pneumonia-related pathogens invasion and/or pneumonia development. Four studies also included information for rs4986791 (1196C>T, Thr399Ile) in the *TLR4* gene, however, in four samples, only ten subjects total carried minor genotype. Therefore, a meta-analysis was not performed for *TLR4* rs4986791.

Figure 1 outlines the study selection process in a flowchart following PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses) guidelines [34]. Meta-analysis was conducted for 682 patients and 1630 controls in the study of *TLR2* rs5743708 and for 910 patients and 2165 controls in the analysis of *TLR4* rs4986790 polymorphisms. Table 2 lists the genotype frequencies for the studied SNPs. The genotype distributions in the controls of all studies were consistent with HWE except for one study (*TLR4* rs4986790) [35]. There was a variation in the variant allele frequency in the different studies ranging from 0.009 to 0.144 for rs5743708 and from 0.016 to 0.184 for rs4986790. Minor allele frequencies for both studied SNPs were in line with the HapMap data for Caucasian populations: 0.052 for rs5743708 allele A and 0.033 for rs4986790 allele G (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=5743708; http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=4986790).

Figure 2 shows the summary effects across the comparisons of the studied polymorphisms *TLR2* (rs5743708) and *TLR4* (rs4986790). Heterogeneity was rather high with I^2 varying in the range of 54.7–66.5%. In these conditions, we considered only a random model. SNP rs5743708 (dominant model) was associated with pneumonia risk OR=1.90, 95% CI: 1.02 – 3.54, $P=0.042$. Results for rs4986790 were non-significant.

Таблица 2. Частоты генотипов во включенных в мета-анализ исследованиях.

Table 2. Genotype frequencies in the included studies.

First author, year	Case			Control			HWE
	00	01	11	00	01	11	
TLR2 (rs5743708)							
Moens2007	67	5	0	169	9	0	0,729
Yuan2008	82	3	0	382	27	0	0,490
Endeman2009	144	38	1	287	26	0	0,443
Carvalho 2009	83	4	0	127	7	0	0,756
Esposito 2012	17	1	0	161	3	0	0,906(0,91)*
Tellerfa-Orriols 2013	37	46	9	49	15	2	0,527
Misch 2013	88	6	0	243	19	0	0,543(1,00)*
Schnetzke 2015	43	8	0	102	2	0	0,921
TLR4 (rs4986790)							
Hawn 20051	97	5	0	431	64	0	0,124
Moens2007	60	10	2	161	16	1	0,395
Yuan2008	82	3	0	364	44	1	0,785
Endeman2009	171	27	2	280	32	1	0,933
Carvalho 2009	81	6	0	116	18	0	0,405
Kumpf 2010	147	12	0	150	24	2	0,362
Esposito 2012	16	2	0	148	16	0	0,511(0,51)*
Telleria-Orriols 2013	76	13	3	60	4	2	0,0001
Rodriguez-Osorio 2013	43	1	0	122	4	0	0,856
Schnetzke 2015	40	11	0	96	8	0	0,683
TLR4 (rs4986791)							
Hawn 20051	97	5	0	431	64	0	0,124
Yuan2008	82	3	0	365	43	1	0,821
Esposito 2012	17	1	0	148	16	0	0,511(0,51)*
Rodriguez-Osorio 2013	43	1	0	122	4	0	0,856

Note: HWE — Hardy-Weinberg Equilibrium; 0 — major allele (G for rs5743708, A for 4986790, C for 4986791), 1 — minor allele (A for rs5743708, G for 4986790, T for 4986791). *Available data from articles are shown in brackets. ¹ Genotype data are calculated from haplotype data.

Примечание: HWE — равновесие Харди Вайнберга; 0 — мажорный аллель (G для rs5743708, A для 4986790, C для 4986791), 1 — минорный аллель (A для rs5743708, G для 4986790, T для 4986791). * — в скобках указаны данные, доступные из статей. ¹ Частоты рассчитаны, исходя из данных гаплотипирования.

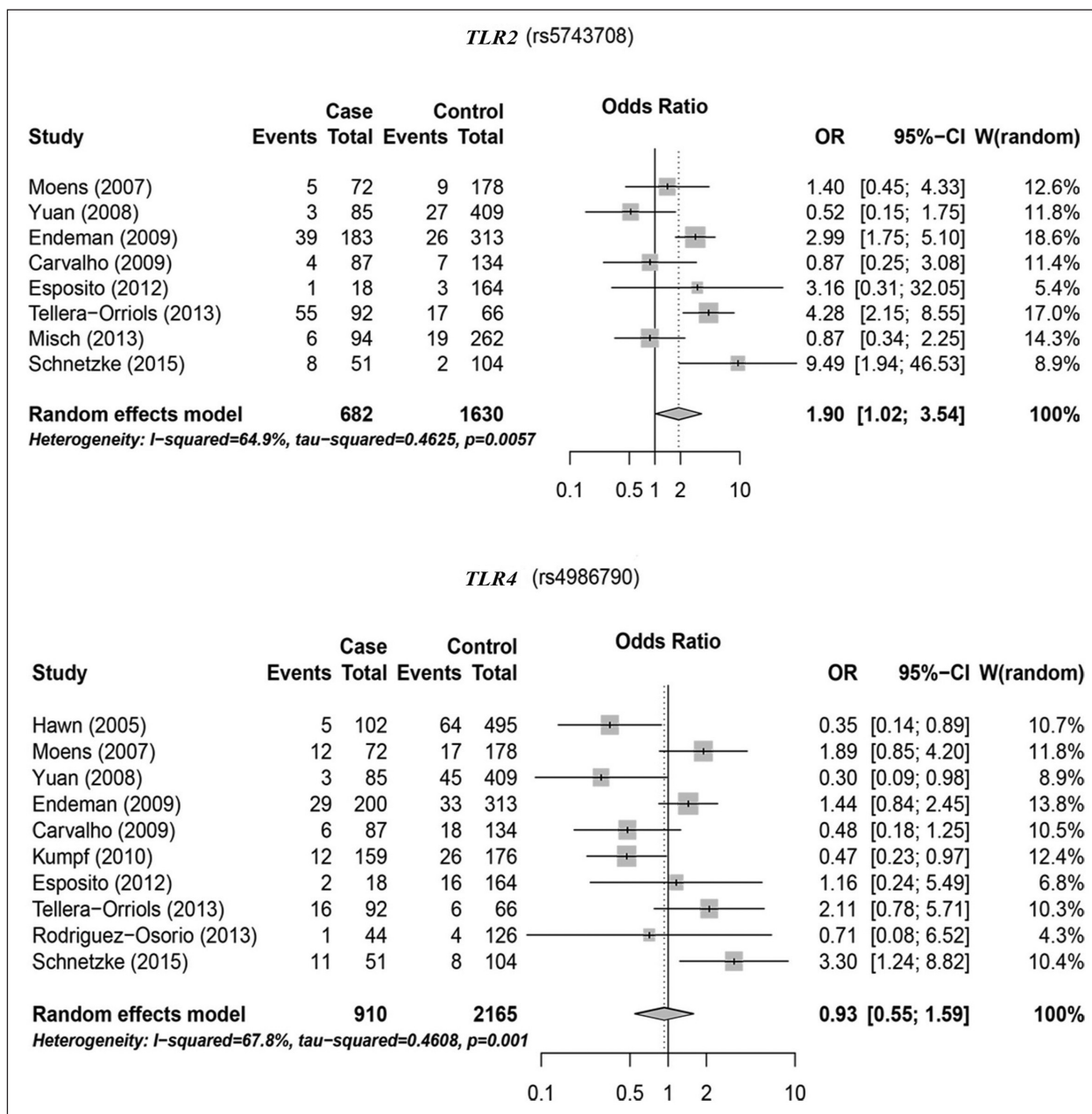
таблице 2 показаны данные генотипирования по изученным полиморфным вариантам. Распределение генотипов в контрольных выборках исследований согласовано с равновесием по Харди-Вайнбергу за исключением одного исследования (*TLR4* rs4986790) [25]. Частоты минорных аллелей в выбранных исследованиях варьировали от 0,009 до 0,144 для rs5743708 и от 0,016 до 0,184 для rs4986790. Соответствующие частоты для европеоидной популяции в соответствии с геномной картой гаплотипов (HapMap) находятся ближе к нижним значениям указанного диапазона: 0,052 для аллеля A rs5743708 и 0,033 для аллеля G rs4986790 (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=5743708; http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=4986790).

Рисунок 2 демонстрирует результаты мета-анализа SNPs генов *TLR2* (rs5743708) и *TLR4* (rs4986790). Гетерогенность исследований была довольно высокой, I^2 варьировал в диапазоне 54,7–66,5%. SNP rs5743708 (доминантная модель) был ассоциирован с риском пневмонии OR = 1,90, 95% CI: 1,02–3,54, $p=0,042$. Результаты для rs4986790 были незначимы.

Далее применялись два метода дополнительной оценки результатов по общим группам. Был

Next, we applied two treatments to the overall findings. We performed sensitivity analysis to assess the influence of individual dataset on the pooled ORs by sequential removing each eligible study (Table 3). The result of the sensitivity analysis showed that the OR value ranged from 1.61 (95%CI: 0.81–3.21) to 2.27 (95%CI: 1.26–4.09) for rs5743708 and from 0.85 (95%CI: 0.47–1.51) to 1.05 (95%CI: 0.61–1.80) for rs4986790. After the omission of two papers, one of which studied invasive pneumococcal disease [20] and the other dealt with Legionnaires' disease [26], the effect size became larger. Omission of several other studies [19, 21–25, 26] led to non-significance of the overall effect. No pronounced effects were seen in the sensitivity analysis for the SNPs in the *TLR4* gene. Further, we conducted subgroup analyses that compared different subsets of patients: adult and pediatric groups, CAP and NP (Table 4). Since subgroup analyses always include fewer patients than does the overall analysis, they carry a greater risk of getting negative results due to insufficient power for the reduced sample size. Taken also into account the significant heterogeneity among included studies, non-significant results in the subgroup analyses were not unexpected.

We performed a systematic literature review to establish the possible role of the germline genetic variations in toll-like receptors in susceptibility to

Рис. 2. Результаты мета-анализа ассоциации полиморфных вариантов генов *TLR2* и *TLR4* с пневмонией.Fig. 2. The meta-analysis results on the association of *TLR2* and *TLR4* polymorphisms with pneumonia.

Примечание: Study — исследование. Events — число пациентов с минорными генотипами. Case — больные. Total — всего. Control — контроль. W(random) — размер случайного эффекта. Random effects model — модель случайных эффектов. Heterogeneity — гетерогенность.

проведен анализ чувствительности для определения влияния отдельных исследований (путем их последовательного удаления) на общий эффект (табл. 3). Результат анализа чувствительности показал, что значение OR варьировало от 1,61 (95%CI: 0,81–3,21) до 2,27 (95%CI: 1,26–4,09) для rs5743708 и от 0,85 (95%CI: 0,47–1,51) до 1,05 (95%CI: 0,61–1,80) для rs4986790. После исключения двух работ, одна из которых была посвящена изучению инвазивной пневмококковой болезни [20], а другая — болезни легионеров [26], величина эффекта увеличивалась. Исключение нескольких других исследо-

pneumonia-related infection and pneumonia development. It is assumed that each type of TLR can recognize the cellular patterns of different groups of organisms, i.e. each type of TLR is able to detect different groups of harmful microorganisms. Among all TLRs, *TLR2* identifies all main pneumonia-related pathogens. Despite high heterogeneity among studies, *TLR2* functional polymorphism appeared to be associated with susceptibility to pneumonia-related infection and pneumonia development.

TLR2 recognizes a large array of pathogen-associated molecular patterns (PAMPs), including

Таблица 3. Анализ чувствительности.
Table 3. Summary outcomes of sensitivity analysis.

Excluding group	Sample size		Test of association			Test of heterogeneity		
	Case	Control	OR	95% CI	P	χ^2	P	I ² (%)
TLR2 (rs5743708)								
Moens 2007	610	1452	1.98	0.99–3.98	0.054	14.984	0.020	60.0
Yuan 2008	597	1221	2.27	1.26–4.09	0.006	10.449	0.107	42.6
Endeman 2009	499	1317	1.72	0.79–3.74	0.169	13.480	0.036	55.5
Carvalho 2009	595	1496	2.10	1.09–4.06	0.027	13.644	0.034	56.0
Esposito 2012	664	1466	1.84	0.95–3.56	0.069	15.294	0.018	60.8
Tellería-Orriols 2013	590	1564	1.61	0.81–3.21	0.174	14.564	0.024	58.8
Misch 2013	588	1368	2.18	1.14–4.16	0.019	12.008	0.062	50.0
Schnetzke 2015	631	1526	1.64	0.88–3.06	0.120	11.924	0.064	49.7
TLR4 (rs4986790)								
Hawn 2005	808	1670	1.05	0.61–1.80	0.855	21.618	0.006	63.0
Moens2007	838	1987	0.85	0.47–1.51	0.570	24.193	0.002	66.9
Yuan2008	825	1756	1.04	0.61–1.78	0.881	22.738	0.004	64.8
Endeman2009	710	1852	0.87	0.47–1.61	0.652	24.697	0.002	67.6
Carvalho 2009	823	2031	1.01	0.57–1.78	0.983	24.333	0.002	67.1
Kumpf 2010	751	1989	1.03	0.58–1.81	0.929	21.713	0.005	63.2
Esposito 2012	892	2001	0.91	0.52–1.62	0.759	26.854	0.001	70.2
Tellería-Orriols 2013	818	2099	0.85	0.48–1.50	0.568	24.780	0.002	67.7
Rodriguez-Osorio 2013	866	2039	0.94	0.54–1.65	0.832	26.772	0.001	70.1
Schnetzke 2015	859	2061	0.81	0.48–1.37	0.426	20.907	0.007	61.7

Note: OR – Odds Ratio; CI – Confidence interval; χ^2 – a measure of heterogeneity; I^2 – a measure of heterogeneity is expressed in %.

Примечание: Excluding group – исключаемая группа; Sample size – объем выборки; Test of association – тест на ассоциацию; Test of heterogeneity – тест на гетерогенность. OR – отношение шансов; CI – доверительный интервал; χ^2 – оценка гетерогенности исследований; I^2 – процентная оценка гетерогенности исследований (то же для табл. 4, рис. 2).

Таблица 4. Анализ в подгруппах ассоциации *TLR2* rs5743708 и *TLR4* rs4986790 с пневмонией.
Table 4. Subgroup analysis of the association of the *TLR2* rs5743708 and *TLR4* rs4986790 with pneumonia.

Excluding group	N	Sample size		Test of association			Test of heterogeneity		
		Case	Control	OR	95% CI	P	χ^2	P	I ² (%)
<i>TLR2</i> (rs5743708)									
Adult	5	487	991	1.87	0.89–3.93	0.100	9.997	0.040	60.0
Pediatric	3	195	639	1.88	0.40–8.92	0.425	5.450	0.066	63.3
CAP	6	544	1392	1.79	0.92–3.49	0.088	10.318	0.067	51.5
NP	2	138	238	2.74	0.26–28.41	0.399	5.113	0.024	80.4
<i>TLR4</i> (rs4986790)									
Adult	7	715	1526	0.93	0.50–1.76	0.834	20.986	0.002	71.4
Pediatric	3	195	639	0.91	0.26–3.23	0.883	5.891	0.053	66.0
CAP	7	613	1751	0.99	0.53–1.86	0.975	14.963	0.021	59.9
NP	3	297	414	0.88	0.26–2.95	0.841	11.214	0.004	82.2

ваний [19, 21–25, 28] приводило к потере значимости эффекта. Выраженного эффекта в анализе чувствительности для SNP в гене *TLR4* не обнаружено. Кроме того, мы провели анализ в подгруппах, сравнивая различные подмножества пациентов: взрослые и детские выборки, пациентов с ВП и НП (табл. 4). Все результаты оказались незначимыми, что может быть связано со значительным уменьшением общего объема выборок и высокой гетерогенностью включенных исследований.

Данная работа выполнена для определения возможной роли герминальных генетических вариантов толл-подобных рецепторов в предрасположенности к сопутствующим пневмонии инфекциям и развитием пневмонии. Предполагается, что каждый тип рецепторов TLR распознает клеточные паттерны разных групп организмов, т.е. каж-

peptidoglycan, lipoproteins, lipopeptides, phenol-soluble modulins, lipoteichoic acid, lipoarabinomannan, atypical lipopolysaccharides (LPSs), porins, glycoinositolphospholipids, glycolipids, and zymosan [5, 35]. To identify these numerous PAMPs, TLR2 forms either homodimers or heterodimers with TLR1 or TLR6. TLR2 also cooperates with TLR9 in sensing mycobacteria [36]. TLR2 has been identified as a key player in the recognition of lipoteichoic acid and peptidoglycans of Gram-positive bacteria [37–41], influencing on susceptibility to these bacteria. *TLR2* polymorphisms are associated with the susceptibility to different infections, such as leprosy, tuberculosis, staphylococcal infections, and sepsis [6, 42–46].

The *TLR2* rs5743708 G to A transition leads to a functional deficiency in heterodimerization with *TLR6*

дый тип рецепторов TLR способен определять различные группы микроорганизмов. Среди всех толл-подобных рецепторов TLR2 характеризуется наиболее широким спектром узнаваемых патогенов; он распознает все основные патогены инфекций, ассоциированных с пневмонией. Несмотря на высокую гетерогенность исследований, функциональный полиморфизм *TLR2* оказался ассоциирован с предрасположенностью к развитию пневмонии и сопутствующих пневмонии инфекций.

TLR2 распознает большой набор патоген-ассоциированных молекулярных паттернов (PAMPs), в том числе пептидогликан, липопротеины, липопептиды, фенол-растворимый модулин, липотейхоевые кислоты, липоарабиноманнан, атипичные липополисахариды (LPSs), порины, глико-инозитол-фосфолипиды, гликолипиды и зимозан [5, 35]. Для выявления этих многочисленных PAMPs, TLR2 образует гомодимеры или гетеродимерные формы с TLR1 и TLR6. TLR2 также может объединяться с TLR9 для узнавания микобактерий [36]. TLR2 является ключевым рецептором, ответственным за распознавание липотейхоевой кислоты и пептидогликанов грам-положительных бактерий [37–41]; данный процесс имеет решающее значение в восприимчивости к этим бактериям. Полиморфные варианты гена *TLR2* ассоциированы с предрасположенностью к таким болезням/состояниям, как проказа, туберкулез, стафилококковые инфекции и сепсис [6, 42–46].

Замена G аллеля *TLR2* rs5743708 на A приводит к функциональной недостаточности при гетеродимеризации с TLR6 с последующим уменьшением возможности активации внутриклеточных сигнальных путей [47]. Было показано, что по сравнению с диким типом (2258 аллель G), аллель A ассоциирован со значительным снижением активации NF- κ B (фактора, контролирующего экспрессию генов иммунного ответа) в ответ на бактериальные пептиды в клетках 293T [6]. Минорный аллель 2258 A ассоциирован (на уровне тенденции) со сниженной экспрессией IL-6 в ответ на лиганды TLR, а также на микроорганизмы в целом [48]. Это изменение функции TLR2 коррелирует с влиянием данного SNP на восприимчивость к инфекциям. Интересно отметить, что 2258 A аллель присутствует только у европеоидов, в том числе и у представителей восточно-европейской популяции Vlach-Roma, но с очень низкой частотой. Другие хорошо известные полиморфизмы *TLR2* (1892C>A и 2029C>T) также имеют дифференциальное распределение в различных популяциях [48]. Наблюдаемые различия в частотах генотипов могут объяснить некоторые особенности в восприимчивости к инфекциям между этими группами населения.

Наш мета-анализ не показал ассоциации полиморфизма *TLR4* rs4986790 с развитием пневмонии и сопутствующих инфекций, что может быть

with subsequent diminished activation of intracellular signaling pathways [47]. Compared to the wild-type, the 2258 A allele has been shown to be associated with a significant decrease in NF- κ B response against bacterial peptides in 293T cells transfected with wild-type or G2258A TLR2 constructs [6]. The 2258A minor allele was characterized (at a tendency level) by a reduced capacity for IL-6 production in response to TLR ligands as well as whole microorganisms [48]. This change in TLR2 function correlates with the observed influence of this SNP on susceptibility to infections. It is interesting to note that 2258 A allele is present only in Europeans, including Vlach-Roma, but at a very low frequency. Other well-known *TLR2* polymorphisms (1892C>A and 2029C>T) also had the differential pattern of genotypes distribution in various populations [48]. Differences in genotype frequencies may explain some of the differences in susceptibility to infections between these populations.

Our meta-analysis did not show association of pneumonia-related infection development and *TLR4* polymorphism rs4986790. This may be due to the high heterogeneity of the studies. Taking into account the differences of pathogen-associated molecular patterns for TLR2 and TLR4 we may also speculate that the TLR4 protein has less impact on pneumonia development than the TLR2 protein. Hence, the genetic variations in the *TLR4* gene may have less consequence (compared with the *TLR2* SNPs) for the susceptibility to pneumonia-related infection. The recent meta-analysis of the SNPs rs4986790 and rs4986791 in the *TLR4* gene has shown that *TLR4* polymorphisms may be associated with increased, decreased or no difference in response to a wide range of infectious diseases [45]. Interestingly, the majority of significant associations have been found among predominantly Asian populations being rare among Europeans [49]. One meta-analysis on the role of the *TLR4* SNPs has been conducted just in relation to pneumonia [49]. The authors found that the rs4986790 A/A genotype might be a risk factor for the development of pneumonia. Compared with the meta-analysis of Cai et al., we found three additional studies published in 2009, 2013 and 2015 [21, 25, 28]. In the abovementioned meta-analysis, the authors have also defined one paper, analyzing fever in patients with *Coxiella burnetii* as the study of CAP [51]. This study was not considered in our meta-analysis. Thus, our meta-analysis differed from that of Cai et al. [50] by four studies and included more subjects (3075 versus 2520). Our updated meta-analysis did not confirm the results of Cai et al [50].

Limitations of our study include the following: (i) all studies were underpowered due to low sample sizes; (ii) studies were highly heterogeneous addressing infection and pneumonia development in different context; (iii) most of the studies were hospital-based, precluding extrapolation to the general population; (iv) pooled effects in all comparisons were altered

связано с высокой гетерогенностью исследований. Однако, принимая во внимание различия соответствующих групп PAMPs для TLR2 и TLR4, мы также можем предположить, что белок TLR4 имеет менее значительную роль при развитии пневмонии, чем белок TLR2, в связи с чем генетические варианты в гене *TLR4* могут меньше влиять (по сравнению с *TLR2* SNP) на предрасположенность к развитию инфекций, ассоциированных с пневмонией. Недавний мета-анализ SNPs rs4986790 и rs4986791 гена *TLR4* показал, что полиморфные варианты *TLR4* могут быть ассоциированы с повышением, понижением или отсутствием изменений в предрасположенности к целому спектру инфекционных заболеваний [49]. Интересно, что большинство значимых ассоциаций было найдено преимущественно в азиатских популяциях [49]. В связи с изучением роли полиморфизма *TLR4* в предрасположенности к пневмонии ранее был проведен лишь один мета-анализ [50]. Авторы обнаружили, что аллель rs4986790 А может быть фактором риска развития пневмонии. По сравнению с мета-анализом Cai и соавторов [50], мы нашли три дополнительных исследования, опубликованных в 2009, 2013 и 2015 гг. [21, 25, 28]. Кроме того, мы исключили из нашего мета-анализа работу [51], анализирующую роль полиморфизма гена *TLR4* в чувствительности к лихорадке у пациентов, инфицированных *Coxiella burnetii*. Эта работа была отнесена авторами к группе работ, оценивающих предрасположенность к ВП. Таким образом, наше исследование отличается от недавней работы Cai с соав. [50] по набору публикаций (на четыре публикации) и большему объему выборок (3075 против 2520). Наш обновленный мета-анализ не подтвердил результаты Cai с соав. [50].

Представленный нами мета-анализ имеет несколько ограничений: (I) все исследования имели низкую статистическую мощность из-за недостаточного размера выборок; (II) исследования были неоднородны и рассматривали развитие пневмонии и инфекции в разных контекстах; (III) большинство исследований проводились на базе больниц, что затрудняет экстраполяцию на популяцию в целом; (IV) полученные эффекты существенно варьировали в тестах на чувствительность, что предполагает нестабильность результатов. Несмотря на данные ограничения, наш мета-анализ основан на тщательном подборе литературы с соблюдением принципов PRISMA, а полученные результаты являются биологически обоснованными.

Выводы

Метод мета-анализа широко используется для увеличения мощности теста и получения более убедительных выводов о наличии или отсутствии изучаемого эффекта. Несмотря на важную роль

with sensitivity treatment suggesting instability of the results. Despite these limitations, our meta-analysis is based on adherence to PRISMA guidelines in searching for literature, and the results seem to have a biologic rationale. In view of these items, we believe in the soundness and reliability of our findings.

Conclusion

It is well known that a meta-analysis is used to increase power over individual studies, improve summary estimates and help to draw more convincing conclusions. Despite the crucial role of toll-like receptors in the first line of immune response to infection and the fact that pneumonia is one of the most common infections with high mortality rates, meta-analyses of *TLR* polymorphisms association with pneumonia are scarce. To the best of our knowledge, the current meta-analysis is the first meta-analysis on the role of the *TLR2* alleles in pneumonia development. The *TLR4* SNP rs4986790 has been studied previously in the context of pneumonia however, that meta-analysis has had serious limitations. We showed that the *TLR2* SNP 2258 G/A (rs5743708) is associated with the risk of pneumonia-related infection and pneumonia development, while the *TLR4* SNP 896A>G (rs4986790) does not contribute to the susceptibility to pneumonia. Taking into account that the studies included in our meta-analysis are highly heterogeneous and underpowered these results should be interpreted as preliminary. Further well-designed investigations are clearly warranted.

тoll-подобных рецепторов, контролирующих эффективность иммунного ответа на инфекцию, и на то, что пневмония является одной из наиболее распространенных инфекций с высоким уровнем смертности, мета-анализы ассоциаций полиморфизмов *TLR* с пневмонией, за одним исключением, отсутствуют. По нашим сведениям, выполненный нами мета-анализ роли полиморфизма гена *TLR2* в развитии пневмонии является первым. SNP rs4986790 ранее изучался в контексте пневмонии, однако то исследование имело существенные недостатки. Мы показали, что SNP 2258 G>A (rs5743708) *TLR2* ассоциирован с риском развития пневмонии и сопутствующих инфекций, в то время как SNP 896A>G *TLR4* (rs4986790) не влияет на предрасположенность к пневмонии. Принимая во внимание высокую гетерогенность включенных в наш мета-анализ исследований и их низкую статистическую мощность, полученные результаты следует рассматривать как предварительные. Для подтверждения диагностического потенциала молекулярно-генетического тестирования гена *TLR2* в оценке предрасположенности к развитию пневмонии и сопутствующих инфекций необходимы дополнительные исследования.

Meta-Analysis

Литература

1. Кузовлев А.Н., Мороз В.В., Голубев А.М., Половников С.Г. Ингаляционные антибиотики в лечении тяжелой нозокомиальной пневмонии. *Общая реаниматология*. 2013; 9 (6): 61–70. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-6-61>
2. Шабанов А.К., Хубутия М.Ш., Булава Г.В., Белобородова Н.В., Кузовлев А.Н., Гребенчиков О.А., Косолапов Д.А., Шпитонков М.И. Динамика уровня прокальцитонина при развитии нозокомиальной пневмонии у пострадавших с тяжелой сочетанной травмой в отделении реанимации. *Общая реаниматология*. 2013; 9 (5): 11–17. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-5-11>
3. Яковлев А.Ю., Гуцина Н.Н., Ниязматов А.А., Зайцев Р.М., Голубцова Е.Ю., Рыбикова М.А. Ранняя оценка эффективности антибактериальной терапии нозокомиальной пневмонии путем количественного определения липополисахарида. *Общая реаниматология*. 2013; 9 (6): 45–52. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-6-45>
4. Fine M.J., Smith M.A., Carson C.A., Mutha S.S., Sankey S.S., Weissfeld L.A., Kapoor W.N. Prognosis and outcomes of patients with community-acquired pneumonia. A meta-analysis. *JAMA*. 1996; 275 (2): 134–141. <http://dx.doi.org/10.1001/jama.1996.03530260048030>. PMID: 8531309
5. Mortensen E.M., Coley C.M., Singer D.E., Marrie T.J., Obrosky D.S., Kapoor W.N., Fine M.J. Causes of death for patients with community-acquired pneumonia: results from the pneumonia patient outcomes research team cohort study. *Arch. Intern. Med.* 2002; 162 (9): 1059–1064. <http://dx.doi.org/10.1001/archinte.162.9.1059>. PMID: 11996618
6. File T.M., Tan J.S. Pneumonia in older adults: reversing the trend. *JAMA*. 2005; 294 (21): 2760–2763. <http://dx.doi.org/10.1001/jama.294.21.2760>. PMID: 16333013
7. Fine M.J., Auble T.E., Yealy D.M., Hanusa B.H., Weissfeld L.A., Singer D.E., Coley C.M., Marrie T.J., Kapoor W.N. A prediction rule to identify low-risk patients with community-acquired pneumonia. *N. Engl. J. Med.* 1997; 336 (4): 243–250. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJM199701233360402>. PMID: 8995086
8. Ozinsky A., Underhill D.M., Fontenot J.D., Hajjar A.M., Smith K.D., Wilson C.B., Schroeder L., Aderem A. The repertoire for pattern recognition of pathogens by the innate immune system is defined by cooperation between toll-like receptors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2000; 97 (25): 13766–13771. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.250476497>. PMID: 11095740
9. Hashimoto C., Hudson K.L., Anderson K.V. The Toll gene of *Drosophila*, required for dorsal-ventral embryonic polarity, appears to encode a transmembrane protein. *Cell*. 1988; 52 (2): 269–279. [http://dx.doi.org/10.1016/0092-8674\(88\)90516-8](http://dx.doi.org/10.1016/0092-8674(88)90516-8). PMID: 2449285
10. Beutler B. Innate immunity: an overview. *Mol. Immunol.* 2004; 40 (12): 845–859. <http://dx.doi.org/10.1016/j.molimm.2003.10.005>. PMID: 14698223
11. Poltorak A., He X., Smirnova I., Liu M.Y., Van Huffel C., Du X., Birdwell D., Alejos E., Silva M., Galanos C., Freudenberg M., Ricciardi-Castagnoli P., Layton B., Beutler B. Defective LPS signaling in C3H/HeJ and C57BL/10ScCr mice: mutations in *Tlr4* gene. *Science*. 1998; 282 (5396): 2085–2088. <http://dx.doi.org/10.1126/science.282.5396.2085>. PMID: 9851930
12. Lemaître B., Nicolas E., Michaut L., Reichhart J.M., Hoffmann J.A. The dorsoventral regulatory gene cassette *spätzle/Toll/cactus* controls the potent antifungal response in *Drosophila* adults. *Cell*. 1996; 86 (6): 973–983. [http://dx.doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)80172-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0092-8674(00)80172-5). PMID: 8808632
13. Medzhitov R., Preston-Hurlburt P., Janeway C.A.Jr. A human homologue of the *Drosophila* Toll protein signals activation of adaptive immunity. *Nature*. 1997; 388 (6640): 394–397. <http://dx.doi.org/10.1038/41131>. PMID: 9237759
14. Kopp E.B., Medzhitov R. The Toll-receptor family and control of innate immunity. *Curr. Opin. Immunol.* 1999; 11 (1): 13–18. [http://dx.doi.org/10.1016/S0952-7915\(99\)80003-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0952-7915(99)80003-X). PMID: 10047546
15. Takeda K., Kaisho T., Akira S. Toll-like receptors. *Annu. Rev. Immunol.* 2003; 21: 335–376. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.immunol.21.120601.141126>. PMID: 12524386
16. Yoshimura A., Lien E., Ingalls R.R., Tuomanen E., Dziarski R., Golenbock D. Cutting edge: recognition of Gram-positive bacterial cell wall components by the innate immune system occurs via Toll-like receptor 2. *J. Immunol.* 1999; 163 (1): 1–5. PMID: 10384090
17. Trinchieri G., Sher A. Cooperation of Toll-like receptor signals in innate immune defence. *Nat. Rev. Immunol.* 2007; 7 (3): 179–190. <http://dx.doi.org/10.1038/nri2038>. PMID: 17318230
18. Ogus A.C., Yoldas B., Ozdemir T., Uguz A., Olcen S., Keser I., Coskun M., Cilli A., Yegin O. The Arg753Gln polymorphism of the human toll-like receptor 2 gene in tuberculosis disease. *Eur. Respir. J.* 2004; 23 (2): 219–223. <http://dx.doi.org/10.1183/09031936.03.00061703>. PMID: 14979495

References

1. Kuzovlev A.N., Moroz V.V., Golubev A.M., Polovnikov S.G. Ingalyatsionnye antibiotiki v lechenii tyazhelei nozokomialnoi pnevmonii. *Obshchaya Reanimatologiya*. [Inhaled antibiotics in the treatment of nosocomial pneumonia. *General Reanimatology*]. 2013; 9 (6): 61–70. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-6-61>
2. Shabanov A.K., Khubutia M.Sh., Bulava G.V., Beloborodova N.V., Kuzovlev A.N., Grebenchikov O.A., Kosolapov D.A., Shpitonkov M.I. Dinamika urovnya prokaltsitonina pri razvitiu nozokomialnoi pnevmonii u postradavshikh s tyazhelei sochetannoi travmoi v otdelenii reanimatsii. *Obshchaya Reanimatologiya*. [Time course of changes in the level of procalcitonin in the development of nosocomial pneumonia in victims with severe concomitant injury in an intensive care unit. *General Reanimatology*]. 2013; 9 (5): 11–17. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-5-11>. [In Russ.]
3. Yakovlev A.Yu., Gushchina N.N., Niyazmatov A.A., Zaitsev R.M., Golubtsova E.Yu., Ryabikova M.A. Rannaya otsenka effektivnosti antibakterialnoi terapii nozokomialnoi pnevmonii putem kolichestvennogo opredeleniya lipopolisakharida. *Obshchaya Reanimatologiya*. [Early evaluation of the efficiency of antibiotic therapy for nosocomial pneumonia by quantifying lipopolysaccharide. *General Reanimatology*]. 2013; 9 (6): 45–52. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-6-45>. [In Russ.]
4. Fine M.J., Smith M.A., Carson C.A., Mutha S.S., Sankey S.S., Weissfeld L.A., Kapoor W.N. Prognosis and outcomes of patients with community-acquired pneumonia. A meta-analysis. *JAMA*. 1996; 275 (2): 134–141. <http://dx.doi.org/10.1001/jama.1996.03530260048030>. PMID: 8531309
5. Mortensen E.M., Coley C.M., Singer D.E., Marrie T.J., Obrosky D.S., Kapoor W.N., Fine M.J. Causes of death for patients with community-acquired pneumonia: results from the pneumonia patient outcomes research team cohort study. *Arch. Intern. Med.* 2002; 162 (9): 1059–1064. <http://dx.doi.org/10.1001/archinte.162.9.1059>. PMID: 11996618
6. File T.M., Tan J.S. Pneumonia in older adults: reversing the trend. *JAMA*. 2005; 294 (21): 2760–2763. <http://dx.doi.org/10.1001/jama.294.21.2760>. PMID: 16333013
7. Fine M.J., Auble T.E., Yealy D.M., Hanusa B.H., Weissfeld L.A., Singer D.E., Coley C.M., Marrie T.J., Kapoor W.N. A prediction rule to identify low-risk patients with community-acquired pneumonia. *N. Engl. J. Med.* 1997; 336 (4): 243–250. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJM199701233360402>. PMID: 8995086
8. Ozinsky A., Underhill D.M., Fontenot J.D., Hajjar A.M., Smith K.D., Wilson C.B., Schroeder L., Aderem A. The repertoire for pattern recognition of pathogens by the innate immune system is defined by cooperation between toll-like receptors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2000; 97 (25): 13766–13771. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.250476497>. PMID: 11095740
9. Hashimoto C., Hudson K.L., Anderson K.V. The Toll gene of *Drosophila*, required for dorsal-ventral embryonic polarity, appears to encode a transmembrane protein. *Cell*. 1988; 52 (2): 269–279. [http://dx.doi.org/10.1016/0092-8674\(88\)90516-8](http://dx.doi.org/10.1016/0092-8674(88)90516-8). PMID: 2449285
10. Beutler B. Innate immunity: an overview. *Mol. Immunol.* 2004; 40 (12): 845–859. <http://dx.doi.org/10.1016/j.molimm.2003.10.005>. PMID: 14698223
11. Poltorak A., He X., Smirnova I., Liu M.Y., Van Huffel C., Du X., Birdwell D., Alejos E., Silva M., Galanos C., Freudenberg M., Ricciardi-Castagnoli P., Layton B., Beutler B. Defective LPS signaling in C3H/HeJ and C57BL/10ScCr mice: mutations in *Tlr4* gene. *Science*. 1998; 282 (5396): 2085–2088. <http://dx.doi.org/10.1126/science.282.5396.2085>. PMID: 9851930
12. Lemaître B., Nicolas E., Michaut L., Reichhart J.M., Hoffmann J.A. The dorsoventral regulatory gene cassette *spätzle/Toll/cactus* controls the potent antifungal response in *Drosophila* adults. *Cell*. 1996; 86 (6): 973–983. [http://dx.doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)80172-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0092-8674(00)80172-5). PMID: 8808632
13. Medzhitov R., Preston-Hurlburt P., Janeway C.A.Jr. A human homologue of the *Drosophila* Toll protein signals activation of adaptive immunity. *Nature*. 1997; 388 (6640): 394–397. <http://dx.doi.org/10.1038/41131>. PMID: 9237759
14. Kopp E.B., Medzhitov R. The Toll-receptor family and control of innate immunity. *Curr. Opin. Immunol.* 1999; 11 (1): 13–18. [http://dx.doi.org/10.1016/S0952-7915\(99\)80003-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0952-7915(99)80003-X). PMID: 10047546
15. Takeda K., Kaisho T., Akira S. Toll-like receptors. *Annu. Rev. Immunol.* 2003; 21: 335–376. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.immunol.21.120601.141126>. PMID: 12524386
16. Yoshimura A., Lien E., Ingalls R.R., Tuomanen E., Dziarski R., Golenbock D. Cutting edge: recognition of Gram-positive bacterial cell wall components by the innate immune system occurs via Toll-like receptor 2. *J. Immunol.* 1999; 163 (1): 1–5. PMID: 10384090
17. Trinchieri G., Sher A. Cooperation of Toll-like receptor signals in innate immune defence. *Nat. Rev. Immunol.* 2007; 7 (3): 179–190. <http://dx.doi.org/10.1038/nri2038>. PMID: 17318230
18. Ogus A.C., Yoldas B., Ozdemir T., Uguz A., Olcen S., Keser I., Coskun M., Cilli A., Yegin O. The Arg753Gln polymorphism of the human toll-like

19. Yang I.A., Barton S.J., Rorke S., Cakebread J.A., Keith T.P., Clough J.B., Holgate S.T., Holloway J.W. Toll-like receptor 4 polymorphism and severity of atopy in asthmatics. *Genes. Immun.* 2004; 5 (1): 41–45. <http://dx.doi.org/10.1038/sj.gene.6364037>. PMID: 14735148
20. Paulus S.C., Hirschfeld A.F., Victor R.E., Brunstein J., Thomas E., Turvey S.E. Common human Toll-like receptor 4 polymorphisms—role in susceptibility to respiratory syncytial virus infection and functional immunological relevance. *Clin. Immunol.* 2007; 123 (3): 252–257. <http://dx.doi.org/10.1016/j.clim.2007.03.003>. PMID: 17449325
21. Hawen T.R., Verbon A., Janer M., Zhao L.P., Beutler B., Aderem A. Toll-like receptor 4 polymorphisms are associated with resistance to Legionnaires' disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2005; 102 (7): 2487–2489. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0409831102>. PMID: 15699327
22. Moens L., Verhaegen J., Pierik M., Vermeire S., De Boeck K., Peetermans W.E., Bossuyt X. Toll-like receptor 2 and Toll-like receptor 4 polymorphisms in invasive pneumococcal disease. *Microbes Infect.* 2007; 9 (1): 15–20. <http://dx.doi.org/10.1016/j.micinf.2006.10.002>. PMID: 17196867
23. Yuan F.F., Marks K., Wong M., Watson S., de Leon E., McIntyre P.B., Sullivan J.S. Clinical relevance of TLR2, TLR4, CD14 and FcγRIIIA gene polymorphisms in Streptococcus pneumonia infection. *Immunol. Cell. Biol.* 2008; 86 (3): 268–270. <http://dx.doi.org/10.1038/sj.icb.7100155>. PMID: 18180796
24. Endeman H. Clinical characteristics and innate immunity in patients with community-acquired pneumonia. Dissertation. Utrecht University; 2009: <http://dspace.library.uu.nl/handle/1874/33668>
25. Carvalho A., Cunha C., Carotti A., Aloisi T., Guarnera O., Di Ianni M., Falzetti F., Bistoni F., Aversa F., Pitzurra L., Rodrigues F., Romani L. Polymorphisms in Toll-like receptor genes and susceptibility to infections in allogeneic stem cell transplantation. *Exp. Hematol.* 2009; 37 (9): 1022–1029. <http://dx.doi.org/10.1016/j.exphem.2009.06.004>. PMID: 19539691
26. Kumpf O., Giamarellos-Bourboulis E.J., Koch A., Hamann L., Mouktaroudi M., Oh D.Y., Latz E., Lorenz E., Schwartz D.A., Ferwerda B., Routsis C., Skalioti C., Kullberg B.J., van der Meer J.W., Schlag P.M., Netea M.G., Zacharowski K., Schumann R.R. Influence of genetic variations in TLR4 and TIRAP/Mal on the course of sepsis and pneumonia and cytokine release: an observational study in three cohorts. *Crit. Care.* 2010; 14 (3): R103. <http://dx.doi.org/10.1186/cc9047>. PMID: 20525286
27. Esposito S., Molteni C.G., Giliani S., Mazza C., Scala A., Tagliaferri L., Pelucchi C., Fossali E., Plebani A., Principi N. Toll-like receptor 3 gene polymorphisms and severity of pandemic A/H1N1/2009 influenza in otherwise healthy children. *Virol. J.* 2012; 9: 270. <http://dx.doi.org/10.1186/1743-422X-9-270>. PMID: 23151015
28. Telleria-Orriols J.J., García-Salido A., Varillas D., Serrano-González A., Casado-Flores J. TLR2-TLR4/CD14 polymorphisms and predisposition to severe invasive infections by Neisseria meningitidis and Streptococcus pneumoniae. *Med. Intensiva.* 2014; 38 (6): 356–362. <http://dx.doi.org/10.1016/j.medin.2013.08.006>. PMID: 24144680
29. Misch E.A., Verbon A., Prins J.M., Skerrett S.J., Hawen T.R. A TLR6 polymorphism is associated with increased risk of Legionnaires' disease. *Genes. Immun.* 2013; 14 (7): 420–426. <http://dx.doi.org/10.1038/gene.2013.34>. PMID: 23823019
30. Rodríguez-Orsorio C.A., Lima G., Herrera-Caceres J.O., Villegas-Torres B.E., Zuñiga J., Ponce-de-Leon S., Llorente L., Sifuentes-Osorio J. Genetic variations in toll-like receptor 4 in Mexican-Mestizo patients with intra-abdominal infection and/or pneumonia. *Immunol. Lett.* 2013; 153 (1–2): 41–46. <http://dx.doi.org/10.1016/j.imlet.2013.07.002>. PMID: 23871732
31. Schnetzke U., Spies-Weissart B., Yomade O., Fischer M., Rachow T., Schrenk K., Glaser A., von Lilienfeld-Toal M., Hochhaus A., Scholl S. Polymorphisms of Toll-like receptors (TLR2 and TLR4) are associated with the risk of infectious complications in acute myeloid leukemia. *Genes. Immun.* 2015; 16 (1): 83–88. <http://dx.doi.org/10.1038/gene.2014.67>. PMID: 25427560
32. 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
33. Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R foundation for statistical computing. Vienna, Austria; 2014: <http://www.R-project.org/>
34. Schwarzer G. Meta: meta-analysis with R. R package version 4.0-3. 2015; <http://CRAN.R-project.org/package=meta>
35. Higgins J.P., Thompson S.G. Quantifying heterogeneity in a meta-analysis. *Stat. Med.* 2002; 21 (11): 1539–1558. <http://dx.doi.org/10.1136/bmj.327.7414.557>. PMID: 12111919
36. Ioannidis J.P., Trikalinos T.A. The appropriateness of asymmetry tests for publication bias in meta-analyses: a large survey. *CMAJ.* 2007; 176 (8): 1091–1096. <http://dx.doi.org/10.1503/cmaj.060410>. PMID: 17420491
37. Moço N.P., Martin L.F., Pereira A.C., Poletini J., Peraçoli J.C., Coelho K.I., da Silva M.G. Gene expression and protein localization of TLR-1, receptor 2 gene in tuberculosis disease. *Eur. Respir. J.* 2004; 23 (2): 219–223. <http://dx.doi.org/10.1183/09031936.03.00061703>. PMID: 14979495
19. Yang I.A., Barton S.J., Rorke S., Cakebread J.A., Keith T.P., Clough J.B., Holgate S.T., Holloway J.W. Toll-like receptor 4 polymorphism and severity of atopy in asthmatics. *Genes. Immun.* 2004; 5 (1): 41–45. <http://dx.doi.org/10.1038/sj.gene.6364037>. PMID: 14735148
20. Paulus S.C., Hirschfeld A.F., Victor R.E., Brunstein J., Thomas E., Turvey S.E. Common human Toll-like receptor 4 polymorphisms—role in susceptibility to respiratory syncytial virus infection and functional immunological relevance. *Clin. Immunol.* 2007; 123 (3): 252–257. <http://dx.doi.org/10.1016/j.clim.2007.03.003>. PMID: 17449325
21. Hawen T.R., Verbon A., Janer M., Zhao L.P., Beutler B., Aderem A. Toll-like receptor 4 polymorphisms are associated with resistance to Legionnaires' disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2005; 102 (7): 2487–2489. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0409831102>. PMID: 15699327
22. Moens L., Verhaegen J., Pierik M., Vermeire S., De Boeck K., Peetermans W.E., Bossuyt X. Toll-like receptor 2 and Toll-like receptor 4 polymorphisms in invasive pneumococcal disease. *Microbes Infect.* 2007; 9 (1): 15–20. <http://dx.doi.org/10.1016/j.micinf.2006.10.002>. PMID: 17196867
23. Yuan F.F., Marks K., Wong M., Watson S., de Leon E., McIntyre P.B., Sullivan J.S. Clinical relevance of TLR2, TLR4, CD14 and FcγRIIIA gene polymorphisms in Streptococcus pneumonia infection. *Immunol. Cell. Biol.* 2008; 86 (3): 268–270. <http://dx.doi.org/10.1038/sj.icb.7100155>. PMID: 18180796
24. Endeman H. Clinical characteristics and innate immunity in patients with community-acquired pneumonia. Dissertation. Utrecht University; 2009: <http://dspace.library.uu.nl/handle/1874/33668>
25. Carvalho A., Cunha C., Carotti A., Aloisi T., Guarnera O., Di Ianni M., Falzetti F., Bistoni F., Aversa F., Pitzurra L., Rodrigues F., Romani L. Polymorphisms in Toll-like receptor genes and susceptibility to infections in allogeneic stem cell transplantation. *Exp. Hematol.* 2009; 37 (9): 1022–1029. <http://dx.doi.org/10.1016/j.exphem.2009.06.004>. PMID: 19539691
26. Kumpf O., Giamarellos-Bourboulis E.J., Koch A., Hamann L., Mouktaroudi M., Oh D.Y., Latz E., Lorenz E., Schwartz D.A., Ferwerda B., Routsis C., Skalioti C., Kullberg B.J., van der Meer J.W., Schlag P.M., Netea M.G., Zacharowski K., Schumann R.R. Influence of genetic variations in TLR4 and TIRAP/Mal on the course of sepsis and pneumonia and cytokine release: an observational study in three cohorts. *Crit. Care.* 2010; 14 (3): R103. <http://dx.doi.org/10.1186/cc9047>. PMID: 20525286
27. Esposito S., Molteni C.G., Giliani S., Mazza C., Scala A., Tagliaferri L., Pelucchi C., Fossali E., Plebani A., Principi N. Toll-like receptor 3 gene polymorphisms and severity of pandemic A/H1N1/2009 influenza in otherwise healthy children. *Virol. J.* 2012; 9: 270. <http://dx.doi.org/10.1186/1743-422X-9-270>. PMID: 23151015
28. Telleria-Orriols J.J., García-Salido A., Varillas D., Serrano-González A., Casado-Flores J. TLR2-TLR4/CD14 polymorphisms and predisposition to severe invasive infections by Neisseria meningitidis and Streptococcus pneumoniae. *Med. Intensiva.* 2014; 38 (6): 356–362. <http://dx.doi.org/10.1016/j.medin.2013.08.006>. PMID: 24144680
29. Misch E.A., Verbon A., Prins J.M., Skerrett S.J., Hawen T.R. A TLR6 polymorphism is associated with increased risk of Legionnaires' disease. *Genes. Immun.* 2013; 14 (7): 420–426. <http://dx.doi.org/10.1038/gene.2013.34>. PMID: 23823019
30. Rodríguez-Orsorio C.A., Lima G., Herrera-Caceres J.O., Villegas-Torres B.E., Zuñiga J., Ponce-de-Leon S., Llorente L., Sifuentes-Osorio J. Genetic variations in toll-like receptor 4 in Mexican-Mestizo patients with intra-abdominal infection and/or pneumonia. *Immunol. Lett.* 2013; 153 (1–2): 41–46. <http://dx.doi.org/10.1016/j.imlet.2013.07.002>. PMID: 23871732
31. Schnetzke U., Spies-Weissart B., Yomade O., Fischer M., Rachow T., Schrenk K., Glaser A., von Lilienfeld-Toal M., Hochhaus A., Scholl S. Polymorphisms of Toll-like receptors (TLR2 and TLR4) are associated with the risk of infectious complications in acute myeloid leukemia. *Genes. Immun.* 2015; 16 (1): 83–88. <http://dx.doi.org/10.1038/gene.2014.67>. PMID: 25427560
32. 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
33. Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R foundation for statistical computing. Vienna, Austria; 2014: <http://www.R-project.org/>
34. Schwarzer G. Meta: meta-analysis with R. R package version 4.0-3. 2015; <http://CRAN.R-project.org/package=meta>
35. Higgins J.P., Thompson S.G. Quantifying heterogeneity in a meta-analysis. *Stat. Med.* 2002; 21 (11): 1539–1558. <http://dx.doi.org/10.1136/bmj.327.7414.557>. PMID: 12111919
36. Ioannidis J.P., Trikalinos T.A. The appropriateness of asymmetry tests for publication bias in meta-analyses: a large survey. *CMAJ.* 2007; 176 (8): 1091–1096. <http://dx.doi.org/10.1503/cmaj.060410>. PMID: 17420491

Meta-Analysis

- 2, -4 and -6 in amniochorion membranes of pregnancies complicated by histologic chorioamnionitis. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 2013; 171 (1): 12–17. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejogrb.2013.07.036>. PMID: 24125907
38. Takeuchi O., Kawai T., Mülhradt P.F., Morr M., Radolf J.D., Zychlinsky A., Takeda K., Akira S. Discrimination of bacterial lipoproteins by Toll-like receptor 6. *Int. Immunol.* 2001; 13 (7): 933–940. <http://dx.doi.org/10.1093/intimm/13.7.933>. PMID: 11431423
 39. Gerold G., Zychlinsky A., de Diego J.L. What is the role of Toll-like receptors in bacterial infections? *Semin. Immunol.* 2007; 19 (1): 41–47. <http://dx.doi.org/10.1016/j.smim.2006.12.003>. PMID: 17280841
 40. Aliprantis A.O., Yang R.B., Mark M.R., Suggett S., Devaux B., Radolf J.D., Klimpel G.R., Godowski P., Zychlinsky A. Cell activation and apoptosis by bacterial lipoproteins through toll-like receptor-2. *Science.* 1999; 285 (5428): 736–739. <http://dx.doi.org/10.1126/science.285.5428.736>. PMID: 10426996
 41. Schröder N.W., Morath S., Alexander C., Hamann L., Hartung T., Zähringer U., Göbel U.B., Weber J.R., Schumann R.R. Lipoteichoic acid (LTA) of *Streptococcus pneumoniae* and *Staphylococcus aureus* activates immune cells via Toll-like receptor (TLR)-2, lipopolysaccharide-binding protein (LBP), and CD14, whereas TLR-4 and MD-2 are not involved. *J. Biol. Chem.* 2003; 278 (18): 15587–15594. <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.M212829200>. PMID: 12594207
 42. Schwandner R., Dziarski R., Wesche H., Rothe M., Kirschning C.J. Peptidoglycan- and lipoteichoic acid-induced cell activation is mediated by toll-like receptor 2. *J. Biol. Chem.* 1999; 274 (25): 17406–17409. <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.274.25.17406>. PMID: 10364168
 43. Takeda K., Takeuchi O., Akira S. Recognition of lipopeptides by Toll-like receptors. *J. Endotoxin. Res.* 2002; 8 (6): 459–463. <http://dx.doi.org/10.1177/09680519020080060101>. PMID: 12697090
 44. Takeuchi O., Hoshino K., Kawai T., Sanjo H., Takada H., Ogawa T., Takeda K., Akira S. Differential roles of TLR2 and TLR4 in recognition of gram-negative and gram-positive bacterial cell wall components. *Immunity.* 1999; 11 (4): 443–451. [http://dx.doi.org/10.1016/S1074-7613\(00\)80119-3](http://dx.doi.org/10.1016/S1074-7613(00)80119-3). PMID: 10549626
 45. Ben-Ali M., Barbouche M.R., Bousnina S., Chabbou A., Dellagi K. Toll-like receptor 2 Arg677Trp polymorphism is associated with susceptibility to tuberculosis in Tunisian patients. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 2004; 11 (3): 625–626. <http://dx.doi.org/10.1128/CDLI.11.3.625-626.2004>. PMID: 15138193
 46. Kang T.J., Chae G.T. Detection of Toll-like receptor 2 (TLR2) mutation in the lepromatous leprosy patients. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 2001; 31 (1): 53–58. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1574-695X.2001.tb01586.x>. PMID: 11476982
 47. Oğus A.C., Yıldas B., Özdemir T., Uguz A., Olcen S., Keser I., Coskun M., Cilli A., Yegin O. The Arg753Gln polymorphism of the human toll-like receptor 2 gene in tuberculosis disease. *Eur. Respir. J.* 2004; 23 (2): 219–223. <http://dx.doi.org/10.1183/09031936.03.00061703>. PMID: 14979495
 48. Texereau J., Chiche J.D., Taylor W., Choukroun G., Comba B., Mira J.P. The importance of Toll-like receptor 2 polymorphisms in severe infections. *Clin. Infect. Dis.* 2005; 41 (Suppl 7): S408–S415. <http://dx.doi.org/10.1086/431990>. PMID: 16237639
 49. Yim J.J., Lee H.W., Lee H.S., Kim Y.W., Han S.K., Shim Y.S., Holland S.M. The association between microsatellite polymorphisms in intron II of the human Toll-like receptor 2 gene and tuberculosis among Koreans. *Genes. Immun.* 2006; 7 (2): 150–155. <http://dx.doi.org/10.1038/sj.gene.6364274>. PMID: 16437124
 50. Xiong Y., Song C., Snyder G.A., Sundberg E.J., Medvedev A.E. R753Q polymorphism inhibits Toll-like receptor (TLR) 2 tyrosine phosphorylation, dimerization with TLR6, and recruitment of myeloid differentiation primary response protein 88. *J. Biol. Chem.* 2012; 287 (45): 38327–38337. <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.M112.375493>. PMID: 22992740
 51. Ioana M., Ferwerda B., Plantinga T.S., Stappers M., Oosting M., McCall M., Cimpoeu A., Burada F., Panduru N., Sauerwein R., Doumbo O., van der Meer J.W., van Crevel R., Joosten L.A., Netea M.G. Different patterns of Toll-like receptor 2 polymorphisms in populations of various ethnic and geographic origins. *Infect Immun.* 2012; 80 (5): 1917–1922. <http://dx.doi.org/10.1128/IAI.00121-12>. PMID: 22354034
 52. Ziakas P.D., Prodromou M.L., El Khoury J., Zintzaras E., Mylonakis E. The role of TLR4 896 A>G and 1196 C>T in susceptibility to infections: a review and meta-analysis of genetic association studies. *PLoS One.* 2013; 8 (11): e81047. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0081047>. PMID: 24282567
 53. Cai X., Fu Y., Chen Q. Association between TLR4 A299G polymorphism and pneumonia risk: a meta-analysis. *Med. Sci. Monit.* 2015; 21: 625–629. <http://dx.doi.org/10.12659/MSM.892557>. PMID: 25720378
 54. Everett B., Cameron B., Li H., Vollmer-Conna U., Davenport T., Hickie I., Wakefield D., Vernon S., Reeves W.C., Lloyd A.R. Polymorphisms in Toll-like receptors-2 and -4 are not associated with disease manifestations in acute Q fever. *Genes. Immun.* 2007; 8 (8): 699–702. <http://dx.doi.org/10.1038/sj.gene.6364428>. PMID: 17855803
 37. Moço N.P., Martin L.F., Pereira A.C., Poletini J., Peraçoli J.C., Coelho K.I., da Silva M.G. Gene expression and protein localization of TLR-1, -2, -4 and -6 in amniochorion membranes of pregnancies complicated by histologic chorioamnionitis. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 2013; 171 (1): 12–17. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejogrb.2013.07.036>. PMID: 24125907
 38. Takeuchi O., Kawai T., Mülhradt P.F., Morr M., Radolf J.D., Zychlinsky A., Takeda K., Akira S. Discrimination of bacterial lipoproteins by Toll-like receptor 6. *Int. Immunol.* 2001; 13 (7): 933–940. <http://dx.doi.org/10.1093/intimm/13.7.933>. PMID: 11431423
 39. Gerold G., Zychlinsky A., de Diego J.L. What is the role of Toll-like receptors in bacterial infections? *Semin. Immunol.* 2007; 19 (1): 41–47. <http://dx.doi.org/10.1016/j.smim.2006.12.003>. PMID: 17280841
 40. Aliprantis A.O., Yang R.B., Mark M.R., Suggett S., Devaux B., Radolf J.D., Klimpel G.R., Godowski P., Zychlinsky A. Cell activation and apoptosis by bacterial lipoproteins through toll-like receptor-2. *Science.* 1999; 285 (5428): 736–739. <http://dx.doi.org/10.1126/science.285.5428.736>. PMID: 10426996
 41. Schröder N.W., Morath S., Alexander C., Hamann L., Hartung T., Zähringer U., Göbel U.B., Weber J.R., Schumann R.R. Lipoteichoic acid (LTA) of *Streptococcus pneumoniae* and *Staphylococcus aureus* activates immune cells via Toll-like receptor (TLR)-2, lipopolysaccharide-binding protein (LBP), and CD14, whereas TLR-4 and MD-2 are not involved. *J. Biol. Chem.* 2003; 278 (18): 15587–15594. <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.M212829200>. PMID: 12594207
 42. Schwandner R., Dziarski R., Wesche H., Rothe M., Kirschning C.J. Peptidoglycan- and lipoteichoic acid-induced cell activation is mediated by toll-like receptor 2. *J. Biol. Chem.* 1999; 274 (25): 17406–17409. <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.274.25.17406>. PMID: 10364168
 43. Takeda K., Takeuchi O., Akira S. Recognition of lipopeptides by Toll-like receptors. *J. Endotoxin. Res.* 2002; 8 (6): 459–463. <http://dx.doi.org/10.1177/09680519020080060101>. PMID: 12697090
 44. Takeuchi O., Hoshino K., Kawai T., Sanjo H., Takada H., Ogawa T., Takeda K., Akira S. Differential roles of TLR2 and TLR4 in recognition of gram-negative and gram-positive bacterial cell wall components. *Immunity.* 1999; 11 (4): 443–451. [http://dx.doi.org/10.1016/S1074-7613\(00\)80119-3](http://dx.doi.org/10.1016/S1074-7613(00)80119-3). PMID: 10549626
 45. Ben-Ali M., Barbouche M.R., Bousnina S., Chabbou A., Dellagi K. Toll-like receptor 2 Arg677Trp polymorphism is associated with susceptibility to tuberculosis in Tunisian patients. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 2004; 11 (3): 625–626. <http://dx.doi.org/10.1128/CDLI.11.3.625-626.2004>. PMID: 15138193
 46. Kang T.J., Chae G.T. Detection of Toll-like receptor 2 (TLR2) mutation in the lepromatous leprosy patients. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 2001; 31 (1): 53–58. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1574-695X.2001.tb01586.x>. PMID: 11476982
 47. Oğus A.C., Yıldas B., Özdemir T., Uguz A., Olcen S., Keser I., Coskun M., Cilli A., Yegin O. The Arg753Gln polymorphism of the human toll-like receptor 2 gene in tuberculosis disease. *Eur. Respir. J.* 2004; 23 (2): 219–223. <http://dx.doi.org/10.1183/09031936.03.00061703>. PMID: 14979495
 48. Texereau J., Chiche J.D., Taylor W., Choukroun G., Comba B., Mira J.P. The importance of Toll-like receptor 2 polymorphisms in severe infections. *Clin. Infect. Dis.* 2005; 41 (Suppl 7): S408–S415. <http://dx.doi.org/10.1086/431990>. PMID: 16237639
 49. Yim J.J., Lee H.W., Lee H.S., Kim Y.W., Han S.K., Shim Y.S., Holland S.M. The association between microsatellite polymorphisms in intron II of the human Toll-like receptor 2 gene and tuberculosis among Koreans. *Genes. Immun.* 2006; 7 (2): 150–155. <http://dx.doi.org/10.1038/sj.gene.6364274>. PMID: 16437124
 50. Xiong Y., Song C., Snyder G.A., Sundberg E.J., Medvedev A.E. R753Q polymorphism inhibits Toll-like receptor (TLR) 2 tyrosine phosphorylation, dimerization with TLR6, and recruitment of myeloid differentiation primary response protein 88. *J. Biol. Chem.* 2012; 287 (45): 38327–38337. <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.M112.375493>. PMID: 22992740
 51. Ioana M., Ferwerda B., Plantinga T.S., Stappers M., Oosting M., McCall M., Cimpoeu A., Burada F., Panduru N., Sauerwein R., Doumbo O., van der Meer J.W., van Crevel R., Joosten L.A., Netea M.G. Different patterns of Toll-like receptor 2 polymorphisms in populations of various ethnic and geographic origins. *Infect Immun.* 2012; 80 (5): 1917–1922. <http://dx.doi.org/10.1128/IAI.00121-12>. PMID: 22354034
 52. Ziakas P.D., Prodromou M.L., El Khoury J., Zintzaras E., Mylonakis E. The role of TLR4 896 A>G and 1196 C>T in susceptibility to infections: a review and meta-analysis of genetic association studies. *PLoS One.* 2013; 8 (11): e81047. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0081047>. PMID: 24282567
 53. Cai X., Fu Y., Chen Q. Association between TLR4 A299G polymorphism and pneumonia risk: a meta-analysis. *Med. Sci. Monit.* 2015; 21: 625–629. <http://dx.doi.org/10.12659/MSM.892557>. PMID: 25720378
 54. Everett B., Cameron B., Li H., Vollmer-Conna U., Davenport T., Hickie I., Wakefield D., Vernon S., Reeves W.C., Lloyd A.R. Polymorphisms in Toll-like receptors-2 and -4 are not associated with disease manifestations in acute Q fever. *Genes. Immun.* 2007; 8 (8): 699–702. <http://dx.doi.org/10.1038/sj.gene.6364428>. PMID: 17855803

Поступила 19.08.15

Submitted 19.08.15

ВЛИЯНИЕ ПЕРФТОРАНА НА РЕГУЛЯЦИЮ КОЖНОГО КРОВОТОКА ПРИ ОСТРОЙ КРОВОПОТЕРЕ (экспериментальное исследование)

И. А. Рыжков, Ю. В. Заржецкий, И. С. Новодержкина

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

Effect of Perfluorane on the Regulation of Skin Blood Flow in Acute Blood Loss: Experimental Study

I. A. Ryzhkov, Yu. V. Zarzhetsky, I. S. Novoderzhkina

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

Цель исследования. Изучение с помощью лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) влияния перфторана на микрогемодикуляцию в коже крысы при острой кровопотере и после аутогемотрансфузии.

Материалы и методы. Эксперименты проведены на 31 беспородных крысах-самцах массой 300–400 г под наркозом (небутал 45 мг/кг внутривенно). С целью измерения АД, забора, реинфузии крови и введения инфузионных растворов катетеризировали хвостовую артерию. Кровоток в микрососудах внутренней поверхности правого уха регистрировали методом лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) (аппарат ЛАКК-02, НПП «ЛАЗМА», Россия). Использовали модель острой, фиксированной по объему кровопотери. Целевой объем забора крови составил 30% ОЦК. На 10-й минуте после забора крови животным вводили раствор 0,9% NaCl (ФР, $n=15$) или перфторан (ПФ, $n=16$) в дозе 3 мл/кг массы тела. На 60-й минуте после забора крови проводили аутогемотрансфузию, после чего следовал реперфузионный период (60 мин). При анализе ЛДФ-граммы определяли следующие параметры: показатель микроциркуляции (ПМ); максимальные амплитуды колебаний кровотока в эндотелиальном (Аэ), нейрогенном (Ан) и миогенном (Ам) диапазонах частот методом вейвлет-анализа. Статистическую обработку данных проводили с использованием программы Statistica 7.0.

Результаты. В исходном состоянии между группами ПФ или ФР по исследуемым показателям различий не наблюдали. На 1–10 мин периода гиповолемии (до введения препаратов) по сравнению с исходным состоянием в обеих группах произошли одинаковые изменения в виде снижения АД (ФР – на 58,3%, ПФ – на 62,2%), ПМ (ФР – на 63,3%, ПФ – на 69,2%) и увеличения Ан ($p<0,05$). После введения препаратов АД и ПМ увеличились в обеих группах, но в группе ПФ в большей степени ($p<0,05$), также в обеих группах увеличились Аэ, а Ан продолжали оставаться на повышенном уровне. В дальнейшем на протяжении периода гиповолемии в обеих группах значения АД были схожими, а Ан оставались повышенными по сравнению с исходом, при этом Аэ оставалась повышенной только в группе ПФ. В периоде реперфузии в обеих группах ПМ, Аэ и Ан вернулись к исходным значениям. АД в группе ФР вернулось к исходным значениям и оставалось на постоянном уровне, а в группе ПФ на 50–60 мин снизилось по сравнению с 1–10 мин периода реперфузии и исходом. Различия в уровне АД не оказало влияния на исследуемые показатели микроциркуляции.

Закключение. Введение ПФ в сравнении с ФР при острой кровопотере приводит к более выраженному увеличению АД и ПМ. Сохраняющееся на протяжении всего периода гиповолемии повышение Аэ в группе ПФ, может указывать на стимулирующее влияние ПФ на эндотелий зависимые механизмы флуксуций в коже уха крыс в условиях гиповолемии.

Ключевые слова: кожный кровоток; лазерная доплеровская флоуметрия; вейвлет-анализ; острая кровопотеря; перфторан

Objective: to use laser Doppler flowmetry (LDF) to investigate the effect of perfluorane on the time course of microhemocirculatory changes in the rat skin in acute blood loss and after autotransfusion.

Адрес для корреспонденции:

Иван Рыжков
E-mail: riamed21@gmail.com

Correspondence to:

Ivan Ryzhkov
E-mail: riamed21@gmail.com

Original Investigations

Materials and methods. Experiments were carried out on 31 outbred male rats weighing 300–400 g under anesthesia with intraperitoneal Nembutal 45 mg/kg. The caudal artery was catheterized to measure blood pressure (BP), to sample and reinfuse blood, and to administer infusion solutions. The LDF (ЛІАКК-02 device, LAZMA, Russia) method was used to record blood flow in the microvessels of the internal surface of the right ear. A volume-fixed acute blood loss model was applied. The goal amount of blood loss was 30% of the circulating blood volume. At 10 minutes after blood sampling, the animals were administered with 0.9% NaCl solution (physiologic saline (PS), $n=15$) or perfluorane, PF, $n=16$ at in a dose of 3 ml/kg body weight. At 60 minutes following blood sampling, autohemotransfusion was carried out, after which there was a 60 min reperfusion period. The investigators analyzed LDF readings and determined the following indicators: microcirculation index (MI); the maximum amplitudes of blood flow fluctuations in the endothelial (Ae), neurogenic (An), and myogenic (AM) frequency ranges by a wavelet analysis. The data were statistically processed using Statistica 7.0 software.

Results. At baseline, no differences were found between the PF and PS groups in the examined indicators. At 1–10 min of hypovolemia (before drug administration), as compared with the baseline values, both groups showed equal changes as reductions in blood pressure (BP) (by 58.3 and 62.2% in the PS and PF groups) and MI (by 63.3 and 69.2% in the PS and PF groups) and an increase in An ($P<0.05$). After drug injections, BP and MI were increased in both groups, but to a greater extent in the PF group ($P<0.05$); Ae also rose in both groups, and An continued to remain higher. During hypovolemia, BP values were thereafter similar in both groups and An remained elevated as compared to its baseline values, at the same time Ae remained increased in the PF group only. During reperfusion, MI, Ae, and An returned to their baseline values in both groups. BP returned to its baseline values and was kept constant in the PS group and decreased in the PF group at 50–60 min versus 1–10 min of reperfusion and outcome. The differences in BP had no impact on the microcirculatory parameters examined.

Conclusion. The administration of PF versus PS in acute blood loss causes a more pronounced increase in BP and MI. The Ae increase persisting in the PF group throughout hypovolemia may point to the stimulating effect of PF on the endothelium-dependent mechanisms of flux motions in the rat ear skin under hypovolemic conditions.

Key words: skin blood flow; laser Doppler flowmetry; wavelet analysis; acute blood loss; perfluorane

DOI:10.15360/1813-9779-2015-6-19-27

Введение

Экспериментальное изучение острой кровопотери ставит своей целью выявление новых аспектов ее патогенеза, а также дает возможность оценить эффект терапевтических воздействий, применяемых на определенном этапе развития патологического процесса.

Централизация кровообращения, наряду с мобилизацией депонированной крови и аутогемодилюцией, является основной компенсаторно-приспособительной реакцией организма на возникающую после кровопотери гиповолемию [1]. Суть ее заключается в перераспределении сердечного выброса в пользу жизненно важных органов (сердце и мозг), за счет вазоконстрикции в регионах менее чувствительных к ишемии (кожа, мышцы, желудочно-кишечный тракт). При этом, в ишемизированных тканях возникают и прогрессируют нарушения микроциркуляции и реологии крови, гипоксическое повреждение клеток, которые в свою очередь являются ведущими патогенными факторами развития геморрагического шока и полиорганной недостаточности [2]. Важное патофизиологическое значение имеют также реперфузионные осложнения, коагулопатия и системная воспалительная реакция организма на повреждение [3].

Интенсивная терапия острой кровопотери подразумевает не только трансфузию препаратов донорской крови, но и использование всего ком-

Introduction

The goal of the experimental study of acute blood loss was to elucidate new aspects of its pathogenesis and the effect of perftoran as a therapeutic intervention helpful at a certain stage of the pathological process.

The centralization of circulation, along with the mobilization of deposited blood and autohemodilution, are the main compensatory reactions to hemorrhagic hypovolemia [1]. The centralization of circulation is a redistribution of cardiac output in favor of the vital organs (heart and brain), by vasoconstriction in regions that are less sensitive to ischemia (skin, muscle, gastrointestinal tract). At the same time, alterations of microcirculation and blood rheology, hypoxic cell damage are appearing and progressing in the ischemic tissues. Those, in turn, are leading factors in the pathogenesis of hemorrhagic shock and multiple organ failure [2]. Reperfusion complications, coagulopathy and systemic inflammatory response to injury have an important pathophysiological significance as well [3].

The intensive care of acute blood loss involves not only the transfusion of donor blood preparations, but the whole set of measures aimed at correcting the hypovolemia and the disorders of microcirculation and blood rheology. This should lead to recovering the oxygen transport to tissues and promoting cell metabolism [4, 5]. Clinical and experimental studies have shown the efficiency of perftoran in fluid resuscitation

плекса мер, направленных на коррекцию гиповолемии, микроциркуляторных и гемореологических нарушений, что в итоге должно привести к восстановлению транспорта кислорода к тканям и клеточного метаболизма [4, 5]. В частности, как в клинических, так и в экспериментальных исследованиях показана эффективность использования перфторана в инфузионно-трансфузионной терапии острой кровопотери, что проявляется в его способности уменьшать выраженность микроциркуляторных и метаболических нарушений за счет антигипоксических и мембраностабилизирующих свойств [6, 7].

Несмотря на то, что при кровопотере предполагается резкое ограничение кожного кровотока вследствие централизации кровообращения, его исследование с помощью ряда неинвазивных методов позволяет оценить динамику протекания компенсаторно-приспособительных реакций организма, взаимосвязь нарушений микроциркуляции с показателями центральной гемодинамики, а также влияние на эти процессы лечебных мероприятий [8, 9]. Одним из таких методов является лазерная доплеровская флоуметрия (ЛДФ), которая позволяет не только исследовать величину кровотока на уровне микроциркуляции, но и с помощью математического анализа его колебаний (флаксмоций, от англ. *fluxmotion*) оценить механизмы регуляции микроциркуляции и изменение их активности в динамике [10].

Исходя из вышеизложенного, была поставлена цель — изучить с помощью лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) влияние перфторана на динамику параметров микрогемодинамики в коже крысы при острой кровопотере и после аутогемотрансфузии.

Материал и методы

Эксперименты проведены на 31 беспородных крысах-самцах массой 300–500 г под наркозом (нембутал 45 мг/кг внутривенно), в условиях спонтанного дыхания и температуры окружающей среды 20–22°C. Анестезию поддерживали повторными внутривенными инъекциями анестетика (нембутал 10 мг/кг каждые 40–50 мин или по требованию). С целью инвазивного измерения АД, забора, реинфузии крови и введения инфузионных растворов катетеризовали хвостовую артерию. Катетер периодически промывали раствором нефракционированного гепарина (0,1 мл, 50 ЕД/мл).

Кровоток в коже уха регистрировали методом ЛДФ. Суть метода ЛДФ состоит в оптическом неинвазивном зондировании тканей монохроматическим лазерным излучением и анализе излучения, отраженного от движущихся в тканях эритроцитов. Отраженное от подвижных частиц (эритроцитов) излучение имеет доплеровское смещение частоты относительно зондирующего сигнала. Эта переменная составляющая отраженного сигнала пропорциональна количеству эритро-

after acute blood loss, which has been manifested by reduction in the severity of microcirculatory and metabolic disorders due to antihypoxic and membrane stabilizing properties of perfloran (PF) [6, 7].

The cutaneous blood flow is expected to become sharply decreased following blood loss due to the centralization of circulation. Non-invasive methods allow assessing the dynamics of body's compensatory reactions and links of microcirculatory alterations to central hemodynamics, as well as the impact of therapeutic interventions on these processes [8, 9]. One of methods of investigation includes the laser Doppler flowmetry (LDF) that allows not only to investigate the microcirculatory blood flow, but also to assess the regulatory mechanisms of microcirculation and dynamics of their activity when assisted by mathematical analysis of oscillations (fluxmotions) [10].

The goal of current study was to characterize effects of PF administration on the patterns of cutaneous microcirculatory blood flow in rats during a fixed-volume blood loss and post-resuscitation with the aid of LDF and wavelet analysis.

Materials and Methods

Experimental studies were started after the approval of the Ethical Committee of the V. A. Negovsky Institute of General Reanimatology. Experiments were carried out in 31 male outbred rats weighing 300g to 500g during spontaneous breathing and room temperature of 20–22°C. The animals were anesthetized by intraperitoneal injection of pentobarbital (45 mg/kg). Anesthesia was maintained by additional intraperitoneal injections of anesthetic (pentobarbital 15 mg/kg at intervals of 40 to 50 min or as required). Polyethylene catheter was advanced through the tail artery for invasive measurement of blood pressure, blood withdrawal/ reinfusion and drugs infusion. The catheter was flushed intermittently with saline solution (0,1 ml) containing 50 IU/ml of unfractionated heparin.

The cutaneous blood flow in the rat's ear was recorded by LDF capable to non-invasive optical sensing of tissue reactions by monochromatic laser and analyzing the light reflected from moving red blood cells. Backscattered light from moving red blood cells has a Doppler shift relative to the probe beam. This variable component of the reflected signal is proportional to the number of red blood cells in the probed area and to their velocity. Then the computer calculates the index of perfusion (IP) that reflects the tissue perfusion in the test volume (about 1 mm³) per unit time and is measured in arbitrary perfusion units (PU).

The blood flow oscillations (fluxmotions) and their changes might provide information on various regulatory mechanisms of microcirculation. Oscillations of IP represent complex function that includes different harmonic components. Using mathematical analysis based on Fourier transforms, one can identify these harmonic components. For this allotment the high resolution wavelet analysis has been deployed [11, 12]. Spectral decomposition of LDF parameters into harmonic components enables one to determine the contribution of various fluxmotion components. Each component is characterized by a partic-

Original Investigations

цитов в зондируемой области и их скорости. В результате компьютерной обработки отраженного сигнала формируется показатель микроциркуляции (ПМ), отражающий уровень перфузии исследуемого объема ткани (около 1 мм³) в единицу времени и измеряемый в относительных перфузионных единицах (пф. ед.).

Колебания кровотока (флаксмоции) и их изменения позволяют получить информацию о состоянии механизмов регуляции микроциркуляции. Колебания ПМ во времени представляют собой сложную функцию, в которой присутствуют разные гармонические составляющие. При математическом анализе, основанном на преобразованиях Фурье, можно выявить эти гармонические составляющие. Для этих целей используется математический аппарат вейвлет-преобразования [11, 12], отличающийся высокой разрешающей способностью. Спектральное разложение ЛДФ-граммы на гармонические составляющие дает возможность определить вклад различных компонентов флаксмоций, каждый из которых характеризуется определенным диапазоном частот (F, Гц) и максимальной амплитудой колебаний кровотока в этом диапазоне (A, пф. ед.). В свою очередь каждый частотный компонент флаксмоций определяется природой конкретного механизма модуляции кровотока и его относительной активностью во время проведения ЛДФ-метрии. Среди механизмов регуляции микрогемодинамики различают активные и пассивные факторы. Активные факторы модуляции кровотока — это эндотелиальный, нейрогенный и собственно миогенный механизмы регуляции просвета сосудов. Эти факторы модулируют поток крови со стороны сосудистой стенки, реализуются через ее мышечный компонент и создают колебания кровотока посредством чередования эпизодов вазоконстрикции и вазодилатации. Пассивные факторы, вызывающие колебания кровотока вне системы микроциркуляции, — это пульсовая волна со стороны артерий и присасывающее действие «дыхательного насоса» со стороны вен.

У лабораторных животных (крыс) для каждого из пяти приведенных механизмов регуляции кровотока характерными диапазонами частот являются следующие: эндотелиальный (Аэ) — 0,01–0,04 Гц, нейрогенный (Ан) — 0,04–0,15 Гц, миогенный (Ам) — 0,15–0,4 Гц, дыхательный (Ад) — 0,4–2 Гц, пульсовой (Ап) — 2–5 Гц [13]. В скобках приведены сокращенные обозначения максимальных амплитуд колебаний кровотока в соответствующем диапазоне.

Световой зонд аппарата ЛАКК-02 (НПП «ЛАЗМА», Москва, Россия) (длина волны 0,63 мкм) устанавливали над внутренней поверхностью правого уха, избегая попадания в область регистрации кровотока крупных сосудов. Запись ЛДФ-граммы осуществляли на каждом из этапов эксперимента в течение 8–10 мин. При наличии выраженных артефактов (вследствие движения крысы, внешних помех) выделяли фрагменты ЛДФ-граммы продолжительностью не менее 4 мин без артефактов. При анализе каждой ЛДФ-граммы определяли следующие параметры: среднее значение ПМ в интервале времени регистрации; максимальные амплитуды колебаний кровотока в соответствующих диапазонах частот (Аэ, Ан, Ам), полученные методом вейвлет-анализа ЛДФ-грамм.

ular frequency range (F, Hz) and maximum amplitude (A, PU), which both in turn are determined by the nature of the specific blood flow modulation mechanism and its relative activity during the LDF. The regulatory mechanisms of microcirculation include active and passive factors. Active blood flow modulation factors include endothelial, neurogenic and myogenic (in the narrow sense) mechanisms of vascular lumen regulation. These factors modulate the blood flow by affecting the vascular wall and are released through muscular component of the latter creating oscillations in the blood flow through vasoconstriction and vasodilation alternation. Passive factors cause oscillations of blood flow outside the microvasculature. These are a pulse wave from the arteries and the «respiratory pump» from the veins.

In laboratory animals (rats) the characteristic frequency ranges were as follows (for the skin): endothelial (Ae) — 0.01–0.04 Hz, neurogenic (An) — 0.04–0.15 Hz, myogenic (Am) — 0.15–0.4 Hz, respiratory (Ar) — 0.4–2 Hz, pulse (Ap) — 2–5 Hz [13]. In parentheses the abbreviations of the maximum amplitude of blood flow oscillations and appropriate ranges are shown.

The probe of the LDF device LAKK-02 (SPE «LAZMA», Russia; wavelength 0.63 microns) was set over the inner surface of the right ear with a minimal clearance. Care was taken to place the probe at a skin area with minimal vascularization. The LDF-gram registration was performing for 8 min at each stage of the experiment. When there were significant «noise factors» (due to the movements of the rat, external noise etc.) LDF-gram fragments that lasted at least for 4 minutes (without «noise») were allocated. In the present study we investigated active flux motion components. The following parameters were analyzed: the mean value of IP in the time interval of registration; the maximum oscillation amplitudes of the local cerebral blood flow in the respective frequency bands (Ae, An, Am) obtained by the wavelet analysis.

The stages of experiment:

1. A baseline.
2. Blood loss. We employed an acute fixed-volume hemorrhage model that allow evaluating the natural course of the pathological process and the dynamics of compensatory reactions in posthemorrhagic period [14]. The total blood volume (TBV) was calculated as 6.5% of rat's body weight [15, 16]. The target blood loss volume was 30% of TBV. Blood was withdrawn by a syringe containing 0.5 ml of heparinized saline, in three equal portions (10% of the TBV) during 20 min (1st, 10th and 20th minute).
3. Hypovolemia (60 min). At the 10th minute of hypovolemia the animals of control group (S — saline, n = 15) were administered 0.9% NaCl solution intraarterially slowly (3 ml/kg); the animals of test group were administered with PF (RPC «Perftoran», Russia) in the same volume (n=16).
4. Reinfusion (autohemotransfusion) of blood was performed for 10 minutes (the 1st, 5th and 10th minutes) in three portions (10% of TBV).
5. Reperfusion period (60 min).
6. The animals were euthanized by injection of a lethal dose of Nembutal (150 mg/kg ip).

Registration of systemic blood pressure (BP) and the LDF parameters were observed at: a) a baseline (after 20 min of animal stabilization); (b) 1–10 minutes after the third step of blood loss (before drug administration); (c)

Этапы эксперимента.

1. Исходное состояние.
2. Кровопотеря. Использовали модель острой фиксированной по объему кровопотери, позволяющей оценить естественное течение патологического процесса и динамику компенсаторно-приспособительных реакций организма в постгеморрагическом периоде [14]. ОЦК крысы рассчитывался как 6,5% от массы тела [15, 16]. Целевой объем кровопотери составил 30% ОЦК. Кровь забирали шприцем, содержащим 0,5 мл гепаринизированного физиологического раствора, тремя равными порциями (по 10% ОЦК) в течение 20 мин (1-я, 10-я и 20-я минуты).
3. Период гиповолемии (60 мин). На 10-й минуте данного периода животным контрольной группы (ФР — физиологический раствор, $n=15$), производили медленное в/а введение (3 мл/кг) 0,9% р-ра NaCl; животным опытной группы (ПФ — перфторан, $n=16$) вводили перфторан (ОАО НПФ «Перфторан», Россия) в том же объеме.
4. Реинфузию (аутогемотрансфузию) крови осуществляли в течение 10 мин (1-я, 5-я и 10-я минуты) тремя порциями (по 10% ОЦК).
5. Реперфузионный период (60 мин).
6. Эвтаназию осуществляли летальной дозой анестетика (нембутал 150 мг/кг).

Регистрацию системного артериального давления (АД) и запись ЛДФ-граммы проводили в исходном состоянии (через 20 мин стабилизации после подготовительных процедур); 1–10 минуты после третьего забора крови (до введения препаратов); на 15–25-й, 30–40-й и 50–60-й минутах постгеморрагического периода; 1–10-й и 50–60-й минутах реперфузионного периода.

Статистическую обработку данных проводили в программе Statistica 7.0. Для оценки достоверности различий между группами использовали критерий U Вилкоксона-Манна-Уитни, динамики данного показателя внутри групп — парный критерий T Вилкоксона. Различия считали достоверными при уровне значимости $p \leq 0,05$. Анализируемые величины представлены в виде: Me (25%; 75%). Масса тела и объем кровопотери представлены в виде среднего значения (M) и ошибки средней (m).

Результаты и обсуждение

Животные сравниваемых групп не различались по массе тела и уровню кровопотери. Масса тела составила 379 ± 10 г и 358 ± 15 г, а объем кровопотери — $6,5 \pm 0,2$ мл и $6,4 \pm 0,2$ мл в группах с введением ФР или ПФ соответственно.

В исходном состоянии между группами с использованием ПФ или ФР по исследуемым показателям кровотока и уровню АД различий не наблюдалось. В обеих группах после забора 30% ОЦК по сравнению с исходным состоянием произошло существенное уменьшение ПМ и увеличение Ан на фоне снижения АД, в среднем, на 58,3 и 62,2% в контрольной группе и в группе с введением ПФ соответственно (табл.).

Введение исследуемых препаратов на 10 минут гиповолемии в последующие 15 минут при-

15–25 minutes, 30–40 minutes, and 50–60 minutes of hypovolemia; (d) 5–15 minutes and 50–60 minutes of reperfusion.

Statistical processing of the data was performed using Statistica 7.0. To assess the significance of differences between groups we used Mann-Whitney U test and a paired t -test for the dynamics of indexes within the groups. Differences at $P < 0.05$ were considered as significant. The analyzed values were reported as median and 25% and 75% quartile ranges: Me (25%, 75%). Body weight and the amount of blood loss were reported as a mean (M) and a standard error of the mean (SE).

Results and Discussion

The animals of compared groups did not differ in body weight and blood loss volume. Body weight was 379 ± 10 g and 358 ± 15 g, and the blood loss volume was 6.5 ± 0.2 mL and 6.4 ± 0.2 mL for the groups with S or PF administration, respectively.

At a baseline the groups did not differ in all investigated parameters of local cutaneous blood flow as well as in the level of blood pressure (BP). After the blood had been withdrawn (30% of TBV), BP decreased in both groups on average by 58.3% (S) and 62.2% (PF) compared to the baseline ($P < 0.01$). Against this background, in both groups there was a significant decrease in IP and increase in An (Table 1).

10 minutes after S or PF administration (the 15–25 minutes of hypovolemia), BP and IP increased in both groups compared to the previous stage of the experiment (before drugs administration). In PF group this parameters was higher than in the rats of comparing group (Table 1). At the same stage, Ae increased in both groups compared to the baseline and An continued to remain at an elevated levels. Along with these changes in the PF group, in contrast to the S group, An decreased compared to the 1–10 minutes of hypovolemia (before S and PF administration). Perhaps this change was due to the higher elevation of BP in response to the PF administration. This assumption is based on the results of current study as well as our earlier studies [9, 17, 18], which showed an increase in An during BP decreasing.

At the 30–40 minutes of hypovolemia in the animals with PF administration there was a decrease in BP to the level of the control group. In both groups, similar BP values remained until the beginning of reperfusion (Table 1). At the 30–40 and 50–60 minutes of hypovolemia An persisted at an elevated level compared to the baseline in both groups. However, at the same stages of the experiment in PF group (in contrast to the control group) Ae continued to exceed the baseline values of this parameter. We hypothesize, this is an evidence of PF stimulating effect on the endothelium-dependent mechanisms of microcirculatory blood flow regulation in the skin of ear during hypovolemia. Increasing the fluxmotions amplitudes in the

Original Investigations

Динамика артериального давления и параметров микроциркуляции в коже уха в контрольной (ФР — физиологический раствор) и опытной (ПФ — перфторан) группах животных. Ме (25%; 75%).

Dynamics of blood pressure and local cutaneous blood flow in groups of rats received saline or perftoran [Me (25%; 75%)].

Stage of experiment	Groups	IP, PU	Ae, PU	An, PU	Am, PU	BP, mm Hg
Baseline	S (n=14)	6.0 (4.3; 8.1)	0.07 (0.06; 0.11)	0.07 (0.07; 0.010)	0.07 (0.06; 0.09)	110 (100; 118)
	PF (n=16)	6.5 (5.2; 9.7)	0.09 (0.06; 0.12)	0.08 (0.07; 0.14)	0.08 (0.06; 0.10)	103 (98; 115)
1–10 minutes of Hyp (before S and PF administration)	S	2.2** (1.9; 3.8)	0.11 (0.08; 0.15)	0.28** (0.13; 0.75)	0.08 (0.04; 0.10)	42** (38.5; 51.5)
	PF	2.0** (1.6; 2.6)	0.10 (0.07; 0.15)	0.52** (0.23; 0.77)	0.06 (0.05; 0.09)	40** (35; 45)
15–25 minutes of Hyp	S	2.6**,# (1.9; 4.0)	0.15** (0.08; 0.20)	0.21** (0.11; 0.46)	0.1 (0.07; 0.18)	60**,# (50; 65)
	PF	4.6**,# (4.0; 5.6)	0.14** (0.08; 0.17)	0.13**,# (0.09; 0.18)	0.09 (0.07; 0.11)	86**,# (80; 91)
30–40 minutes of Hyp	S	3.4** (2.3; 5.3)	0.14 (0.07; 0.21)	0.11** (0.05; 0.22)	0.06 (0.04; 0.14)	63** (60; 80)
	PF	4.1** (2.9; 6.1)	0.11** (0.08; 0.31)	0.12** (0.09; 0.41)	0.09 (0.06; 0.10)	65**,# (58; 74)
50–60 minutes of Hyp	S	3.3** (2.9; 4.9)	0.12 (0.11; 0.21)	0.14** (0.10; 0.21)	0.08 (0.05; 0.13)	78** (68; 82)
	PF	3.6** (2.5; 5.0)	0.10** (0.08; 0.23)	0.10** (0.07; 0.25)	0.07 (0.06; 0.09)	70** (66; 80)
1–10 minutes of Rep	S	7.0# (4.7; 8.7)	0.09 (0.06; 0.16)	0.09# (0.06; 0.12)	0.10 (0.07; 0.11)	107# (103; 130)
	PF	7.8 (5.5; 13.0)	0.08 (0.05; 0.17)	0.09 (0.07; 0.18)	0.10 (0.07; 0.16)	105# (100; 107)
50–60 minutes of Rep	S	5.6 (3.9; 8.1)	0.08 (0.06; 0.12)	0.10 (0.06; 0.14)	0.10 (0.06; 0.12)	102.5 (99; 118)
	PF	6.2 (3.2; 8.4)	0.07 (0.05; 0.16)	0.12 (0.06; 0.17)	0.10 (0.06; 0.12)	90**,# (85.5; 100)

Note: S — 0.9% NaCl solution; PF — perftoran; Hyp — hypovolemia; Rep — reperfusion period; PU — perfusion unit; IP — the index of perfusion; Ae — flux motions amplitude in the range of 0.01–0.04 Hz; An — flux motions amplitude in the range of 0.04–0.15 Hz; Am — flux motions amplitude in the range of 0.15–0.4 Hz; BP — blood pressure, mm Hg. * — $P \leq 0.05$ between groups at the same stage of the experiment; ** — $P \leq 0.05$ vs. Baseline; # — $P \leq 0.05$ vs. the previous stage of the experiment.

Примечание: Stage of experiment — этап эксперимента; Groups — группы; S — 0.9% NaCl раствор (физ. раствор); PF — перфторан; Нур — период гиповолемии; Rep — реперфузионный период; PU — перфузионные единицы; IP — индекс перфузии (показатель микроциркуляции); Ae — амплитуда флуксуций в диапазоне 0,01–0,04 Гц; An — амплитуда флуксуций в диапазоне 0,04–0,15 Гц; Am — амплитуда флуксуций в диапазоне 0,15–0,4 Гц; BP, mm Hg — артериальное давление, мм рт.ст. * — $P \leq 0,05$ между группами в тот же период наблюдения; ** — $P \leq 0,05$ по сравнению с исходным значением этого показателя в той же группе; # — $P \leq 0,05$ по сравнению с предыдущим этапом исследования в той же группе.

вело к увеличению АД и ПМ в обеих группах. При этом в группе с использованием ПФ подъем АД и ПМ был выражен в большей степени, чем в контроле (табл.). На этом же этапе наблюдения в обеих группах по сравнению с исходом отмечали увеличение Ae, а An продолжала оставаться на повышенном уровне. Наряду с этими изменениями в группе с введением ПФ, в отличие от контрольной группы, произошло снижение An по сравнению с периодом гиповолемии до введения препаратов. Это изменение, возможно, было связано с более высоким подъемом АД в ответ на введение ПФ, чем ФР (табл.). Такое предположение базируется как на результатах настоящего исследования, так и более ранних наших работах [9, 17, 18] об увеличении An при снижении АД.

К 30–40 минутам гиповолемии у животных с введением ПФ произошло снижение АД до

«active» frequency band have been considered as a compensatory response of microvessels, aimed at maintaining both tissue perfusion and transcapillary exchange [19–21]. PF is known to have a positive effect on microcirculatory alterations [22, 23]. Therefore, we can assume that one of the mechanisms of PF positive influence on the microcirculation is associated with stimulating effect of the drug on the functional activity of the endothelium.

At the 10th minute of reperfusion IP returns to the baseline values in both groups. At the same time parameters specific for Ae and An also did not differ from the baseline values. Differences between the groups were only in the dynamics of BP. At the 60th minute of reperfusion in PF group BP decreased compared to the previous stage of the experiment (10 minutes of reperfusion) and the baseline. In the control group, BP remained constant. Despite BP

уровня контрольной группы. В обеих группах близкие по величине показатели АД сохранялись до начала реперфузии (табл.). На 30–40 и 50–60 минутах гиповолемии общие для групп изменения исследуемых показателей заключались в сохранении Ан на более высоком уровне по сравнению с исходом. Однако на этих же этапах наблюдения у крыс с введением ПФ, в отличие от животных контрольной группы, величины Аэ продолжали превышать исходные значения этого показателя (табл.), что свидетельствовало о стимулирующем влиянии ПФ на эндотелий-зависимые механизмы регуляции кровотока на микроциркуляторном уровне в коже уха во время гиповолемии. Увеличение амплитуды колебаний кровотока в частотном диапазоне активных составляющих флуксуций рассматривают как компенсаторно-приспособительную реакцию микрососудов, направленную на поддержание как перфузии ткани, так и обмена веществ между кровью и тканью [19–21]. Из литературы известно о положительном влиянии ПФ на микроциркуляцию в условиях ее нарушения [22, 23]. Следовательно, можно полагать, что один из механизмов положительного влияния ПФ на микроциркуляцию связан со стимулирующим действием этого препарата на функциональную активность эндотелия.

В период реперфузии, после введения крови, в обеих группах произошло увеличение ПМ до исходных величин. При этом Аэ и Ан также не отличались от исходных значений этих показателей. Различия между группами заключались лишь в динамике АД. К 60-й минуте периода реперфузии в группе с введением ПФ произошло снижение АД по сравнению с предыдущим этапом исследования (через 10 минут после реинфузии крови) и исходным состоянием. В контрольной группе АД оставалось на постоянном уровне (табл.). Следует отметить, что различие в уровне АД на 60-й минуте реперфузии не оказало влияния на исследуемые показатели микроциркуляции. Результаты работы показали также, что на всех этапах исследования величины Ам не менялись, оставаясь на постоянном уровне (табл.).

Наблюдаемая в настоящей работе динамика АД в группе животных с введением ПФ согласуется с данными, полученными в другой работе [24], посвященной исследованию влияния разных доз ПФ на динамику АД, биоактивность NO и его производных (S-нитрозотиолов) в условиях эксперимента на анестезированных крысах. Показано, что внутривенное введение ПФ в дозе 1 г/кг (около 5 мл/кг) сопровождалось двухфазным изменением АД: его первоначальный подъем в последующем сменялся снижением этого показателя ниже исходных значений. В то время как введение ПФ в дозе 0,14 г/кг (око-

differences at the 60th minute of reperfusion, there were no differences in all investigated microcirculatory parameters between compared groups (Table). The current study has showed that at all stages of the experiment Am values had not changed, remaining at a constant level (Table).

BP dynamics observed in the present study in a group of animals with PF administration is consistent with data obtained in another study [24] devoted to investigation of PF effects in different doses on BP dynamics, the bioactivity of NO and its derivatives (S-nitrosothiols) in experimental settings on anesthetized rats. It was shown that intravenous PF administration in a dose of 1 g/kg (about 5 ml/kg) was accompanied by a two-phase change in BP: its initial increase then was followed by decreasing this index to means lower than the baseline value. At the same time, PF administration at a dose of 0.14 g / kg (0.9 ml/kg) resulted in a moderate BP decrease from the first minutes with no initial increase. A transient increase in BP was explained by NO sorption on drug's micelles, leading to vasoconstriction. When PF was used in relatively small doses or after decreasing its blood levels, NO oxidation in the micelles of the drug was enhanced associated with S-nitrosothiols production at high concentrations. S-nitrosothiols are known to induce vasodilation that explains the development of hypotension.

However, in the current study we investigated the effect of PF on the microcirculation during hypovolemia, i.e. when skin vessels were vasoconstricted. Also, an injection of PF led not only to a rise in BP, but it doubled the blood flow values (IP) that hardly could be explained by an increased vasoconstriction. BP increase in the study [24] was explained by vasoconstriction. Our data is likely indicate the participation of other mechanisms of PF effect on BP during hypovolemia. On the other hand, BP decrease during the reperfusion without blood flow reduction is consistent with the authors' conceptions on the mechanisms of delayed BP lowering after PF administration in relatively high doses.

Conclusion

PF administration (3 ml/kg of body weight) in rats during hemorrhagic hypovolemia (30% of the TBV), in the first 15 minutes leads to a more pronounced increase in BP and IP compared to the animals with S administration at the same dose. Both S and PF administration leads to an increase of Ae compared to baseline values of this parameter. However, if in S group an increase of Ae was limited to fifteen minutes after the injection, PF administration led to increased values of Ae maintained throughout the period of hypovolemia. These results demonstrate that PF stimulates endothelium-dependent mechanisms of fluxmotions in the skin of rat ear

ло 0,9 мл/кг) с первых минут приводило к умеренному снижению АД без фазы его повышения. Преходящее повышение АД авторы объясняют сорбцией молекул NO мицеллами препарата, что приводит к вазоконстрикции. При введении ПФ в относительно малых дозах или снижении его концентрации в крови, усиливаются процессы окисления NO в мицеллах препарата с образованием повышенных концентраций S-нитрозотиолов, обладающих вазодилатирующим действием, чем и объясняется развитее артериальной гипотензии.

Вместе с тем, в настоящей работе исследовалось влияние ПФ на микроциркуляцию в период гиповолемии, т.е. в условиях вазоконстрикции кожных сосудов. При этом введение ПФ вело не только к подъему АД, но и двукратному увеличению кровотока (ПМ), что вряд ли можно объяснить усилением вазоконстрикции. Но именно этим объясняется увеличение АД в работе [24]. Учитывая полученные нами данные, по-видимому, существуют и другие механизмы влияния ПФ на АД в условиях гиповолемии. С другой стороны, снижение АД в период реперфузии, не сопровождающееся уменьшением кровотока, согласуется с представлениями авторов о механизмах отсроченного снижения АД при введении ПФ в относительно больших дозах.

Литература

1. Кожура В.Л., Новодержкина И.С., Кирсанова А.К. Острая массивная кровопотеря: механизмы компенсации. *Анестезиология и реаниматология*. 2002; 6: 9–13. PMID: 12611148
2. Мороз В.В., Бобринская И.Г., Васильев В.Ю., Спиридонова Е.А., Тишков Е.А., Сурахин В.С. Шок. Учебно-методическое пособие для студентов, ординаторов, аспирантов и врачей. М.; 2011.
3. Dutton R.P. Current concepts in hemorrhagic shock. *Anesthesiol. Clin.* 2007; 25 (1): 23–34. <http://dx.doi.org/10.1016/j.atc.2006.11.007>. PMID: 17400153
4. 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
5. Зильбер А.П. Кровопотеря и гемотрансфузия. Принципы и методы бескровной хирургии. Петрозаводск: изд-во Петрозаводского Государственного Университета; 1999: 114.
6. Мороз В.В., Крылов Н.Л., Иванецкий Г.Р., Кайдаш А.Н., Онищенко Н.А., Симанов В.А., Воробьев С.И. Применение перфторана в клинической медицине. *Анестезиология и реаниматология*. 1995; 6: 12–17. PMID: 8713413
7. 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>
8. Косовских А.А., Чурылев 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>
9. Рыжков И.А., Новодержкина И.С., Заржецкий Ю.В. Амплитудно-частотный спектр колебаний кожного кровотока при острой кровопотере (экспериментальное исследование). *Общая реаниматология*. 2014; 10 (5): 6–17. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2014-5-6-17>
10. Крупаткин А.И. Колебания кровотока — новый диагностический язык в исследовании микроциркуляции. *Регионарное кровообращение и микроциркуляция*. 2014; 1 (49): 83–99.
11. Крупаткин А.И., Сидоров В.В. Лазерная доплеровская флоуметрия микроциркуляции крови. Руководство для врачей. М.: Медицина; 2005: 256.
12. Козлов В.И., Азизов Г.А., Гурова О.А., Литвин Ф.Б. Лазерная доплеровская флоуметрия в оценке состояния и расстройств микроциркуляции крови. Методическое пособие для врачей. М.; 2012: 32.

during hypovolemia. After blood reinfusion all investigated microcirculatory parameters did not differ from baseline values in both groups.

Закключение

Введение ПФ в дозе 3 мл/кг массы тела крысам во время гиповолемии, вызванной кровопотерей в размере 30% ОЦК, в первые 15 минут после его применения приводит к более выраженному увеличению АД и ПМ, чем у животных с использованием ФР в той же дозе. После введения как ФР, так и ПФ наблюдается повышение Аэ по сравнению с исходными значениями этого показателя. Однако, если при использовании ФР подъем Аэ ограничивался лишь 15-ю минутами после введения препарата, то после введения ПФ повышенная Аэ сохранялась на протяжении всего периода гиповолемии. Это свидетельствует о стимулирующем влиянии ПФ на эндотелий-зависимые механизмы флаксмоций микрососудов в коже уха крыс в условиях гиповолемии. После реинфузии крови исследуемые показатели микроциркуляции в группах с введением ПФ или ФР не отличались от исходных.

References

1. Kozhura V.L., Novoderzhkina I.S., Kirsanova A.K. Ostraya massivnaya krovopoteria: mekhanizmy kompensatai. [Acute and massive hemorrhage: mechanisms of compensation and damage]. *Anesteziologya i Reanimatologiya*. 2002; 6: 9–13. PMID: 12611148. [In Russ.]
2. Moroz V.V., Bobrinskaya I.G., Vasilyev V.Yu., Spiridonova E.A., Tishkov E.A., Surakhin V.S. Shok. Uchebno-metodicheskoe posobie dlya studentov, ordinatov, aspirantov i vrachei. [Shock. Study guide for students, residents, graduate students and physicians]. Moscow; 2011. [In Russ.]
3. Dutton R.P. Current concepts in hemorrhagic shock. *Anesthesiol. Clin.* 2007; 25 (1): 23–34. <http://dx.doi.org/10.1016/j.atc.2006.11.007>. PMID: 17400153
4. Moroz V.V., Ostapchenko D.A., Meshcheryakov G.N., Radaev S.M. Ostraya krovopoteria. Vzglyad na problemu. [Acute hemorrhage. View on the problem]. *Anesteziologya i Reanimatologiya*. 2002; 6: 4–9. PMID: 12611147. [In Russ.]
5. Zilber A.P. Krovopoteria i gemotransfuziya. Printsipy i metody besкровnoy khirurgii. [Blood loss and transfusion. The principles and methods of bloodless surgery]. Petrozavodsk: izd-vo Petrozavodskogo Gosudarstvennogo Universiteta; 1999: 114. [In Russ.]
6. Moroz V.V., Krylov N.L., Ivanitsky G.R., Kaidash A.N., Onishchenko N.A., Simanov V.A., Vorobyev S.I. Primenenie perforana v klinicheskoy meditsine. [The use of perfloran in clinical medicine]. *Anesteziologya i Reanimatologiya*. 1995; 6: 12–17. PMID: 8713413. [In Russ.]
7. Moroz V.V., Novoderzhkina I.S., Antoshina E.M., Afanasyev A.V. Vliyaniye perforana na morfologiyu eritrotsita pri ostroi krovopotere. *Obshchaya Reanimatologiya*. [Effect of perfluorane on the morphology of a red blood cell in acute blood loss. *General Reanimatology*]. 2013; 9 (5): 5–10. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-5-5>. [In Russ.]
8. 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.]
9. Ryzhkov I.A., Novoderzhkina I.S., Zarzhetsky Yu.V. Amplitudno-chastotnyy spektr kolebaniy kozhnogo krovotoka pri ostroi krovopotere (eksperimentalnoye issledovanie). *Obshchaya Reanimatologiya*. [The amplitude and frequency spectrum of skin blood flow fluctuations in acute blood loss (an experimental study). *General Reanimatology*]. 2014; 10 (5): 6–17. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2014-5-6-17>. [In Russ.]

13. Li Z., Tam E.W., Kwan M.P., Mak A.F., Lo S.C., Leung M.C. Effects of prolonged surface pressure on the skin blood flowmotions in anaesthetized rats - an assessment by spectral analysis of laser Doppler flowmetry signals. *Phys. Med. Biol.* 2006; 51 (10): 2681–2694. <http://dx.doi.org/10.1088/0031-9155/51/10/020>. PMID: 16675876
14. Fülöp A., Turóczy Z., Garbaisz D., Harsányi L., Szijártó A. Experimental models of hemorrhagic shock: a review. *Eur. Surg. Res.* 2013; 50 (2): 57–70. <http://dx.doi.org/10.1159/000348808>. PMID: 23615606
15. Wan Z., Sun S., Ristagno G., Weil V.H., Tang W. The cerebral microcirculation is protected during experimental hemorrhagic shock. *Crit. Care. Med.* 2010; 38 (3): 928–932. <http://dx.doi.org/10.1097/CCM.0b013e3181cd100c>. PMID: 20068466
16. Каркищенко Н.Н., Грачев С.В. Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях. М.: Профиль – 2С; 2010: 358.
17. Рыжков И.А., Кирсанова А.К., Заржецкий Ю.В. Амплитудно-частотный спектр колебаний мозгового кровотока при геморрагическом шоке. *Общая реаниматология.* 2014; 10 (2): 5–17. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2014-2-6-17>
18. Рыжков И.А., Заржецкий Ю.В., Новодержкина И.С. Влияние перфорана на амплитудно-частотный спектр колебаний мозгового кровотока при геморрагической гипотензии и в реперфузионном периоде. *Общая реаниматология.* 2015; 11 (4): 14–22. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2015-4-14-22>
19. Goldman D., Popel A.S. A computational study of the effect of vasomotion on oxygen transport from capillary networks. *J. Theor. Biol.* 2001; 209 (2): 189–199. <http://dx.doi.org/10.1006/jtbi.2000.2254>. PMID: 11401461
20. Sakurai T., Terui N. Effects of sympathetically induced vasomotion on tissue-capillary fluid exchange. *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.* 2006; 291 (4): H1761–H1767. <http://dx.doi.org/10.1152/ajp-heart.00280.2006>. PMID: 16731646
21. Thorn C.T., Kyte H., Slaff D.W., Shore A.C. An association between vasomotion and oxygen extraction. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2011; 301 (2): H442–H449. <http://dx.doi.org/10.1152/ajp-heart.01316.2010>. PMID: 21602466
22. Лазаренко Д.Ю., Ханевич М.Д., Софронов Г.А., Андреева Н.Б., Поддубский Г.А. Влияние перфорана на микроциркуляцию и реологические свойства крови у больных с гастродуоденальными кровотечениями. В кн.: Перфораторганические соединения в медицине и биологии. Пушчино; 2002: 30–35.
23. Александрин В.В., Кожура В.Л., Новодержкина И.С., Мороз В.В. Ранние постгемические нарушения мозгового кровотока и их коррекция перфораном. *Общая реаниматология.* 2006; 2 (3): 12–17. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2006-3-12-17>
24. Rafikova O., Sokolova E., Rafikov R., Nudler E. Control of plasma nitric oxide bioactivity by perfluorocarbons: physiological mechanisms and clinical implications. *Circulation.* 2004; 110 (23): 3573–80. PubMed PMID: 15557364.
10. Krupatkin A.I. Kolebaniya krovotoka – novyi diagnostichesky yazyk v issledovanii mikrotsirkulyatsii. [Blood flow oscillations – new diagnostic language in microvascular research]. *Regionarnoe Krovoobrashchenie i Mikrotsirkulyatsiya.* 2014; 1 (49): 83–99. [In Russ.]
11. Krupatkin A.I., Sidorov V.V. Lazernaya dopplerovskaya floumetriya mikrotsirkulyatsii krovi. Rukovodstvo dlya vrachei. [Laser Doppler flowmetry of blood microcirculation. A manual for physicians]. Moscow: Meditsina Publishers; 2005: 256. [In Russ.]
12. Kozlov V.I., Azizov G.A., Gurova O.A., Litvin F.B. Lazernaya dopplerovskaya floumetriya v otsenke sostoyaniya i rasstroistv mikrotsirkulyatsii krovi. Metodicheskoe posobie dlya vrachei. [Laser Doppler flowmetry in the evaluation of the status of blood microcirculation and its disorders. Guidance manual for physicians]. Moscow; 2012: 32. [In Russ.]
13. Li Z., Tam E.W., Kwan M.P., Mak A.F., Lo S.C., Leung M.C. Effects of prolonged surface pressure on the skin blood flowmotions in anaesthetized rats - an assessment by spectral analysis of laser Doppler flowmetry signals. *Phys. Med. Biol.* 2006; 51 (10): 2681–2694. <http://dx.doi.org/10.1088/0031-9155/51/10/020>. PMID: 16675876
14. Fülöp A., Turóczy Z., Garbaisz D., Harsányi L., Szijártó A. Experimental models of hemorrhagic shock: a review. *Eur. Surg. Res.* 2013; 50 (2): 57–70. <http://dx.doi.org/10.1159/000348808>. PMID: 23615606
15. Wan Z., Sun S., Ristagno G., Weil V.H., Tang W. The cerebral microcirculation is protected during experimental hemorrhagic shock. *Crit. Care. Med.* 2010; 38 (3): 928–932. <http://dx.doi.org/10.1097/CCM.0b013e3181cd100c>. PMID: 20068466
16. Karishchenko N.N., Grachev S.V. Rukovodstvo po laboratornym zhiivotnym i alternativnym modelyam v biomeditsinskikh issledovaniyakh. [A handbook on laboratory animals and alternative models in biomedical studies]. Moscow: Profil - 2S; 2010: 358. [In Russ.]
17. Ryzhkov I.A., Kirsanova A.K., Zarzhetsky Yu.V. Amplitudno-chastotnyi spektr kolebaniy mozgovogo krovotoka pri gemorragicheskom shohe. *Obshchaya Reanimatologiya.* [The amplitude and frequency spectrum of cerebral blood flow fluctuations in hemorrhagic shock. *General Reanimatology.*]. 2014; 10 (2): 5–17. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2014-2-6-17>. [In Russ.]
18. Ryzhkov I.A., Zarzhetsky Yu.V., Novoderzhkina I.S. Vliyanie perforana na amplitudno-chastotnyi spektr kolebaniy mozgovogo krovotoka pri gemorragicheskoi gipotenzii i v reperfuzyonnom periode. *Obshchaya Reanimatologiya.* [Effect of perfluorane on the amplitude-frequency spectrum of fluctuations in cerebral blood flow in hemorrhagic hypotension and during the reperfusion period. *General Reanimatology.*]. 2015; 11 (4): 14–22. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2015-4-14-22>. [In Russ.]
19. Goldman D., Popel A.S. A computational study of the effect of vasomotion on oxygen transport from capillary networks. *J. Theor. Biol.* 2001; 209 (2): 189–199. <http://dx.doi.org/10.1006/jtbi.2000.2254>. PMID: 11401461
20. Sakurai T., Terui N. Effects of sympathetically induced vasomotion on tissue-capillary fluid exchange. *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.* 2006; 291 (4): H1761–H1767. <http://dx.doi.org/10.1152/ajp-heart.00280.2006>. PMID: 16731646
21. Thorn C.T., Kyte H., Slaff D.W., Shore A.C. An association between vasomotion and oxygen extraction. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2011; 301 (2): H442–H449. <http://dx.doi.org/10.1152/ajp-heart.01316.2010>. PMID: 21602466
22. Lazarenko D.Yu., Khanovich M.D., Sofronov G.A., Andreyeva N.B., Poddubsky G.A. Vliyanie perforana na mikrotsirkulyatsiyu i reologicheskie svoystva krovi u bolnykh s gastroduodenalnymi krvotekcheniyami. V kn.: Perforatorganiicheskie soedineniya v meditsine i biologii. [Effect of perfluorane on microcirculation and blood rheological properties in patients with gastroduodenal hemorrhage. In: Organic perfluorinated compounds in medicine and biology]. Pushchino; 2002: 30–35. [In Russ.]
23. Aleksandrin V.V., Kozhura V.L., Novoderzhkina I.S., Moroz V.V. Rannie postishemicheskie narusheniya mozgovogo krovotoka i ikh korrektsiya perforanov. *Obshchaya Reanimatologiya.* [Early postischemic cerebral circulatory disorders and their correction with perfluorane. *General Reanimatology.*]. 2006; 2 (3): 12–17. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2006-3-12-17>. [In Russ.]
24. Rafikova O., Sokolova E., Rafikov R., Nudler E. Control of plasma nitric oxide bioactivity by perfluorocarbons: physiological mechanisms and clinical implications. *Circulation.* 2004; 110 (23): 3573–80. PubMed PMID: 15557364.

Поступила 06.07.15

Submitted 06.07.15

ПЕРИНАТАЛЬНОЕ НАРУШЕНИЕ ОБМЕНА ТРИГЛИЦИРИДОВ И ХОЛЕСТЕРИНА У НОВОРОЖДЕННЫХ

С. А. Перепелица^{1,2}, О. В. Седнев²

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

² Балтийский федеральный университет им. Иммануила Канта,
Россия, 236041, Калининград, ул. Александра Невского, д. 14.

Perinatal triglyceride and cholesterol metabolic disturbances in newborn infants

S. A. Perepelitsa^{1,2}, O. V. Sednev²

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

² Immanuel Kant Baltic Federal University
14, Aleksandr Nevsky St., Kaliningrad 236041, Russia

Цель работы. Исследование влияния течения беременности и родов на некоторые показатели липидного обмена у новорожденных.

Материал и методы. Проводили анализ анамнестических данных течения беременности у 217 беременных, на основании которых выставлялся высокий риск развития интранатальной гипоксии и рождения ребенка в тяжелом состоянии. Кроме оценки состояния ребенка при рождении, новорожденным проводили определение количества холестерина и триглицеридов в центральной венозной крови сразу после рождения и на 5-е сутки жизни.

Результаты. Низкое содержание триглицеридов и холестерина характерны для новорожденных, родившихся путем экстренного кесарева сечения, вследствие предлежания плаценты, отслойки плаценты, осложнившихся кровотечением, а также вследствие других акушерских причин. Наиболее критическими были показатели триглицеридов у глубоконедоношенных детей с гестационным возрастом 22–29 недель и экстремально низкой массой тела при рождении (ЭНМТ), у них концентрация триглицеридов в плазме крови была не более 0,01 – 0,2 ммоль/л. На продукцию триглицеридов влияют гестационный возраст, масса тела при рождении. Острая интранатальная гипоксия влияет на перинатальную концентрацию холестерина у новорожденных: чем тяжелее гипоксия, тем меньше содержание холестерина в крови.

Заключение. Для новорожденных с дыхательной недостаточностью, родившихся путем экстренного кесарева сечения вследствие отслойки плаценты или дискоординации родовой деятельности, характерны перинатальные нарушения обмена триглицеридов и холестерина различной степени тяжести. При рождении в крови детей выявляли низкое содержание исследуемых веществ. Другими факторами, влияющим на концентрацию триглицеридов крови, являются гестационный возраст и масса тела при рождении. Наиболее низкие показатели триглицеридов характерны для новорожденных с гестационным возрастом 22–29 недель и экстремально низкой массой тела.

Ключевые слова: перинатальная гипоксия; липидный обмен; триглицериды; холестерин; новорожденные

Objective. Investigate the impact of the course of pregnancy and labor on some lipid metabolic disturbances in newborn infants.

Subjects and methods. The anamnestic data of the course of pregnancy, which were used to identify a high risk for intranatal hypoxia and the birth of a critically ill baby, were analyzed in 217 pregnant women. In addition to assessment of a baby's status at birth, the newborn infants underwent measurements of cholesterol and triglycerides in their central venous blood just after birth and on day 5 of life.

Адрес для корреспонденции:

Светлана Перепелица
E-mail: sveta_perepeliza@mail.ru

Correspondence to:

Svetlana Perepelitsa
E-mail: sveta_perepeliza@mail.ru

Results. The low levels of triglycerides and cholesterol are an inherent feature in the newborns born via an emergency cesarean section due to bleeding-complicated placental presentation or abruption and other obstetric causes. The most critical plasma level of triglycerides in extremely premature infants born at 22–29 weeks' gestation and in those having extremely low birth weight was no more than 0.01–0.2 mmol/l. Gestational age and birth weight have an impact on the production of triglycerides. Acute intranatal hypoxia affects the perinatal concentration of cholesterol in the newborns; the severer is hypoxia, the lower are blood cholesterol levels.

Conclusion. Varying perinatal triglyceride and cholesterol metabolic disturbances are specific in newborn infants with respiratory failure who were born via an emergency cesarean section due to placental abruption or dis-coordinated labor activity. The low blood levels of the test substances are detectable in babies at birth. Gestational age and birth weight are another factors that influence blood triglyceride concentrations. The lowest triglyceride levels are a characteristic feature in newborn infants at 22–29 weeks' gestation and in those having extremely low birth weight.

Key words: *perinatal hypoxia; lipid metabolism; triglycerides; cholesterol; newborn infants*

DOI:10.15360/1813-9779-2015-6-28-37

Введение

Нарушения продукции холестерина (ХС) и триглицеридов (ТГ) у новорожденных является серьезной проблемой перинатологии, т. к. в раннем неонатальном периоде дисбаланс липидов у новорожденных может способствовать развитию дыхательной недостаточности. Холестерин является важным компонентом клеточных мембран и внутриклеточных органелл, играет важную роль в латеральной диффузии липидов и белков, в фазовой организации легочного сурфактанта (ЛС). Нарушение соотношения компонентов сурфактанта вызывает изменение его функций, что чрезвычайно важно для недоношенных и морфологически незрелых новорожденных [1–6].

Постнатальный обмен веществ зависит от антенатального развития ребенка. Каждому периоду антенатального развития свойственны определенные закономерности обмена липидов. В норме от матери через плаценту происходит транспорт жирных кислот к плоду. С 10 недели внутриутробного развития он может продуцировать кетоновые тела из ацетата. В печени плода окисление жиров происходит медленно, снижена продукция кетоновых тел и глицерофосфолипидов, но для синтеза холестерина есть все необходимые ферменты. Исходным материалом для синтеза жирных кислот служит активная форма уксусной кислоты, которая не только синтезируется в организме плода, но и легко проникает через плаценту. Хотя активность фермента β -гидрокси- β -метил-глутарил-КоА-редуктазы не велика, плод на 80% обеспечивает свою потребность в холестерине, а 20% его поступает трансплацентарно, т.е. перенос липидов через плаценту ограничен. Для липидного обмена плода характерна низкая активность процессов липолиза. В печени плода активно протекает липогенез. Для синтеза липидов плод использует глюкозу и ее метаболиты. Накопление холестерина происходит в период миелинизации и увеличения массы тела. К концу внутриутробно-

Introduction

Alterations of cholesterol (LDL) and triglycerides (TG) synthesis in neonates is a serious issue of perinatology because in the early neonatal period the imbalance of lipid level in newborns contributes to respiratory failure. Cholesterol is an important component of cell membranes and intracellular organelles. Cholesterol significantly contributes to the lateral diffusion of lipids and proteins in the phase of lung surfactant (LS) organization. Triglycerides are a component of a lung surfactant and alteration of its components affect its functions that might significantly impact the premature and morphologically immature infants [1–6].

Postnatal metabolism depends on antenatal development of the child. Each period of antenatal development is characterized by certain patterns of lipid metabolism. Normally, fatty acids are transported to the fetus through placenta by erythrocytes and serum of the mother. The fetus produces ketone bodies from acetate beginning from the gestational age of 10 weeks. Lipid oxidation in the liver of the fetus is slow, and the production of ketone bodies and glycerophospholipids is reduced, however, there are all necessary enzymes required for the synthesis of cholesterol. The active form of acetic acid is the base matter for the synthesis of fatty acids, and it is not only synthesized in the body of the fetus, but also easily crosses the placenta. Although the activity of the enzyme β -hydroxy- β -methyl-glutaryl-CoA reductase is not high, the fetus implements its need for cholesterol by 80%; 20% of cholesterol comes via placenta. The transport of lipids through placenta is limited. Lipid metabolism of the fetus is characterized by low activity of lipolysis. Lipogenesis is active in the liver of the fetus. Glucose and its metabolites are used for lipid synthesis of the fetus. The accumulation of cholesterol occurs during period of myelination and increasing the body weight. By the end of intrauterine development the total level of lipids in the body of the fetus can reach 8–16%. The compo-

го развития общее количество липидов в организме плода может достигать 8–16%. Состав жирных кислот и фосфолипидов плода определяется их содержанием в организме матери [1, 2, 7]. На концентрацию липидов крови плода, новорожденного влияют генетические факторы, характер питания матери, эндокринная регуляция, особенности маточно-плацентарного кровотока. Образование жировой ткани происходит за счет собственного синтеза липидов, т.к. их трансплацентарный переход от матери ограничен.

Нарушение плацентации, маточно-плацентарного кровотока влияют на липидный обмен. Наиболее частыми осложнениями беременности являются угроза прерывания, гестоз. При гестозе в плаценте выявляются неполная перестройка маточно-плацентарных артерий во время первой и второй волн инвазии синцитиотрофобласта в спиральное пространство артерий матки, дисфункция эндотелия сосудов. Нарушение функции эндотелия сосудов, инволютивно-дистрофические изменения, разрушение синцитиотрофобласта, массивные отложения фибриноида, воспалительные изменения ухудшают метаболические процессы, приводят к развитию внутриутробной гипоксии, задержке внутриутробного развития, антенатальному повреждению тканей плода и преждевременным родам [8–10]. Для гестоза характерны анатомо-функциональные изменения плаценты, ухудшающие маточно-плацентарное кровообращение, состояние плода. Задержка внутриутробного развития, дисфункция, желудочно-кишечного тракта, угнетение центральной нервной системы у новорожденных в раннем периоде адаптации сопровождаются снижением общих липидов крови [11].

Постнатальная перестройка у детей, рожденных от неблагоприятно протекавшей беременности, а также у недоношенных новорожденных, вызывает изменения показателей обмена, в том числе триглицеридов и холестерина, что представляет научный интерес к этой теме.

Цель работы — исследование влияния течения беременности и родов на некоторые показатели липидного обмена у новорожденных.

Материал и методы

Проведен анализ течения беременности, ее исхода для новорожденных у 217 женщин, от которых родилось 232 новорожденных ребенка, из них 31 двойня и 5 троен. У 33,8% пациенток произошли естественные роды, в остальных случаях — оперативное родоразрешение. Оперативные роды разделены на плановое (ПКС) и экстренное кесарево сечение (ЭКС) по Гусакову. Экстренное оперативное родоразрешение распределено в зависимости от причины родов или осложнения беременности. В зависимости от характера родоразрешения новорожденные распределены по группам (рис. 1).

sition of fatty acids and phospholipids in the body of the fetus is determined by their content in the mother's body [1, 2, 7]. Blood level of lipids in the fetus and in the newborn is affected by genetic factors, the kind of maternal nutrition, endocrine regulation, and the features of transplacental blood flow. The formation of adipose tissue occurs due to the own synthesis of lipids since the transplacental crossing of the latter from mother's body is limited.

Alterations of placentation, transplacental blood flow affect lipid metabolism. The most frequent complications of pregnancy are threatened abortion and preeclampsia. In case of preeclampsia a partial restructuring of the uteroplacental arteries is revealed in placenta during the first and the second waves of invasion of trophoblast into spiral arteries of the uterus, as well as the dysfunction of vascular endothelium. Endothelium dysfunction, involutive-degenerative changes, destruction of syncytio-trophoblast, massive fibrin-like deposits, inflammatory changes and decrease of metabolic processes cause fetal hypoxia, retardation of intrauterine growth, prenatal damage to the fetal tissues and preterm birth [8–10]. Preeclampsia is characterized by anatomical and functional changes of placenta, which impairs transplacental blood flow and the fetus itself. Intrauterine growth retardation, dysfunction of gastrointestinal tract, depression of central nervous system in newborns in the early period of adaptation are associated with a decreasing of total lipids in blood [11].

Postnatal alterations in newborns from women with complicated pregnancies and in preterm infants cause changes of metabolism including triglyceride and cholesterol levels that represents scientific topic of our study.

The aim of the study: to evaluate the effects of course of pregnancy and delivery on parameters of lipid metabolism in the newborns and to compare the changes of triglyceride and cholesterol levels in neonates of different groups.

Materials and Methods

The analysis of the pregnancy course and its outcome for newborns was performed. The study included 217 women. 232 newborns were delivered including 31 twins and 5 triplets. Vaginal delivery occurred in 33,8% of patients. In all other cases surgical cesarean cessation was performed, which was divided into planned (PCC) and emergency (ECC) cesarean cessation. The cases of emergency surgical delivery were divided into groups depending on the causes of the delivery and complications of pregnancy. Depending on the way of delivery the newborns were divided into following groups (Fig. 1):

Group 1: neonates delivered vaginally.

Group 2: neonates delivered via Gusakov's cesarean cessation.

Group 3: neonates delivered via Gusakov's cesarean cessation due to placenta previa, abruption of placenta or low placentation complicated by bleeding.

Группа 1 — дети, родившиеся через естественные родовые пути.

Группа 2 — новорожденные, родившиеся путем ПКС по Гусакову.

Группа 3 — новорожденные, родившиеся путем с ЭКС по Гусакову, вследствие предлежания плаценты, отслойки нормально или низко расположенной плаценты, осложнившиеся кровотечением.

Группа 4 — новорожденные от матерей с преэклампсией тяжелой степени или эклампсией. Роды путем ЭКС по Гусакову.

Группа 5 — новорожденные, родившиеся путем ЭКС по Гусакову, вследствие первичной слабости, дискоординации родовой деятельности, других акушерских причин.

Критерий включения в исследование: неблагоприятное течение беременности, прогнозируемое тяжелое состояние ребенка при рождении.

Критерий исключения: врожденные пороки развития у новорожденного.

Факторы перинатального риска для новорожденного: преждевременные, стремительные или быстрые роды, аномалии родовой деятельности, экстренное кесарево сечение; аномалии плацентации и ее осложнения; преэклампсия и эклампсия; изменение объема околоплодных вод (олигогидрамнион, полигидрамнион), мекониальные или окрашенные кровью околоплодные воды; многоплодная беременность [4].

В работе применялись следующие методы исследования:

1. Анализ анамнестических данных течения беременности, на основании которых выставлялся высокий риск развития интранатальной гипоксии и рождения ребенка в тяжелом состоянии;

2. Клиническая оценка состояния ребенка при рождении, включающая оценку по шкале Апгар (ОА) на 1-й минуте после рождения;

3. Через 15–20 минут после оказания реанимационной помощи новорожденные переводились в отделение реанимации и интенсивной терапии. Для проведения инфузионной терапии и лабораторных исследований, в асептических условиях выполнялась катетеризация v. Umbilicalis термопластичным катетером. Для полного биохимического исследования, включающего определение концентрации холестерина и триглицеридов, забор крови осуществлялся в объеме 2 мл;

4. Определение концентрации триглицеридов в центральной венозной крови новорожденных в первые часы постнатальной жизни и на 5-е сутки жизни проводили на аппарате SAPHIR 400, версия 1.8 (Tokyo Boeki LTD, Japan). Использовался ферментативный фотометрический тест с глицерол-3-фосфатоксидазой, набор реагентов Triglycerides DiaS;

5. Определение концентрации холестерина в центральной венозной крови новорожденных в первые часы постнатальной жизни и на 5-е сутки жизни проводили на аппарате SAPHIR 400, версия 1.8 (Tokyo Boeki LTD, Japan). Использовался ферментативный фотометрический тест «CHODPAP», набор реагентов Cholesterol DiaS;

6. Статистическая обработка данных проведена с помощью программы Statistica 6 (USA). Отличия

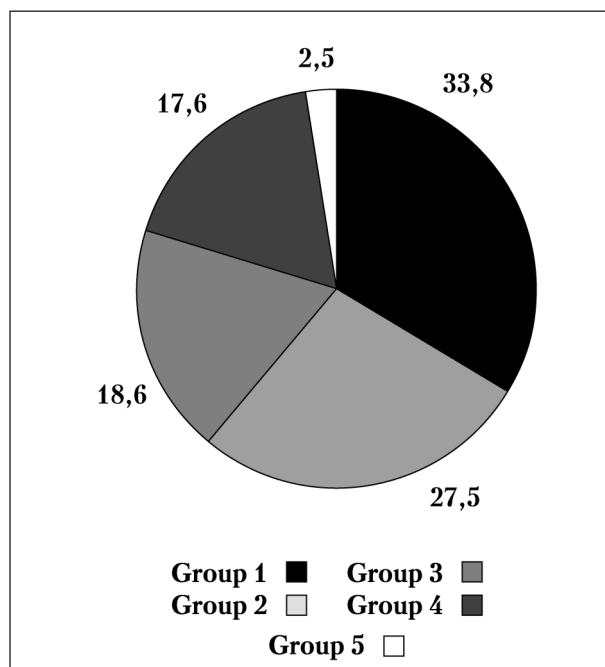


Рис. 1. Распределение новорожденных по группам исследования (%).

Fig. 1. Distribution of the newborns into the groups of the study (%).

Примечание: для рис. 1–3: Group — группа

Group 4: neonates delivered from women with severe preeclampsia or eclampsia. Deliveries were performed via Gusakov's cesarean cessation.

Group 5: neonates delivered via Gusakov's cesarean cessation due to other obstetrical indications.

The criteria for the inclusion into the study: complicated pregnancy and expected severe neonate's condition at birth.

Exclusion criteria: congenital malformations in newborns.

The following research methods were used:

1. Analysis of anamnestic data of pregnancy, based on which a high risk of intrapartum hypoxia and delivery of a neonate in a severe condition was predicted.

2. Clinical evaluation of the child at birth.

3. Measurement of lactate level in central venous blood immediately after the birth.

4. Measurement of cholesterol and triglyceride levels in central venous blood immediately after birth and on the day 5 of life.

5. Statistical data processing was performed using the program Statistica 6.0 (StatSoft, Inc. USA). Statistical processing of the data was performed using the methods of descriptive and variation statistics and non-parametric methods of estimation. The differences between groups were considered significant at $P < 0.01$.

All pregnant women included in the study were provided by qualified medical care according to the national guidelines of medical care in obstetrics and gynecology. All newborns were also provided by professional medical care according to the national guidelines in neonatology.

Original Investigations

Клиническая характеристика новорожденных ($M \pm m$).
Anthropometric data of the newborns ($M \pm m$).

Group	Values of indicators				
	Gestational age, weeks	Body weight, grams	Apgar scale scores №1	The duration of ALV, hours	Dose of surfactant, mg/kg
1 st ($n=76$)	33.3 $\pm$ 3.9	2214.6 $\pm$ 840	4.6 $\pm$ 1.6	106.2 $\pm$ 77	160.1 $\pm$ 30
2 nd ($n=7$)	36.3 $\pm$ 1.9	2242.8 $\pm$ 712.9	6.1 $\pm$ 2.3	95.5 $\pm$ 32.3*	—
3 rd ($n=44$)	31.9 $\pm$ 2.5*	1933.2 $\pm$ 585*	4.7 $\pm$ 1.4	154.2 $\pm$ 100*	161.3 $\pm$ 32.7
4 th ($n=41$)	32.6 $\pm$ 2.9*	1780.9 $\pm$ 627.8*	5 $\pm$ 1.7	114.5 $\pm$ 85.7	151 $\pm$ 43.2
5 th ($n=64$)	33.4 $\pm$ 3.4	2205.4 $\pm$ 739.2	4.6 $\pm$ 1.9	109.4 $\pm$ 86.5	154.7 $\pm$ 36.9

Note: ALV — artificial lung ventilation. * — $P < 0.01$ — the significance of differences in comparison to the 2nd group.

Примечание: Group — группа; Values of indicators — значение показателей; Gestational age, weeks — срок гестации, недель; Body weight, grams — масса тела, грамм; Apgar scale scores №1 (Me, LQ—UQ), — шкала Апгар №1, баллы (Me, LQ—UQ); The duration of ALV, hours — длительность искусственной вентиляции легких, час; Dose of surfactant, mg/kg — доза сурфактанта, мг/кг. * — $P < 0,05$ — достоверность различий по сравнению со 2-й группой.

считали достоверными при уровне статистической значимости $p < 0,01$.

Всем беременным, включенным в исследование, была оказана квалифицированная помощь в полном соответствии с порядком оказания медицинской помощи по профилю «акушерство и гинекология». Всем новорожденным также была оказана квалифицированная помощь в соответствии с порядком оказания медицинской помощи по профилю «неонатология».

Результаты и обсуждение

Средний возраст матерей составил 29,4 $\pm$ 6 лет. Паритет беременности и родов: медиана беременности — 2 [1;4], среднее количество родов — 1,7 $\pm$ 0,9. Во всех случаях имело место неблагоприятное течение беременности. В 85,3% случаев беременность закончилось преждевременными родами и 14,7% — срочными родами. Антропометрические и некоторые клинические данные новорожденных представлены в таблице. Из таблицы видно, в 4-х группах новорожденные были недоношенными, близко к доношенному сроку были новорожденные 2-й группы, матери которых родоразрешены путем планового кесарева сечения. Для детей, рожденных от матерей с отслойкой плаценты (группа 3), характерны статистически значимые ($p < 0,01$) меньший гестационный возраст и наибольшая длительность проведения искусственной вентиляции легких (ИВЛ). У новорожденных 4-й группы выявлена наименьшая масса тела при рождении ($p < 0,01$). Отличия при оценке новорожденных по шкале Апгар на первой минуте жизни статистически не значимые ($p > 0,01$). При рождении у 92% новорожденных были признаки острой интранатальной гипоксии, в связи с чем, в родильном зале им проводились первичные реанимационные мероприятия: интубация трахеи, перевод на ИВЛ. Учитывая высокий риск развития респираторного дистресс-синдрома (РДСН), в родильном зале 42% недоношенным новорожденным проведена заместительная терапия курсурфом или альвеофактом. Средняя доза курсурфа достоверно не отличалась

Results and Discussion

The mean age of the mothers was 29.4 $\pm$ 6 years. The parity of delivery and pregnancy: the median pregnancy was 2 [1;4], the mean number of births was 1.7 $\pm$ 0.9. All cases of pregnancy were complicated.

85.3 and 14.7% of pregnancies ended in premature birth and in-term birth, respectively. Anthropometric data of the newborns is presented in Table 1. The table shows, that the newborns of the 4th group were premature. The newborns of the group 2 were close to full-term. They were delivered by planned cesarean cessation. The neonates born from mothers with placental abruption, preeclampsia and eclampsia were characterized by significantly lower gestational age and weight at birth ($P < 0.01$) (groups 3 and 4). No significant differences in the first minute of life Apgar scale score were observed ($P > 0.01$). Newborns at a high risk of respiratory distress syndrome (RDSN) were treated by surfactants Curosurf or Aveofact 3–5 minutes after birth. The average dose of Curosurf did not differ significantly between groups ($P > 0.01$). The mean dose of Alveofact was 50 mg/kg.

76 newborns (8 multiple pregnancies) were delivered as a result of vaginal delivery. Premature or early rupture of membranes, fast and swift delivery, delivery with uterine scar were observed in 57%, 7.1% and 2.9% of pregnant women, respectively. Cases of delivery in women with bicornuate or saddle uterus and in women with alcohol intoxication were also observed. The deliveries were complicated by retention of placenta parts; defects of the placenta were diagnosed in 15.7% of patients. In 85.5% and 14.5% of women clear amniotic fluid and meconium amniotic fluid, respectively, was observed. The distribution of newborns into groups by gestational age and body weight was as follows: full-term infants — 23.7%, prematurity — 76.3%. Twenty-six percent of newborns had a very low weight at birth (VLBW). Ninety-two percent of newborns had signs of acute intrapartum hypoxia at birth; they received full com-

между группами ($p>0,01$). Доза альвеофакта составляла 50 мг/кг.

В результате естественных родов (группа 1) родилось 76 новорожденных (8 многоплодных беременностей). Преждевременное или раннее излитие околоплодных вод отмечено у 57% рожениц, быстрые и стремительные роды произошли в 7,1% случаев, роды с рубцом на матке — у 2,9%, а также имели место роды с двурогой или седловидной маткой, алкогольное опьянение матери. Роды осложнились задержкой частей последа, дефектом последа у 15,7% пациенток. Светлые околоплодные воды были у 85,5% новорожденных, в 14,5% случаев отмечались мекониальные воды. Распределение новорожденных по сроку гестации и массе тела: доношенных новорожденных — 23,7%, недоношенных — 76,3% детей, из них 26% детей с очень низкой массой тела (ОНМТ).

Плановое КС (группа 2) выполнено 5 пациенткам. Показания для оперативного родоразрешения: рубец на матке, задержка внутриутробного развития плода с нарушением маточно-плацентарного кровотока и многоплодие (тройня, экстракорпоральное оплодотворение). Родилось 7 новорожденных, из них трое родилось с тяжелой дыхательной недостаточностью (ДН), что явилось показанием для проведения ИВЛ. Ее продолжительность достоверно меньше ($P<0,01$), по сравнению с новорожденными других групп.

Отслойка плаценты (группа 3) в структуре осложненных родов занимает третье место. Более половины пациенток находились на стационарном лечении, в связи с предлежанием плаценты и другими аномалиями плацентации, у 46,2% матерей произошла отслойка нормально расположенной плаценты. Показанием для досрочного экстренного родоразрешения явилось кровотечение. Околоплодные воды, окрашенные кровью были у 59% новорожденных. В результате родилось 44 недоношенных ребенка, из них 4 двойни и 1 тройня. Каждый четвертый ребенок родился с ОНМТ. С тяжелыми дыхательными расстройствами, глубокими нарушениями кислородного статуса и метаболизма родилось 90,9% детей, в связи с чем, им проводилась ИВЛ, из них 22,5% новорожденным — высокочастотная осцилляторная (ВЧО) ИВЛ.

Преэклампсия и эклампсия (группа 4) остаются одной из актуальных проблем акушерства и гинекологии. Удельный вес данной нозологии в нашем исследовании составляет 17,6%. Все пациентки получали стационарное лечение, направленное на нормализацию артериального давления, биохимических показателей и гомеостаза матери, улучшение маточно-плацентарного кровотока, внутриутробной гемодинамики плода. Длительность лечения зависела от тяжести состояния пациентки, ответа на лечение и гемодинамического профиля плода. Относительная стабили-

plex of initial resuscitation including intubation and mechanical lung ventilation (MLV) in the delivery room. Taking into account the high risk of ARDS development, 42% of preterm infants received surfactant replacement therapy in the delivery room.

Planned cesarean cessation was performed in 5 patients. The indications for surgical delivery included the scar on the uterus, the retention of intrauterine development with impaired transplacental blood flow, multiple pregnancy (triplets, in vitro fertilization). Seven infants were born. Three of them were born with severe respiratory insufficiency as an indication for MLV. Its duration was significantly shorter ($P<0.01$) compared to the newborns of other groups.

Placental abruption was the third place within the structure of complications. More than a half of the patients were taken into hospital due to placenta previa and other abnormalities of placentation. Placenta abruption was observed in 46.2% of women with normal placentation. Bleeding was the indication for early emergency delivery. Amniotic fluid contaminated with blood was observed in 59% of newborns. As a result, 44 pre-term deliveries including 4 twins and 1 triplet occurred. A quarter of newborn were born with VLBW. Severe respiratory disorders, impaired oxygen status and altered metabolism were observed in 90.9% of neonates, which were under MVL. In 22.5% of cases high-frequency oscillator MVL was performed. Taken into account the high risk of RDSN, 54.5% of preterm infants were treated by replacement surfactants.

Preeclampsia and eclampsia remain among the most important challenges in obstetrics and gynecology. These diagnoses comprised 17.6% of all cases in this study. All patients received inpatient treatment in order to normalize blood pressure, biochemical parameters, and homeostasis of the mother, improve transplacental blood flow and intrauterine fetal hemodynamics. The duration of the treatment depended on the severity of patient's condition, response to treatment and hemodynamic profile of the fetus. Relative stability of the indicators allowed to prolong the pregnancy, however, all the newborns were delivered prematurely via emergency cesarean cessation. As a result, 41 premature infants, including 4 twins and 2 triplets, were born. In 39% of these newborns VLBW was diagnosed. In all cases the amniotic fluid was clear. Surfactant replacement therapy was conducted in 53.7% of the newborns. MLV was required in 70.7% of newborns. The main mode of lung ventilation was the controlled one. In 6.9% the newborns condition required high-frequency lung ventilation (HFLV) that was performed as needed.

Emergency cesarean cessation. The indications for emergency surgical delivery included abnormalities in the position of the fetus, the primary weak-

Original Investigations

зация показателей позволяла пролонгировать беременность, однако, все пациентки родоразрешены досрочно путем экстренного кесарева сечения. В результате родился 41 недоношенный новорожденный, из них с ОНМТ — 39% детей, 4 двойни и 2 тройни. Светлые околоплодные воды были у всех детей. В проведении ИВЛ нуждалось 70,7% детей, в основном проводилась респираторная терапия в виде контролируемой ИВЛ, в проведении ВЧО ИВЛ нуждалось 6,9% детей.

Экстренное КС (группа 5). Аномалии положения плода, первичная слабость родовых сил, дискоординация родовой деятельности, многоплодие с преждевременным излитием околоплодных вод явились показанием для проведения экстренного оперативного родоразрешения. В результате родов родилось 64 ребенка, из них 13 двоен и 2 тройни. С ОНМТ родилось 12,5% новорожденных. Светлые околоплодные воды были у 90,6% детей, в 9,4% случаев отмечались мекониальные воды. В проведении ИВЛ не нуждалось 15,6% детей, остальным 84,4% проводилась респираторная терапия в виде контролируемой ИВЛ — 77,8% и ВЧО ИВЛ — 22,2%. Заместительная терапия сурфактантом проведена 34,4% новорожденным.

Другой важной задачей перинатологии является оказание квалифицированной помощи новорожденному, обеспечение наиболее комфортной постнатальной адаптации, особенно новорожденным из группы риска. Наряду с другими видами обмена, липидный обмен в дальнейшем определяет раннюю и позднюю постнатальную адаптацию новорожденного ребенка. На рис. 2. представлена динамика ТГ у новорожденных исследуемых групп.

При рождении для новорожденных 3-ей и 5-й групп в плазме крови характерно статистически значимое ($P<0,01$) низкое содержание ТГ, по сравнению с новорожденными 1-й, 2-й и 4-й групп, что, вероятно, обусловлено влиянием антенатальной гипоксии, расстройствами метаболизма. Для 38,6% новорожденных 3-ей группы характерен уровень ТГ менее 0,19 ммоль/л, в двух случаях определялась только следовая концентрация ТГ. Для каждого третьего ребенка в 5-й группе характерна низкое содержание ТГ в плазме крови, у них пороговая концентрация составляла 0,2 ммоль/л и менее. При проведении корреляционного анализа выявлены корреляционные связи и получено уравнение регрессии:

- прямая корреляционная связь средней силы между сроком гестации и содержанием ТГ в

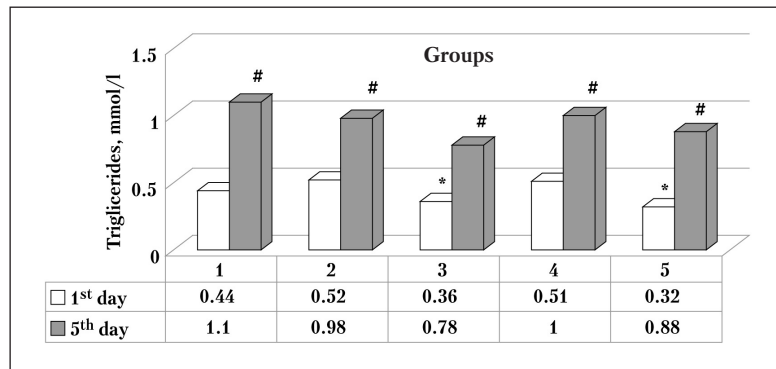


Рис. 2. Динамика триглицеридов крови у новорожденных.

Fig 2. The dynamics of triglyceride level in newborns during the treatment.

Note: * — $P<0,01$ — the significance of differences in comparison to the 2nd group; # — $P<0,01$ — the significance of differences in comparison to the 1st day of life.

Примечание: Triglycerides — триглицериды; для рис. 2, 3: mmol/l — ммоль/л; day — сутки.

* — $P<0,01$ — достоверность отличий по сравнению со 2-й группой; # — $P<0,01$ — достоверность отличий по сравнению с 1-ми сутками жизни.

ness of labor contractions, discoordination of labor activity, and multiple pregnancy. As a result, 64 neonates were delivered including 13 twins and 2 triplets. VLBW was diagnosed in 12,5% of neonates at birth. Clear and meconium amniotic fluid was observed in 90.6% and 9.4% of patients, respectively. Only 15.6% of neonates did not require MLV, the rest of them (84.4%) received MLV in the mode of controlled ventilation (77.8%) and HFLV (22.2%). Surfactant replacement therapy was performed in 34.4% of the neonates.

Another important aim of perinatology is to provide professional care to newborns and most comfortable postnatal adaptation, especially in newborns of risk groups. Lipid metabolism, along with other kinds of metabolism, affects early and late postnatal adaptation of a newborn. The dynamics of triglycerides and cholesterol levels in studied groups of infants is shown in Fig. 2.

The newborns of groups 3 and 5 were characterized by significantly lower level of perinatal synthesis of triglycerides in plasma compared to the newborns groups 1, 2 and 4 ($P<0.01$), presumably due to the influence of antenatal hypoxia and metabolism disorders. In 38,6% of infants of group 3 triglyceride level was lower than 0,19 mmol/l. In two cases only trace quantity of triglycerides was observed. Each third child of group 5 possessed low concentration of triglyceride in plasma with a threshold concentration of 0.2 mM/l and lower. Correlation analysis demonstrated the following regression equations:

- direct correlation of medium strength between the gestational age and the level of triglycerides in plasma at birth: $r=0.48$; $P=0,00005$; $y=-0,666941249 + 0,0297279329 \cdot x$.

- direct correlation of medium strength between body weight at birth and the level of

плазме крови при рождении: $r=0,48$; $p=0,00005$; $y=-0,666941249 + 0,0297279329 \cdot x$.

- прямая корреляционная связь средней силы между массой тела при рождении и уровнем ТГ в плазме крови: $r=0,38$; $p=0,002$; $y=0,0974118312 + 0,000104424085 \cdot x$.

К 5-м суткам постнатальной жизни содержание ТГ у новорожденных 3-ей и 5-й групп достоверно не отличалась от детей других групп, в целом, достигнув физиологических возрастных значений. Дальнейшее исследование показало, что у новорожденных 1-й группы средняя величина ТГ в плазме крови составляла $0,44 \pm 0,3$ ммоль/л, но наиболее критическими были показатели продукции ТГ у детей с гестационным возрастом 22–29 недель и экстремально низкой массой тела при рождении (ЭНМТ), у них содержание ТГ в плазме крови было не более $0,01–0,2$ ммоль/л. К 5-м суткам постнатальной жизни произошел достоверный рост концентрации ТГ в крови. Темп прироста у новорожденных этой группы варьирует в широких пределах. Медиана прироста ТГ в плазме крови составила $2,57 [1,7; 4,7]$ ммоль/л. Наибольший рост концентрации ТГ в раннем неонатальном периоде, относительно исходных значений, характерен для глубоко недоношенных новорожденных с ЭНМТ. У этой категории пациентов к 5-м суткам жизни произошло увеличение концентрации ТГ в крови в 5,1–9,9 раз.

У детей 2-й и 4-й групп средняя величина ТГ в плазме крови при рождении составляла соответственно $0,52 \pm 0,2$ и $0,51 \pm 0,4$ ммоль/л, что статистически значимо ($P < 0,01$), по сравнению с детьми 3-ей и 5-й групп. В конце раннего неонатального периода содержание ТГ в крови достоверно увеличилось ($P < 0,01$), средняя величина показателя достигла соответственно $0,98 \pm 0,4$ и $0,88 \pm 0,3$ ммоль/л. На постнатальную концентрацию ТГ в плазме крови влияет гестационный возраст. Чем меньше срок гестации, тем ниже показатели ТГ при рождении и к 5-м суткам постнатального периода. Важным параметром является масса тела при рождении. Существует прямая умеренная корреляция между массой тела и концентрацией ТГ крови у новорожденных в постнатальном периоде: $r=0,3764$, $P=0,0004$.

Уровень ХС при рождении у новорожденных 1-й группы был достоверно ниже, по сравнению с детьми других групп ($P < 0,01$) (рис. 3). К 5-м суткам жизни величина ХС достоверно увеличилась ($P < 0,01$) и достигла физиологических значений. Уровень ХС плазмы крови при рождении у детей остальных групп достоверно не отличался и был стабильным, к 5-м суткам постнатальной жизни концентрация ХС в крови достоверно увеличилась ($P < 0,01$).

Кроме того, выявлено наличие прямой умеренной корреляции между оценкой по шкале Ап-

triglycerides in blood plasma: $r=0,38$; $P=0.002$; $y=0,0974118312 + 0,000104424085 \cdot x$.

By the 5th day of life triglycerides synthesis in newborns of groups 3 and 5 did not differ significantly from the neonates of other groups and corresponded to physiological age values. Further research showed that triglyceride level in plasma of infants from group 1 was 0.44 ± 0.3 mM/l. The most critical indicators of triglyceride synthesis were observed in neonates with gestational ages 22–29 weeks and ELBW not exceeding $0.01–0.2$ mmol/l. A significant increase of triglyceride level in blood occurred by day 5 of postnatal life. The rate of its growth in infants of this group significantly varied with a median of increase by 2.57 mmol/l [1,7; 4,7]. The highest increase in triglyceride production in early neonatal period was observed in extremely premature new-born with ELBW compared to the mean values. The production of TG in the blood of these neonates was increased 5.1–9.9-fold.

The mean value of triglycerides in plasma at birth was 0.52 ± 0.2 and 0.51 ± 0.4 mmol/l in neonates of the groups 2 and 4, respectively, which was higher ($P < 0.01$ compared to the neonates of groups 3 and 5 ($P < 0.01$). At the end of the early neonatal period, the production of triglycerides increased significantly ($P < 0.01$). The mean value of the indicator reached 0.98 ± 0.4 and 0.88 ± 0.3 mmol/l, respectively. The postnatal production of triglycerides in plasma is affected by gestational age. The smaller the gestational age was, the lower the triglycerides blood levels were as determined at birth and on day 5 of life. The data was confirmed with a correlation analysis. A direct correlation of medium strength between the gestational age and the concentration of triglycerides in plasma on day 5 of life was revealed. The following regression equation was obtained: $r=0.6040$; $P=0.0132$; $y=-3.04448276 + 0.125734355 \cdot x$. The body weight at birth is an important parameter. There was a direct correlation between body weight and the production of triglycerides in newborns in postnatal period (Fig. 3).

The levels of cholesterol at birth was significantly lower in infants of group 1 compared to the neonates of other groups ($P < 0.01$) (Fig. 2). The amount of cholesterol increased significantly by day 5 of life ($P < 0.01$) and reached physiological values. Cholesterol level in plasma at birth in children of the other groups did not vary significantly and was stable. Cholesterol synthesis increased significantly by day 5 of life ($P < 0.01$).

Evaluation of effects of acute intrapartum hypoxia on perinatal production of cholesterol revealed a direct correlation of medium strength between the 1st minute of life Apgar score and cholesterol production on day 1 of life. The following regression equation was obtained: $r=0.38$; $P=0.01$;

Original Investigations

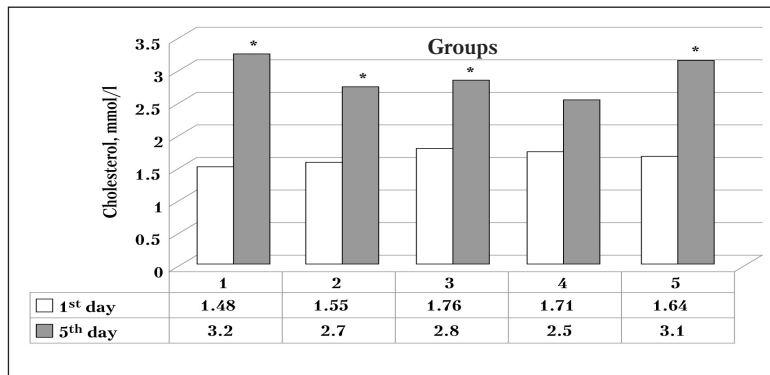


Рис. 3. Динамика холестерина крови у новорожденных.

Fig 3. The dynamics of cholesterol level in newborns during the treatment.

Note: * – $P < 0,01$ – the significance of differences in comparison to the 1st day of life.Примечание: Cholesterol – холестерин. * – $P < 0,01$ – достоверность отличий по сравнению с 1-ми сутками жизни.

гар на 1-й минуте жизни и содержанием ХС в крови новорожденных в 1-е сутки жизни, получено уравнение регрессии: $r=0,38$; $P=0,01$; $y=3,00739044 + 1,17593447 \cdot x$. Нарушения липидного обмена влияют на другие виды обмена, получена умеренная отрицательная корреляционная связь между уровнем ХС и лактата в крови при рождении: $r=-0,3$; $p=0,0003$; $y=6,88982939 - 1,84453518 \cdot x$.

Для всех новорожденных, включенных в исследование, характерны общие закономерности. Осложненное течение беременности, внутриутробная и интранатальная гипоксия влияют на внутриутробную и постнатальную концентрацию ХС и ТГ у новорожденных. Перинатальная концентрация ТГ крови снижена у новорожденных и зависит от многих факторов: способа родоразрешения, гестационного возраста, массы тела при рождении. Наиболее низкие показатели ТГ при рождении характерны для новорожденных с ЭНМТ, предлежанием и отслойкой плаценты. Плацентарная недостаточность вызывает гипоксию плода, появлением в его кровотоке продуктов деградации тканей с эффектом эндотоксинов, которые влияют на эндотелий сосудов плаценты и плода, тем самым усугубляя нарушение кровообращения, всех видов обмена, и гипоксию плода [5, 9]. С ранних сроков гестации фетоплацентарный комплекс играет существенную роль в обеспечении стероидными гормонами как организм матери, так и плода. Из фосфолипидов и ХС синтезируются эстрогены и прогестерон. Синтезированный плацентой из фосфолипидов и ТГ прогестерон частично поступает в надпочечники плода, являясь промежуточным звеном в образовании эстриола и эстрона. Тем самым поддерживают продукцию гестагенных гормонов, которые обеспечивают развитие беременности [8, 12]. Нарушение процессов плацентации с ранних сроков вызывают дисбаланс липидного обмена и синтеза

$y=3,00739044 + 1,17593447 \cdot x$. An inverse correlation of moderate strength between cholesterol and lactate level at birth was found: $r=-0,3$; $P=0,0003$; $y=6,88982939 - 1,84453518 \cdot x$. The level of triglycerides seemed to be marginally associated with the duration of artificial lung ventilation since a trend toward the inverse correlation of a weak strength between triglyceride plasma level at birth and the duration of MVL was observed: $r=-0,1363$; $P=0,0608$; $y=132,104305 - 38,1887038 \cdot x$.

Several common features were typical for all neonates and mothers included in the study. They included complications during pregnancy, prenatal and intrapartum hypoxia affect fetal and postnatal

production of cholesterol and triglycerides. Perinatal synthesis of triglycerides was reduced in all neonates and depended on the way of delivery, gestational age, body weight at birth. The lowest triglyceride level at birth was typical of the newborns with ELBW, placenta previa and placental abruption. Placental insufficiency causes fetal hypoxia and the appearance of tissue degradation products in the bloodstream that possessed effect of endotoxins. These products of cell damage are capable to affect the endothelium of blood vessels of the placenta and fetus and worsen the alterations of blood circulation, metabolism, and hypoxia of the fetus [5, 9]. From the early gestational ages, the fetoplacental complex plays an essential role in transferring steroid hormones from the mother's body to the fetus. Progesterone and estrogens are synthesized from cholesterol and phospholipids. Synthesized by the placenta from phospholipids and triglycerides, progesterone partially enters the adrenal glands of the fetus, as an intermediate stage of estriol and estrone formation. This process supports the synthesis of progestins, which ensure the prolongation of pregnancy [8, 12]. Alteration of placentation at early gestational ages causes an imbalance of lipid metabolism and synthesis of hormones, which increases the risk of premature birth.

Placenta previa and placenta abruption are direct indications for emergency surgical delivery. However, most frequently the RDSN occurs in preterm infants born by surgery compared to vaginal birth. Sometimes, the surgical delivery is performed too early and there is no opportunity to perform RDSN antenatal prevention in fetus with drugs and other methods [4, 13].

Conclusion

Alteration of lipid metabolism is an important issue of neonatology. Perinatal synthesis of triglycerides

гормонов, что, в свою очередь, увеличивает риск преждевременных родов.

Предлежание, отслойка плаценты являются прямым показанием для проведения ЭКС. Но РДСН наиболее часто встречается у недоношенных новорожденных, рожденных оперативным путем, по сравнению с влагалищными родами. Иногда ЭКС выполняется слишком рано и отсутствует возможность провести антенатальную профилактику РДСН у плода медикаментозным и не медикаментозным путем [4, 13, 14].

Заключение

Для новорожденных с дыхательной недостаточностью, родившихся путем экстренного кесарева сечения вследствие отслойки плаценты или дискоординации родовой деятельности, характерны перинатальные нарушения обмена триглицеридов и холестерина различной степени тяжести. При рождении в крови детей выявляются

erides and cholesterol in newborns is affected by abnormality of placentation, placental abruption, preterm birth, and the way of delivery. There is a direct correlation of gestational age, body weight at birth and triglyceride level. Acute intrapartum hypoxia affects lipid metabolism: more severe hypoxia is negatively correlated with the level of cholesterol in plasma. Lipid metabolism disorders in newborns in the perinatal period influence the lactate production and the duration of mechanical ventilation.

низкое содержание исследуемых веществ. Другим фактором, влияющим на концентрацию триглицеридов крови, являются гестационный возраст и масса тела при рождении. Наиболее низкие показатели триглицеридов характерны для новорожденных с гестационным возрастом 22–29 недель и экстремально низкой массой тела. К 5-м суткам постнатального возраста происходит нормализация исследуемых показателей.

Литература

1. Маршалл В.Дж. Клиническая биохимия. 6-е изд. М.: БИНОМ; 2015: 408.
2. Данилова Л.А. (ред.). Возрастная биохимия. Учебное пособие. СПб.: СОТИС; 2007: 152.
3. Вауэр Р.Р. Сурфактант в неонатологии. Профилактика и лечение респираторного дистресс-синдрома новорожденных. М.: Медицинская литература; 2011: 96.
4. Володин Н.Н. (ред.). Неонатология. Национальное руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2009.
5. Перепелица С.А., Голубев А.М., Мороз В.В. Респираторный дистресс-синдром новорожденных: ранняя диагностика, профилактика, лечение. *Общая реаниматология*. 2012; 8 (4): 95–102. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2012-4-95>
6. Polin R.A., Carlo W.A.; Committee on Fetus and Newborn; American Academy of Pediatrics. Surfactant replacement therapy for preterm and term neonates with respiratory distress. *Pediatrics*. 2014; 133 (1): 156–163. <http://dx.doi.org/10.1542/peds.2013-3443>. PMID: 24379227
7. Чиркин А.А., Данченко Е.О., Бокуть С.Б. Биохимия филогенеза и онтогенеза. Минск: ИНФРА-М; 2012: 288.
8. Милованов А.П., Савельева С.В. Внутритробное развитие человека. Руководство для врачей. М.: МДВ; 2006: 384.
9. Айламазян Э.К., Полякова В.О., Кветной И.М. Функциональная морфология плаценты человека в норме и при патологии. СПб.: Н-Л; 2012: 176.
10. Мороз В.В., Голубев А., Перепелица С.А. Респираторный дистресс-синдром новорожденных. Патогенез, диагностика, клиника, лечение. Saarbrücken: Palmarium Academic Publishing; 2014: 126.
11. Попова А.С., Крупицкая Л.И., Цейликман В.Э., Рябинин В.Е., Синицкий А.И., Деев Р.В. Состояние энергетического обмена у новорожденных в норме и при развитии нарушений адаптации в раннем постнатальном периоде. *Клин. лаб. диагностика*. 2013; 1: 22–24. PMID: 23807989
12. Перетятко Л.П., Кулида Л.В., Проценко Е.В. Морфология плодов и новорожденных с экстремально низкой массой тела. Иваново; 2005: 384.
13. Девяткова Е.А., Цатурова К.А., Эсмурзиева З.И., Вартамян Э.В. Преждевременные роды. *Акушерство и гинекология*. 2015; 3 (9): 60–69.

Поступила 20.06.15

References

1. Marshall V.J. *Klinicheskaya biokhimiya*. 6-e izd. [Clinical biochemistry. 6th ed.]. Moscow: BINOM; 2015: 408. [In Russ.]
2. Danilova L.A. (red.). *Vozrastnaya biokhimiya. Uchebnoe posobie*. [Age biochemistry. Textbook]. Sankt-Peterburg: SOTIS; 2007: 152. [In Russ.]
3. Vauer R.R. *Surfaktant v neonatologii. Profilaktika i lechenie respiratornogo distress-sindroma novorozhdennykh*. [Surfactant in neonatology. Prevention and treatment of respiratory distress syndrome in newborn]. Moscow: Meditsinskaya Literatura; 2011: 96. [In Russ.]
4. Volodin N.N. (red.). *Neonatologiya. Natsionalnoe rukovodstvo*. [Neonatology. National guide]. Moscow: GEOTAR-Media; 2009. [In Russ.]
5. Perepelitsa S.A., Golubev A.M., Moroz V.V. Respiratornyi distress-sindrom novorozhdennykh: rannaya diagnostika, profilaktika, lechenie. *Obshchaya Reanimatologiya*. [Neonatal respiratory distress syndrome: early diagnosis, prevention, and treatment. *General Reanimatology*]. 2012; 8 (4): 95–102. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2012-4-95>. [In Russ.]
6. Polin R.A., Carlo W.A.; Committee on Fetus and Newborn; American Academy of Pediatrics. Surfactant replacement therapy for preterm and term neonates with respiratory distress. *Pediatrics*. 2014; 133 (1): 156–163. <http://dx.doi.org/10.1542/peds.2013-3443>. PMID: 24379227
7. Chirkin A.A., Danchenko E.O., Bokut S.B. *Biokhimiya filogeneza i ontogeneza*. [Biochemistry of phylogeny and ontogeny]. Minsk: INFRA-M; 2012: 288. [In Russ.]
8. Milovanov A.P., Savelyeva S.V. *Vnutritrobnnoe razvitie cheloveka. Rukovodstvo dlya vrachei*. [Intrauterine human development. Guidelines for physicians]. Moscow: MDV; 2006: 384. [In Russ.]
9. Ailamzyan E.K., Polyakova V.O., Kvetnoi I.M. *Funktsionalnaya morfologiya platsenty cheloveka v norme i pri patologii*. [Functional morphology of human placenta in health and disease]. Sankt-Peterburg: N-L; 2012: 176. [In Russ.]
10. Moroz V.V., Golubev A.M., Perepelitsa S.A. Respiratornyi distress-sindrom novorozhdennykh. Patogenez, diagnostika, klinika, lechenie. [Neonatal respiratory distress syndrome. Pathogenesis, diagnosis, clinic, treatment]. Saarbrücken: Palmarium Academic Publishing; 2014: 126. [In Russ.]
11. Popova A.S., Krupitskaya L.I., Tselikman V.E., Ryabinin V.E., Sinitsky A.I., Deyev R.V. Sostoyanie energeticheskogo obmena u novorozhdennykh v norme i pri razviti narushenii adaptatsii v ranнем postnatalnom periode. [The energetic metabolism in newborns in normal conditions and under development of disorders of adaptation in early postnatal period]. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2013; 1: 22–24. PMID: 23807989. [In Russ.]
12. Peretyatko L.P., Kulida L.V., Protsenko E.V. *Morfologiya plodov i novorozhdennykh s ekstremalno nizkoi massoi tela*. [The morphology of fetuses and infants with extremely low birth weight]. Ivanovo; 2005: 384. [In Russ.]
13. Devyatova E.A., Tsaturova K.A., Esmurzieva Z.I., Vartanyan E.V. *Prezhdevremennyye rody*. [Prematurity]. *Akusherstvo i Ginekologiya*. 2015; 3 (9): 60–69. [In Russ.]

Submitted 20.06.15

НЕОДНОРОДНОСТЬ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ЭЛЕКТРИЧЕСКИХ ТРАНСМЕМБРАННЫХ ПОТЕНЦИАЛОВ ПРИ ДЕФИБРИЛЛЯЦИИ СЕРДЦА

О. Е. Гудкова¹, А. П. Козлов²

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

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

Non-Uniformity of the Distribution of Electrical Transmembrane Potentials in Cardiac Defibrillation

O. E. Gudkova¹, A. P. Kozlov²

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

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

Одной из проблем современной реаниматологии является необходимость экстренного прекращения фибрилляции желудочков сердца. Несмотря на поиски новых методов, существует лишь единственный эффективный метод – электрическая дефибрилляция сердца.

Цель работы — исследование действия импульсов различных форм на мембраны клеток в модельном эксперименте и оценка их использования для проведения эффективной дефибрилляции сердца.

Материалы и методы. Для теоретического анализа пространственного распределения электрического поля в мембране эритроцитов использовалась модель Максвелла. Расчет электрического воздействия на отдельную клетку проведен по полученным экспериментальным данным и исходя из эквивалентной электрической схемы структуры миокарда при проведении процедуры дефибрилляции. Рассчитывали потенциал, наводимый на мембране кардиомиоцита при воздействии разряда дефибриллятора. Изучали воздействие монополярного, двух однополярных и двух разнополярных импульсов на мембраны эритроцитов.

Результаты. Наблюдается неаддитивность скоростей при двукратном действии по сравнению с однократным. Одиночный импульс вызывает меньший эффект электропорации, чем два двойных. При электрической дефибрилляции сердца последовательно реализуются процессы гиперполяризации и деполяризации мембран кардиомиоцитов.

Заключение. Два разнополярных импульса с большей вероятностью вызывают эффект электропорации биологических мембран по сравнению с двумя однополярными.

Ключевые слова: электрическая дефибрилляция сердца; импульсное электрическое поле; суспензия эритроцитов; мембрана; кинетическая кривая

The need for emergency cessation of ventricular fibrillation is one of the problems of modern reanimatology. In spite of searches for novel methods, there is the only effective method — electrical cardiac defibrillation.

Objective: to investigate the effect of different forms of pulses on cell membranes in a model experiment and to assess their use for effective cardiac defibrillation.

Materials and methods. The Maxwell model was used for theoretical analysis of the spatial distribution of an electric field in the red blood cell membrane. The electric effect on a single cell was calculated using the experimental findings and the equivalent electrical circuit of the myocardial structure during a defibrillation procedure.

Адрес для корреспонденции:

Ольга Гудкова
E-mail: orbf@mail.ru

Correspondence to:

Olga Gudkova
E-mail: orbf@mail.ru

The cardiomyocyte membrane potential upon exposure to defibrillator discharge was estimated. Exposure of the red blood cell membrane to single, two unipolar and two heteropolar pulses was examined.

Results. There is non-additivity of speeds upon double exposure as compared to single one. Single pulse causes a lower effect of electroporation than two double pulses. Hyperpolarization and depolarization processes in the cardiomyocyte membranes occur successively during electrical cardiac defibrillation.

Conclusion. Two heteropolar pulses cause an effect of biological membrane electroporation with a greater probability than two unipolar ones.

Key words: *electrical cardiac defibrillation; pulsed electric field; red blood cell suspension; membrane; kinetic curve*

DOI:10.15360/1813-9779-2015-6-38-47

Введение

Одной из проблем реаниматологии остается необходимость экстренного прекращения фибрилляции желудочков сердца. Несмотря на поиски новых методов, существует лишь единственный эффективный метод — электрическая дефибрилляция сердца [1] — экстренное прекращение фибрилляции желудочков сердца с помощью высоковольтного импульсного электрического поля [2].

Процесс действия электрического поля на мембрану кардиомиоцита представляет большой интерес и исследуется как экспериментально, так и теоретически [3].

Фундаментальные работы по изучению эффективности дефибрилляции в зависимости от амплитуды импульса, его формы и длительности были проведены в Институте общей реаниматологии РАМН Н. Л. Гурвичем, В. Я. Табаком, М. С. Богушевич и их соавторами. Эффекты действия электрического поля зависят от напряженности поля, создаваемой разрядом в структуре кардиомиоцитов. С помощью математической модели исследовалась неоднородность электрического поля в мембране кардиомиоцита при дефибрилляции [3].

В настоящей статье в модельном эксперименте на суспензии эритроцитов показаны результаты различных способов воздействия импульсного электрического поля на мембраны красных клеток крови. С помощью математической модели показано возникновение гипер- и деполяризации кардиомиоцита при дефибрилляции.

Эффект электропорации зависит не только от напряженности электрического поля [4, 5], но и от формы дефибрилирующего импульса [6]. Клинические [7–9] и экспериментальные [10, 11–14] исследования показывают, что эффективность биполярного импульса Гурвича [15] выше эффективности однополярного импульса Edmark [15], хотя эти различия носят статистический характер [16].

Цель работы — исследование действия импульсов различных форм на мембраны клеток в модельном эксперименте и оценка их использования для проведения эффективной дефибрилляции сердца.

Introduction

One of the problems of reanimatology is a need in emergency termination of ventricular fibrillation. Despite the search for new methods, there is only one effective method, electrical heart defibrillation [1]. Electrical heart defibrillation is an extraordinary termination of ventricular fibrillation using high voltage impulse electric field [2].

Mechanisms of action of electric field on the cardiomyocyte membrane are of great interest and are studied in experimental and theoretical directions [3].

Fundamental studies on effectiveness of defibrillation, which depends on the amplitude of the impulse, its shape and duration were conducted in the Institute of General Reanimatology of RAMS by N. L. Gurvich, V. Y. Tobacco, M. S. Bogushevich and their co-authors. Also the effects of action of electric field depend on the field tension generated by discharge in the structure of cardiomyocytes. Heterogeneity of electric field in cardiomyocyte membrane during defibrillation was investigated using a mathematical model [3].

The results of different ways of impact of impulse electric field on red blood cell membranes are shown in this article in a model experiment on erythrocyte suspension. Appearance of cardiomyocyte hyper- and depolarization during defibrillation demonstrated also in a mathematical model [3].

Effect of electroporation depends not only on the tension of electric field [4, 5], but also on the shape of defibrillating impulse [6]. Clinical [7–9] and experimental [10, 11–14] studies have demonstrated that the efficiency of the bipolar Gurvich impulse [15] is higher than the efficiency of unipolar Edmark impulse [15], although these differences are statistical in nature [16].

The purpose of the investigation was to study the action of impulses of different forms on the cell membranes in a model experiment and evaluate their suitability for performing the effective heart defibrillation.

Materials and Methods

Method of calibrated electroporation.

The idea of a method of calibrated electroporation is that the cell placed in solution is applied to external elec-

Материал и методы

Метод калиброванной электропорации.

Идея метода калиброванной электропорации состоит в том, что на клетку, помещенную в раствор, подается внешнее электрическое поле E_0 . Наведенный на мембране потенциал вызывает ее электрический пробой. Количество образовавшихся пор является функцией от величины трансмембранного потенциала $\Delta\varphi_m$ и количества активных центров на мембране. Эффект электропорации оценивается по кинетическим кривым гемолиза $D=f(t)$ при данной величине E_0 .

Всего было проведено 87 опытов по воздействию импульсов различной формы на мембраны эритроцитов в суспензии. Все представленные экспериментальные данные обработаны с использованием стандартных программ вариационной статистики.

В качестве источника импульсного электрического поля применяли дефибрилляторы «Lifepak-7» (США) и «ДИ-03» (РФ). Электрический импульс подвели к титановым электродам, которые помещали в кварцевую кювету. В нее наливали 3 мл суспензии. Расстояние между силовыми электродами составляло 17 мм. Electrodes полностью покрывали боковые стороны кюветы, что обеспечивало однородность создаваемого электрического поля в растворе. Сопротивление суспензии составляло 100 ± 5 Ом. Для энергии импульса 230 Дж амплитуда напряжения импульса составила 2900 В, что соответствует 1700 В/см в суспензии. Этот импульс был выбран в качестве калиброванного [1, 6].

Эритроциты подвергали воздействию одиночного импульса, двух однополярных и двух разнополярных импульсов, представленных на рис. 1. Длительность одиночного импульса была 10 мс, двойных однополярных и разнополярных импульсов 6 мс, время между двойными импульсами 0,5 с, амплитуда импульсов составляла 3100 В. При воздействии электрического поля происходит гемолиз эритроцитов, что приводит к уменьшению оптической плотности D суспензии. График зависимости $D(t)$ называется кинетической кривой. Эту зависимость регистрировали с помощью фотоэлектроколориметра «КФК-2». Измерение оптической плотности суспензии проводили на длине волны $\lambda=750$ нм, так как на данной длине волны ослабление интенсивности исходного пучка света определялось только рассеянием света на эритроцитах. При малых концентрациях эритроцитов оптическая плотность суспензии D прямо пропорциональна их концентрации $D=kn$ (k -коэффициент ослабления, n -концентрация эритроцитов). Поэтому, измеряя оптическую плотность суспензии в момент времени t (величину $D(t)$), можно получить информацию о концентрации эритроцитов $n(t)$. Для каждого вида импульса построены кинетические кривые $D(t)$.

Распределение электрического поля в мембране кардиомиоцита.

Для теоретического анализа пространственного распределения электрического поля в мембране кардиомиоцитов использовали модель Максвелла.

В модели учитывался потенциал покоя кардиомиоцита и наведенный трансмембранный потенциал от внешнего электрического поля. Принималась во внимание неоднородность электрического поля во времени для биполярного импульса. Учитывалась его ам-

плитуда E_0 . Potential induced on the membrane causes its electrical breakdown. A number of formed pores is a function of the value of transmembrane potential $\Delta\varphi_m$ and the number of active centers on the membrane. The effect of electroporation is estimated by kinetic curves of hemolysis $D = f(t)$ for a given value E_0 .

87 experiments on the effects of impact of impulses of different forms on the red blood cells in suspension were conducted. Experimental data were processed using standard programs of variation statistics.

Defibrillators «Lifepak-7» (USA) and «ДИ-03» (Russia) were used as the sources of pulsed electric field. The source of electric impulse were titanium electrodes placed in a quartz cuvette. Three ml of suspension were poured into the cuvette. The distance between the power electrodes was 17 mm. The electrodes completely covered the sides of the cuvette thus ensuring homogeneity of the electric field in the solution. Resistance of this suspension was 100 ± 5 ohms. For the energy of impulse of 230 J the amplitude of impulse was 2900 V corresponded to 1700 V/cm in the suspension. This impulse was selected as calibrated one [1, 6].

Red blood cells were exposed to a single impulse, two monopolar and two bipolar impulses as shown on the Fig. 1. Single impulse duration was 10 ms, durations of two unipolar and two bipolar double impulses were 6 ms each, time between two double impulses was 0.5 s. Under an impact of a pulse field the hemolysis occurred resulting in a decrease of optical density D of the suspension. Graph of $D(t)$ is called kinetic curve. This dependence was lifted with the use of photoelectrocolorimeter «КФК-2». Measurement of optical density of suspension was carried out at the suspension wavelength of $\lambda=750$ nm because at a given wavelength an attenuation of intensity of the initial light beam determined only by the absorption of light by red blood cells. At low concentrations of erythrocytes, the optical density of suspension D is directly proportional to their concentration $D = kn$ (k -attenuation coefficient, n -concentration of red blood cells). Therefore, by measuring the optical density of suspension at time t (value $D(t)$) it is possible to collect data on concentration of erythrocytes $n(t)$. For each kind of impulses the graphs of kinetic curves $D(t)$ were built [1,3].

Distribution of electrical field in cardiomyocyte membrane.

Maxwell model was used for theoretical analysis of spatial distribution of the electric field in erythrocyte membrane.

The model takes into account the resting potential of cardiomyocyte and the induced transmembrane potential by an external electric field. This takes into account the heterogeneity of the electric field in time for the bipolar impulse. It considers its amplitude and duration of the positive and negative half-wave.

Calculation of electrical effect in a single cell was carried out based on the experimental data and on the base of equivalent electrical scheme of myocardium structure. It is known that the contractile myocard is represented by syncytia cardiomyocytes and complicated network of blood vessels. The whole system is surrounded by blood, the conductivity of which is ≈ 0.6 sm/m. Parameters between the outer and inner surface walls of the left ventricular (in parallel) include: conductivity of the blood gbl, conductivity

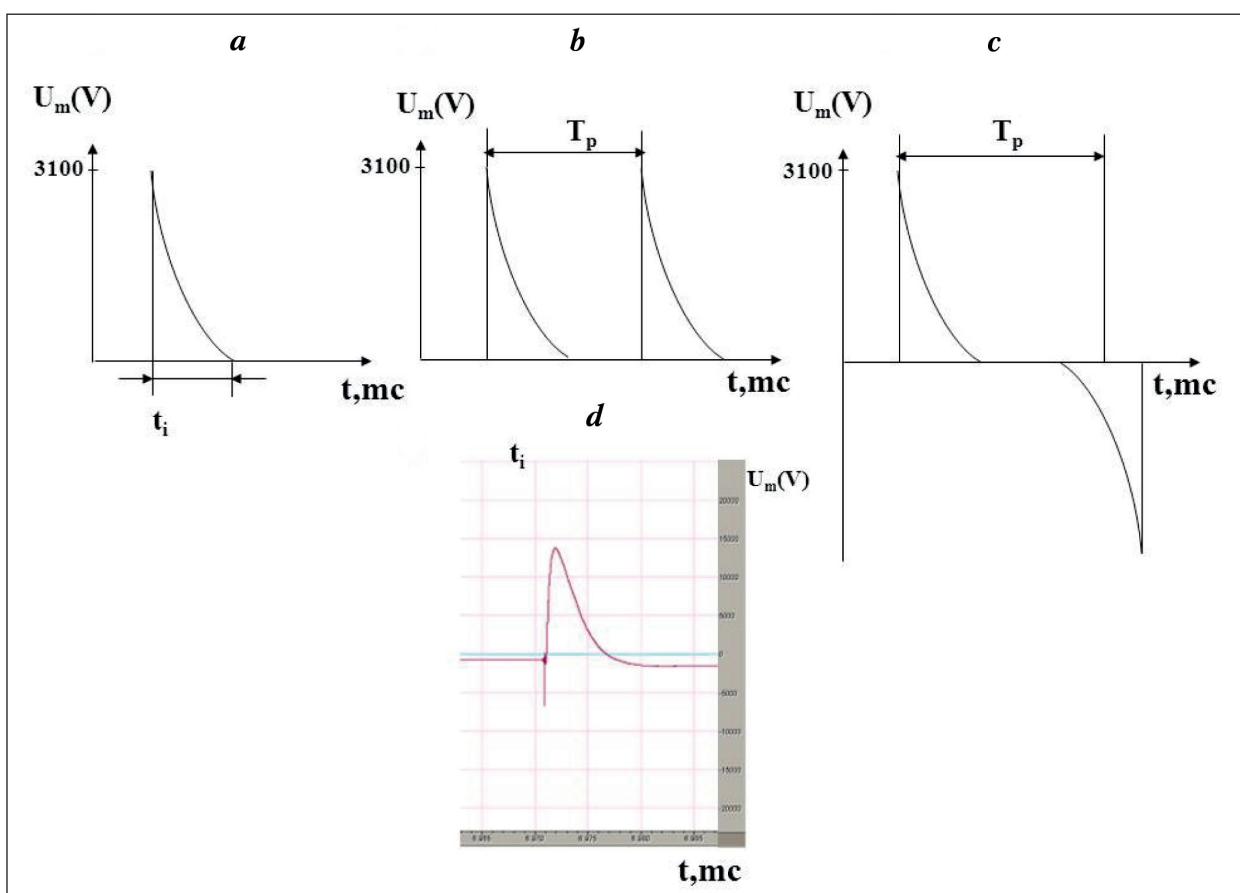


Рис. 1. Формы импульсов электрического поля.

Fig. 1. Forms of impulses of electric field.

Note: *a* — single $t_i=10$ ms; *b* — two monopolar; time between impulses $t_p=0.5$ s; *c* — two bipolar; time between impulses $t_p=0.5$ s; *d* — Electrical impulse in solution, registered with the use of measuring needles. Calibration of the axis OX — 5 ms on a cell, of the axis OY — 1000 V on a cell. Coefficient of compression 22000.

Примечание: *a* — одиночный $t_i=10$ мс; *b* — два однополярных; время между импульсами $t_{ii}=0,5$ с; *c* — два разнополярных; время между импульсами $t_{ii}=0,5$ с; *d* — Электрический импульс в растворе, регистрируемый с помощью измерительных иголок. Калибровка по оси OX — 5 мс на клетке, по оси OY — 1000 В на клетке. Коэффициент сжатия 22000.

литуда и длительность положительных и отрицательных полувольт.

Расчет электрического воздействия на отдельную клетку проводился по полученным экспериментальным данным и исходя из эквивалентной электрической схемы структуры миокарда. Известно, что сократительный миокард представляет собой синцитий кардиомиоцитов и сложной сети кровеносных сосудов. Эта система омывается кровью, удельная проводимость которой составляет $\approx 0,6$ См/м. Между внешней и внутренней поверхностью стенки ЛЖ включены параллельно: проводимость крови $g_{кр}$, проводимость соединительных белков $g_б$ и сосудов $g_с$: $g_{кр} \gg g_б > g_с$, кровь является шунтом во всей системе. Поэтому для создания необходимой напряженности поля на мембране необходимо подавать импульсы от дефибриллятора, имеющие высокие напряжения — от $1 \cdot 10^3$ до $5 \cdot 10^3$ В, и большие энергии от -100 до 400 Дж. Так как сопротивление сердца составляет 40–50 Ом, то токи дефибрилляции достигают десятков ампер, что показано в эксперименте и клинике.

Для рассмотрения возможных механизмов дефибрилляции необходимо рассчитать потенциал, наводи-

of connecting proteins g_p and vessels g_v : $g_{bl} \gg g_{c.p} > g_v$. Blood itself represents a shunt across the system. Therefore, for the creation of the necessary field tension on the membrane it is required to apply impulses from defibrillator at a high voltage — from $1 \cdot 10^3$ V to $5 \cdot 10^3$ V and increased energy from -100 to 400 J. Since the resistance of a heart is only 40–50 ohms, defibrillation currents reaches tens of amperes, as has been shown in experiments and clinical settings.

To consider the possible mechanisms of defibrillation, it is necessary to calculate the potential induced on a membrane of cardiomyocyte under the influence of defibrillator discharge. Cardiomyocyte is usually represented a sphere or that is closer to the real object, specifically, a rotating ellipsoid. The induced field for the dielectric rotating ellipsoid placed into the external uniform electric field depends on dielectric values of the medium and the dielectrics. The amplitude of voltage φ_n induced at the cardiomyocyte membrane as a result of action of the alternating electric field E_0 in view of the dielectric properties of the membrane and the environment is calculated as follows:

$$\varphi_n = \frac{aq_e \cos \theta E_0}{[q_e + N(q_m - q_e) \sqrt{1 + (\omega \tau)^2}]} \quad (1)$$

Original Investigations

мый на мембране кардиомиоцита при воздействии разряда дефибриллятора. Кардиомиоцит представляется сферой или, что ближе к реальному объекту, эллипсоидом вращения. Наведенное поле для диэлектрического эллипсоида вращения, помещенного во внешнее однородное электрическое поле, зависит от величин диэлектрических проницаемостей среды и диэлектрика. Амплитуда напряжения φ_n , наведенного на мембране кардиомиоцита в результате действия переменного электрического поля E_0 с учетом диэлектрических свойств мембраны и окружающей среды

$$\varphi_n = \frac{aq_m \cos \theta E_0}{[q_m + N(q_m - q_e)\sqrt{1 + (\omega\tau)^2}]} \quad (1)$$

где q_e — диэлектрическая проницаемость внешней среды; q_m — диэлектрическая проницаемость мембраны; N — обобщенный деполяризующий фактор; a — половина главной оси эллипсоида; ω — круговая частота поля переменного тока; τ — время релаксации; θ — угол между нормалью к плоскости мембраны и направлением вектора напряженности поля.

Если кардиомиоцит принять за сферу с радиусом r , то наведенный трансмембранный потенциал вычисляется по формуле:

$$\varphi_n = 1,5E_0r \cos \theta \quad (2)$$

Для $r=15$ мкм, $E_0=80$ В/см величина наведенного трансмембранного потенциала $\varphi_n^+=180$ мВ. Так как биполярный импульс имеет соотношение полувольт 1:0,5, то положительная полуволна создает при этом $\varphi_n^+=120$ мВ, а отрицательная $\varphi_n^-=60$ мВ. Для кардиомиоцита, имеющего форму эллипсоида вращения с главной осью $a=50$ мкм и побочной $c=25$ мкм, что близко к его реальным размерам, и расположенного главной осью параллельно вектору напряженности поля, $E_0=80$ В/см, $\varphi_n^+=248$ мВ. С учетом соотношения полувольт, $\varphi_n^+=165$ мВ, $\varphi_n^-=83$ мВ. В общем случае φ_n будет зависеть от положения главной оси эллипсоида по отношению к приложенному полю. В рассматриваемом случае, кардиомиоцит расположен перпендикулярно вектору напряженности поля, и $N=0,6$, и изменение φ_n составляет менее 3%. Таким образом, наведенный на мембране клетки потенциал практически не зависит от места приложения электродов на поверхности интактного сердца, что и наблюдается в эксперименте.

Результаты и обсуждение

Регистрация импульса в растворе.

Изменение импеданса наружного раствора существенно влияет на показатели пробоя мембран. Поэтому при исследовании воздействия импульсного электрического поля на биологические мембраны с целью их электропорации необходимо регистрировать напряженность электрического поля, длительность и форму импульса, которые формируются в объеме клеточной суспензии. Для создания порогового трансмембранного потенциала 0,3–0,5 В необходимо формировать электрическое поле в растворе с напряженностью 1000–2000 В/см длительностью импульса 5–10 мс.

Формы действующих импульсов электрического поля представлены на рис. 1 *a, b, c*, а результирующая форма монополярного импульса в мо-

where q_e — dielectric constant of external environment, q_m — dielectric permeability of membrane, N — generalized depolarizing factor, a — half of major axis of ellipsoid, ω — angular frequency of alternating current, τ — relaxation time, θ — the angle between normal to the membrane surface and direction of the vector of field tension. If cardiomyocyte is considered as a sphere with a radius r , the induced transmembrane potential should be calculated as follows:

$$\varphi_n = 1,5E_0r \cos \theta \quad (2)$$

For, $r=15$ мкм, $E_0=80$ В/см, the value of induced potential $\varphi_n^+=180$ мВ. Since the bipolar impulse has a half-wave ratio of 1:0.5, the positive half-wave at the same time creates $\varphi_n^+=120$ мВ, and negative $\varphi_n^-=60$ мВ. For cardiomyocyte, as a rotating ellipsoid with main axis of $a=50$ мкм and an indirect axis $c=25$ мкм (that is close to its actual dimensions), the principal axis disposes parallel to the vector of voltage field, $E_0=80$ В/см, $\varphi_n^+=248$ мВ. Taking into account the ratio of half-waves $\varphi_n^+=165$ мВ, $\varphi_n^-=83$ мВ, φ_n will depend on the position of the main axis of the ellipsoid with respect to the applied field. In this case cardiomyocyte is disposed perpendicularly to the vector of the field intensity, and at $N=0.6$ the change of φ_n is less than 3%. Thus, the potential induced on a cell membrane is practically independent on the site of application of electrodes on the surface of intact heart, as has been observed in an experiment.

Results and Discussion

Registration of impulse in solution.

Change of impedance of the external solution greatly affects on performance of membranes breakdown. Therefore, during study of pulsed electric field on biological membrane for the purpose of electroporation it is necessary to record the intensity of electric field, duration and shape of the impulse, which are formed in a cell suspension. To create a threshold transmembrane potential of 0.3–0.5 V, it is necessary to form an electric field in a solution at a strength of 1000–2000 V / cm and duration of the impulse of 5–10 ms [3].

Forms of acting impulse of electric field are shown in Fig. 1 *a, b, c*, and the resulting shape of monopolar impulses in modulating solution is shown in Fig. 1d. Values of transmembrane potentials $\Delta\varphi_n$ and potentials φ_n induced under the action of bipolar impulse are shown in Table 1.

During holding experiments at the time of application of pulsed electric field on the test samples in suspension the amplitude U_m and the form of impulse were registered directly in the solution. This made it possible to control the induced transmembrane potential in each series of experiments. To obtain an image of the electric impulse in solution, high-impedance dividers and analog signal computer-assisted processing program were deployed [17]. An example of a defibrillator impulse in a blood suspension is presented in Fig. 1.

It is shown that the electric field across the volume was homogeneous. The differences of amplitude

Величины трансмембранных потенциалов на кардиомиоците при биполярном дефибриллирующем импульсе.
Values of transmembrane potential on cardiomyocyte under bipolar defibrillated impulse.

Value	$\Delta\varphi_m, \text{mV}$		φ, mV	
			φ^r, mV	φ_i^+, mV
Positive halfwave	$\Delta\varphi_m^L$	-255	-90	165
	$\Delta\varphi_m^R$	75	-90	-165
Negative halfwave	$\Delta\varphi_m^L$	-7	-90	-83
	$\Delta\varphi_m^R$	-173	-90	83

Note: $\Delta\varphi_m$ — transmembrane potential on cardiomyocyte; $\Delta\varphi_m^L$ — transmembrane potential of left side of cardiomyocyte in the moment of maximum of positive halfwave; $\Delta\varphi_m^R$ — transmembrane potential of right side of cardiomyocyte in the moment of maximum of positive halfwave; φ^r — resting potential; φ_i^+ — induced potential of positive halfwave; φ_i^- — induced potential of negative halfwave.

Примечание: Value — величина; Positive halfwave — положительная полуволна; Negative halfwave — отрицательная полуволна. $\Delta\varphi_m$ — трансмембранный потенциал на кардиомиоците; $\Delta\varphi_m^L$ — трансмембранный потенциал левой стороны кардиомиоцита в момент максимума положительной полуволны; $\Delta\varphi_m^R$ — трансмембранный потенциал правой стороны кардиомиоцита в момент максимума положительной полуволны; φ^r — потенциал покоя; φ_i^+ — наведенный потенциал положительной полуволны; φ_i^- — наведенный потенциал отрицательной полуволны.

делирующем растворе на рис. 1, *d*. Величины трансмембранных $\Delta\varphi_m$ и наведенных φ_n потенциалов при действии биполярного импульса представлены в таблице.

При проведении экспериментов в момент подачи импульсного электрического поля на исследуемые образцы суспензии и с помощью измерительных игловок регистрировали амплитуду U_m и форму импульса непосредственно в растворе. Это дало возможность контролировать наведенный трансмембранный потенциал в каждой серии опытов. Для получения изображения электрического импульса в растворе использовали высокоомные делители и программу обработки аналоговых сигналов компьютера [17]. Пример импульса дефибриллятора в суспензии крови представлен на рис. 1.

Показано, что электрическое поле по всему объему было однородно. Различия амплитуды не превышали значения ~10%, что определялось суммарной погрешностью эксперимента. Таким образом, потенциал поля падал практически линейно от электрода к электроду. Сравнение теоретической кривой зависимости амплитуды импульса от сопротивления раствора с экспериментальными данными показало, что отличия не превышали 20%. Как следует из экспериментальных данных, основная часть напряжения падает именно в растворе, а не «садится» на электродах, чего можно было бы ожидать при таких больших напряжениях.

Процесс поляризации мембраны кардиомиоцита, находящегося в покое, при действии биполярного импульса представлен на рис. 2.

На рис. 2, *a* представлена форма биполярного импульса: плюсом отмечена положительная полуволна, минусом отмечена отрицательная полуволна. На рис. 2, *b* и *c* представлено распределение трансмембранных потенциалов на кардиомиоците при действии биполярного импульса, *A* — положительная полуволна, *B* — отрицательная полуволна, *L* — левая половина клетки, *R* — правая половина клет-

do not exceed the value of the amplitude of ~10%, which was determined by the total error of experiment. Therefore, the potential of the field fell almost linearly from electrode to electrode. Comparison of theoretical curve of amplitude of impulse from resistance of solution with the experimental data showed that the differences did not exceed 20%. As follows from the experimental data, the main part of voltage drops in solution rather than «sits» on the electrodes, which would be expected at such high voltages.

The process of cardiomyocyte membrane polarization at a rest under the action of bipolar pulse is shown in Fig. 2.

Figure 2 shows a form of bipolar impulse: positive half-wave marked with a plus, whereas a negative half-wave marked with a minus. Figure 2b and 2c show the distribution of transmembrane potentials on cardiomyocytes under the influence of the bipolar impulse, *A* — positive half-wave, *B* — negative half-wave, *L* — left side of the cell, *R* — right side of the cell. Fig. 2 demonstrates induced voltage φ_n , resting potential φ_r , and membrane potential, whereas $\Delta\varphi_m$ is a transmembrane potential of the cell, $\Delta\varphi_m^R$ — transmembrane potential of the right side, $\Delta\varphi_m^L$ — transmembrane potential of the left side of cardiomyocyte, when the positive half-wave is at its maximum value. Fig. 2b demonstrates the same values at the time of a maximum negative half-wave. Under the action of a positive half-wave on the myocardium (*A*) the left side of myocyte is hyperpolarizing (A_L), and the myocyte's right side is depolarizing (A_R). Negative half-wave (*B*) inverses polarization: left one is depolarized (B_L), and the right one is hyperpolarized (B_R). Wherein, maximum of transmembrane potential difference $\Delta\varphi_m$ for myocyte at rest is defined by the equation:

$$\Delta\varphi_m = \Delta\varphi_r - \Delta\varphi_n \quad (3)$$

Thus, if we assume φ_r equal to -90 mV, left side is first hyperpolarizing to -255 mV (A_L), and then is

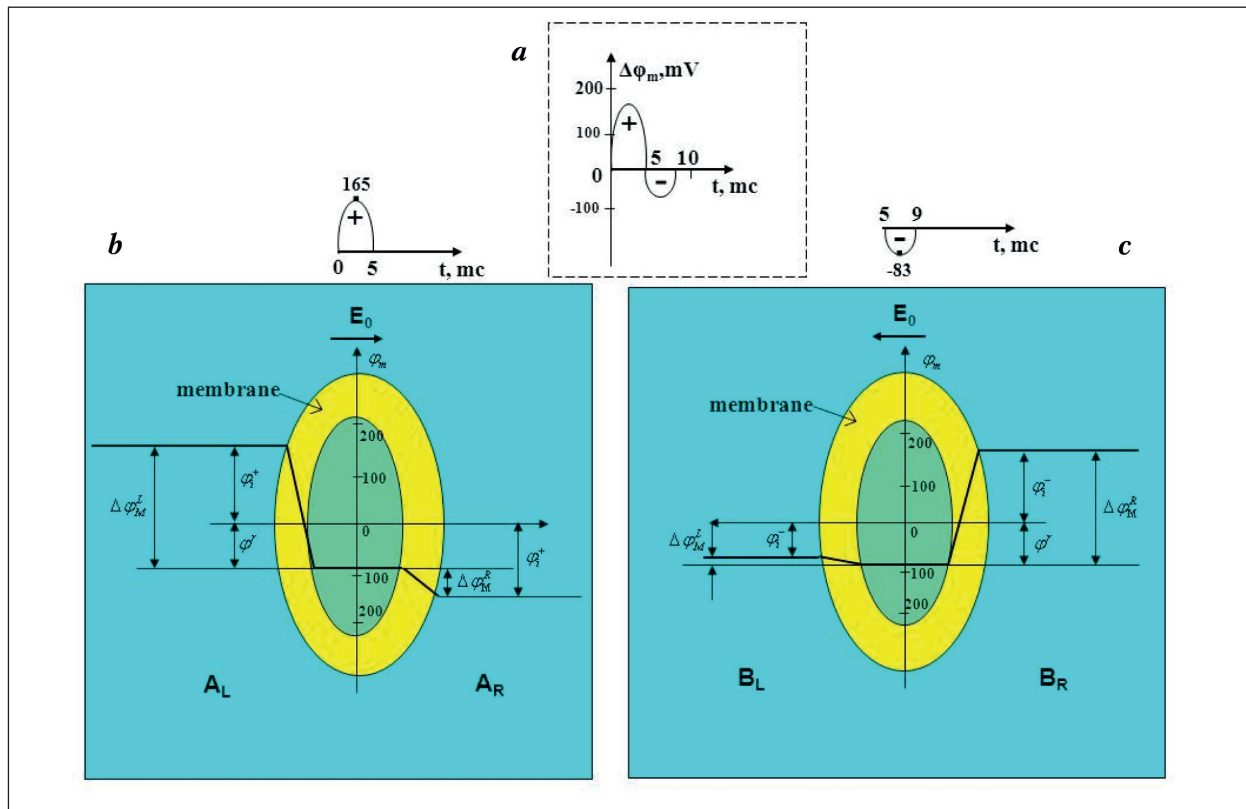


Рис. 2. Распределение трансмембранных потенциалов на кардиомиоците при действии биполярного импульса.

Fig. 2. Distribution of transmembrane potential on cardiomyocyte under the influence of bipolar impulses.

Note: *a* – form of bipolar impulse, plus marks positive halfwave, minus marks negative halfwave; *t*, *t*, time of impulse, ms, $\Delta\varphi_m$, transmembrane potential in the moment of maximum of halfwave, mV; *b* – distribution of transmembrane potential for positive halfwave: A_L – left side of a cell, A_R – right side of a cell, where φ_+^+ – induced voltage of positive halfwave, φ_-^- – induced voltage of negative halfwave, φ_r – resting potential, $\Delta\varphi_m$ – transmembrane potential in the moment of maximum of halfwave, $\Delta\varphi_m^L$ – transmembrane potential of left side, $\Delta\varphi_m^R$ – transmembrane potential of right side; *c* – distribution of transmembrane potential for negative halfwave – B: B_L – left side of a cell, B_R – right side of a cell.

Примечание: *a* – форма биполярного импульса, плюсом отмечена положительная полуволна, минусом отрицательная полуволна; *t*, *t*, время импульса, мс; $\Delta\varphi_m$, трансмембранный потенциал в момент максимума полуволны, мВ; *b* – распределение трансмембранных потенциалов для положительной полуволны: A_L – левая половина клетки; A_R – правая половина клетки; где φ_+^+ – наведенное напряжение положительной полуволны; φ_-^- – наведенное напряжение отрицательной полуволны; φ_r – потенциал покоя; $\Delta\varphi_m$ – трансмембранный потенциал в момент максимума полуволны, $\Delta\varphi_m^L$ – трансмембранный потенциал левой стороны, $\Delta\varphi_m^R$ – трансмембранный потенциал правой стороны; *c* – распределение трансмембранных потенциалов для отрицательной полуволны – B: B_L – левая половина клетки; B_R – правая половина клетки.

ки. На рис. 2, *a* показаны наведенное напряжение φ_n , потенциал покоя φ_r и трансмембранный потенциал $\Delta\varphi_m$ на клетке, $\Delta\varphi_m^L$ – трансмембранный потенциал левой стороны, $\Delta\varphi_m^R$ – трансмембранный потенциал правой стороны в момент максимума положительной полуволны, на рис. 2, *b* – в момент максимума отрицательной полуволны. При действии на миокард положительной полуволны (A) левая сторона миоцита гиперполяризуется (A_L), а правая – деполяризуется (A_R). Отрицательная полуволна (B) вызывает обратную поляризацию: левая сторона деполяризуется (B_L), а правая – гиперполяризуется (B_R). При этом максимум трансмембранной разности потенциалов $\Delta\varphi_m$ для миоцита, находящегося в покое, определяется уравнением:

$$\Delta\varphi_m = \varphi_n - \varphi_r.$$

Таким образом, если считать φ_r равным -90 мВ, левая сторона вначале гиперполяризуется до -255 мВ

depolarized to -7 mV (B_L), whereas the right side is first depolarizing to +75 mV (A_R), and then it is hyperpolarizing to -173 mV (B_R).

In experiments [3] when applying these values E_0 the most calculated transmembrane voltage appearing at the hyperpolarization during the positive half-action, was equal to -255 mV. This voltage might not be sufficient to break the membrane because the value of the breakdown voltage for a pulse duration of 10 ms is 400–600 mV.

The above facts provided reasons to believe that under the influence of external fields on the membrane at a tension 70–100 V/cm, the phenomenon of direct electrical breakdown of membranes can not yet be realized. For the occurrence of a direct electric breakdown phenomena, the voltage should be applied to the membrane at a greater than a certain value. This value of the voltage on the mem-

(A_L), а затем деполяризуется до -7 мВ (B_L), а правая сторона вначале деполяризуется до $+75$ мВ (A_R) и затем гиперполяризуется до -173 мВ (B_R).

В опытах при подаче указанных величин E_0 наибольшее рассчитанное трансмембранное напряжение, возникающее при гиперполяризации во время действия положительной полуволны, равнялось -255 мВ. Это напряжение может оказаться недостаточным для пробоя мембраны, так как величина напряжения пробоя при длительно-сти импульса 10 мс составляет 400 – 600 мВ.

Указанные выше факты дают основание предполагать, что при воздействии на мембрану внешних полей 70 – 100 В/см явление прямого электрического пробоя мембран может еще не реализоваться. Для возникновения явления прямого электрического пробоя нужно, чтобы напряжение, подаваемое на мембрану, было больше некоторого значения. Это значение напряжения на мембране, при котором происходит электрический пробой, называется критическим напряжением пробоя. Если напряжение, подаваемое на мембрану, больше критического значения, то на мембране происходит пробой, и в ней образуются поры.

Эффекты действия электрических полей определяются сложными процессами, происходящими на мембране при действии разряда дефибриллятора. Во-первых, это последовательная гиперполяризация вначале одной стороны, а затем другой стороны мембраны. Во-вторых, это одновременная противоположная поляризация на разных сторонах клетки, с одной стороны гипер-, а с другой стороны — деполяризации. При этом на поверхности мембраны клетки в целом возникают выраженная топографическая и потенциальная неравномерности распределения трансмембранного потенциала (рис. 2). Внешнее электрическое поле, деполяризуя мембрану с одной стороны кардиомиоцита, может прикладываться к внутренним системам клетки — саркоплазматическому ретикулуму и миофибриллам, нарушая их сократительную функцию. В рассмотренном процессе действия на кардиомиоцит биполярного импульса положительная и отрицательная полуволна поочередно деполяризовали соответствующие стороны клетки, вызывая ее полную деполяризацию (рис. 2).

Результат воздействия трех форм импульса импульсного электрического поля на суспензию эритроцитов.

Результат действия двух импульсов не является удвоенным результатом воздействия одного импульса. Как показывает кинетическая кривая 1 и гистограмма, при воздействии двумя импульсами скорость уменьшения числа эритроцитов больше по сравнению со скоростью уменьшения после воздействия одного импульса. Как показывают кинетические кривые 2 и 3, при воздействии двумя разнополярными импульсами скорость

brane, in which the electric breakdown occurs is called «critical voltage of breakdown». If the voltage applied to the membrane exceeds a certain critical value, breakdown of the membrane occurs and pores are formed.

The effects of action of electric fields are determined by complex processes occurring in membrane under the action of defibrillator. Firstly, its a serial hyperpolarization of first one side and then the other side of membrane. Secondly, this is a simultaneous opposite polarization on different sides of a cell, with one side of hyper- and on the other hand — depolarization. Wherein on the surface of cell membrane as a whole there are pronounced topographic and potential unevenness distributions of transmembrane potential (Fig. 2). The external electric field, depolarizing membrane on one side of cardiomyocyte can be applied to the internal systems of a cell — the sarcoplasmic reticulum and myofibrils, altering their contractile function. In the above process of effect of bipolar impulses on cardiomyocyte the positive and negative half-waves alternately depolarized relevant parties of the cell causing its complete depolarization.

The result of influence of three forms of impulse of pulsed electric field in erythrocytes suspension.

The result of the exposure of two impulses does not represent a double action of one impulse. As the kinetic curve 1 and the histogram show, under action of two impulses the speed of decrease of the number of erythrocytes is higher than the speed of reduction after exposure to a single impulses. As the kinetic curves 2 and 3 shows that when membrane is exposed to two different impulses of different polarities, the rate of decreasing of number of erythrocytes is higher compared to reduction of speed after exposure to two unipolar impulses.

The graphs and the kinetic curves show that when the membrane is exposed to two impulses of different polarities, the number of erythrocytes punch is greater than under the impact of two unipolar or one single pulse.

Conclusion

Thus, the following processes are sequentially realized under electrical heart defibrillation:

1. In a first phase, in 1 – 3 ms from the discharge, the external electric field is applied to the membrane of cardiomyocytes, hyperpolarizing its negative side. Defibrillation occurring via the mechanism of electrical breakdown is possible. Since the time of effect of the field on the cell is small, the breakdown voltage must be significant, exceeding 3 – 4 -fold the threshold of defibrillation.

2. In a second stage, after the depolarization occurred, if the latter exceeded the time required to homogeneously repolarize myocardial cells, after a

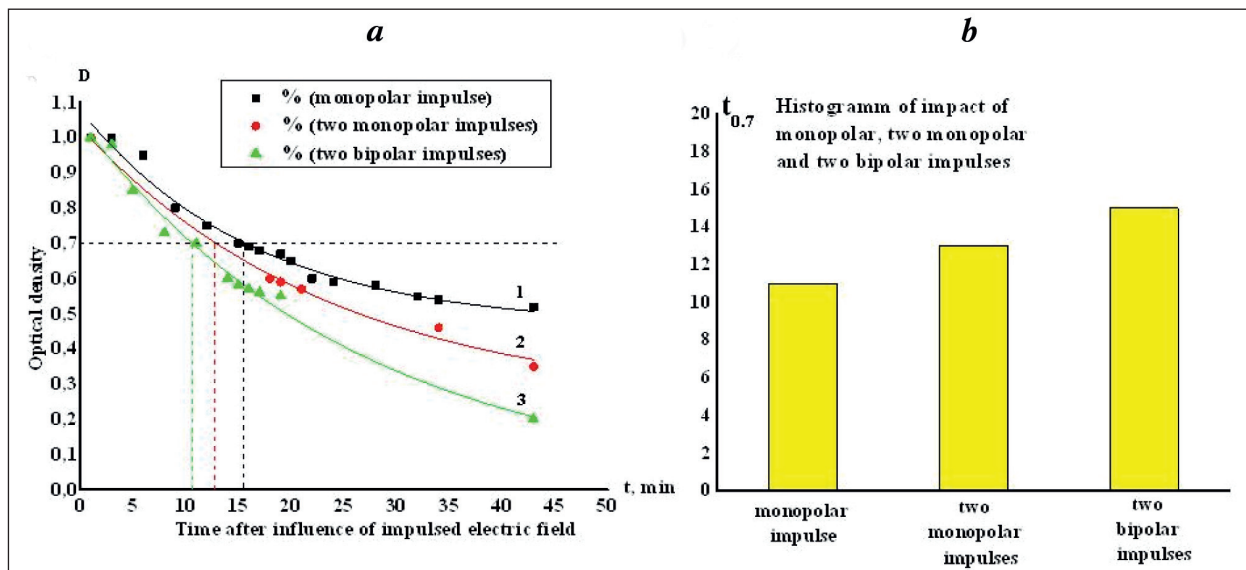


Рис. 3. Кинетические кривые (а) и эффект действия различных форм импульсов: монополярного, двух однополярных и двух разнополярных (b, гистограмма).

Fig. 3. Kinetic curves (a) and effect of impact of different forms of impulses: monopolar impulse, two monopolar and two bipolar impulses (b, Histogramm).

Примечание: D — оптическая плотность суспензии, t, min — время, мин; Time after influence of impulse electric field — время после влияния импульсного электрического поля.

уменьшения числа эритроцитов больше по сравнению со скоростью уменьшения после воздействия двумя однополярными.

Из графиков и кинетических кривых следует, что при воздействии на мембраны двумя разнополярными импульсами, количество пробитых эритроцитов оказывается больше, чем при воздействии двумя однополярными или одиночным импульсом.

Заклучение

Таким образом, при электрической дефибриляции сердца последовательно реализуются следующие процессы.

На первом этапе, в период до 1–3 мс с момента подачи разряда внешнее электрическое поле приложено к мембране кардиомиоцита, гиперполяризуя ее. При этом возможна дефибрилляция по механизму электрического пробоя. Но так как время действия поля на клетку в целом мало, то напряжение пробоя должно быть значительным, в 3–4 раза превышающим порог дефибрилляции.

На втором этапе, после деполяризации, если она превышает время, необходимое для приведения клеток миокарда в состояние адекватной гомогенной реполяризации, после задержки 300–500 мс сердце восстанавливает работу, т.е. реализуется эффект дефибрилляции. Пороговые и умеренные надпороговые величины разрядов столь же эффективны, но не вызывают существенных повреждений миокарда. В этом случае,

delay of 300–500 ms the restoration of heart activity occurred, i.e. the effect of defibrillation was successful. Threshold and moderate pulse magnitudes are equally effective but do not cause significant damage to myocardium. In this case, presumably, the main mechanism of cardiomyocyte membrane depolarization is initiated, and this defibrillation can be considered as an optimal one.

The effects of electrical impact of a single, two monopolar and two bipolar impulses are different, as shown in experiments (Fig. 3). Non-additivity of speeds at a double impact compared to single effect is observed. A single impulse causes less effect of electroporation than two double impulses. Two bipolar impulses more likely cause an effect of electroporation of biological membranes than two unipolar ones.

по-видимому, реализуется механизм деполяризации мембран кардиомиоцитов, и именно такая дефибрилляция может считаться оптимальной.

Эффекты электрического воздействия одиночного, двух однополярных и двух разнополярных импульсов различаются, что показано в экспериментах (рис. 3). Наблюдается неаддитивность скоростей при двухкратном действии по сравнению с однократным. Одиночный импульс вызывает меньший эффект электропорации, чем два двойных. Два разнополярных импульса с большей вероятностью вызывают эффект электропорации биологических мембран по сравнению с двумя однополярными.

Литература

1. Козлова Е.К., Мороз В.В., Богусhevich М.С., Алексеева П.Ю., Черныш А.М. Влияние формы электрического импульса на электропорацию мембран эритроцитов. *Общая реаниматология*. 2005; 1 (1): 42–46. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2005-1-42-46>
2. Гурвич Н.Л. Основные принципы дефибрилляции сердца. М.: Медицина; 1975: 170.
3. Черныш А.М. Биомеханика неоднородности сердечной мышцы. М.: Наука; 1993: 372.
4. Мороз В.В., Богусhevich М.С., Черныш А.М., Козлова Е.К., Шаракишан А.С. Экспериментальное исследование действия дефибриллирующих импульсов разной формы на биологические мембраны. *Бюл. эксперим. биологии и медицины*. 2004; 137 (2): 140–144. <http://dx.doi.org/10.1023/B:BEBM.0000028118.86481.f6>. PMID: 15273753
5. Мороз В.В., Козлова Е.К., Богусhevich М.С., Алексеева П.Ю., Черныш А.М. Влияние перфорана на модифицированные электрическими импульсами мембраны эритроцитов. *Общая реаниматология*. 2005; 1 (3): 5–10. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2005-3-5-10>
6. Генис Р. Биомембраны. М.: Мир; 1997: 624.
7. De Bruin K., Krassowska W. Modeling electroporation in a single cell. I. Effects of field strength and rest potential. *Biophys. J.* 1999; 77 (3): 1213–1224. [http://dx.doi.org/10.1016/S0006-3495\(99\)76973-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0006-3495(99)76973-0). PMID: 10465736
8. Tovar O., Tung L. Electroporation of cardiac cell membranes with monophasic or biphasic rectangular pulses. *Pacing Clin. Electrophysiol.* 1991; (11 Pt 2): 1887–1892. PMID: 1721194
9. Walcott G.P., Killingsworth C.R., Ideker R.E. Do clinically relevant transthoracic energies cause myocardial damage and dysfunction? *Resuscitation*. 2003; 59 (1): 59–70. [http://dx.doi.org/10.1016/S0300-9572\(03\)00161-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0300-9572(03)00161-8). PMID: 14580735
10. Wenzel V., Voelckel W.G., Krismer A.C., Mayr V.D., Strohmenger H.U., Baubin M.A., Wagner-Berger H., Stallinger A., Lindner K.H.; American Heart Association; European Resuscitation Council. The new international guidelines for cardiopulmonary resuscitation: an analysis and comments on the most important changes. *Anaesthesist*. 2001; 50 (5): 342–357. PMID: 11417270
11. Богусhevich М.С., Востриков В.А., Черныш А.М. Экспериментальные и теоретические проблемы электрической дефибрилляции сердца. *Вестн. РАМН*. 1997; 10: 36–44.
12. Востриков В.А., Сыркин А.Л., Холин П.В., Разумов К.В. Внутрибольничная дефибрилляция желудочков сердца: эффективность биполярного квазисинусоидального импульса. *Кардиология*. 2003; 43 (12): 51–58. PMID: 14671552
13. Мороз В.В., Богусhevich М.С., Востриков В.А., Козлова Е.К., Черныш А.М. Влияние формы высоковольтного импульса на эффект дефибрилляции. *Анестезиология и реаниматология*. 2002; 6: 60–63. PMID: 12611162
14. Мороз В.В., Голубев А.М., Черныш А.М., Козлова Е.К., Васильев В.Ю., Гудкова О.Е., Сергунова В.А., Федорова М.С. Изменения структуры поверхности мембран эритроцитов при длительном хранении донорской крови. *Общая реаниматология*. 2012; 8 (1): 5–12. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2012-1-5>
15. Чазов Е.И., Голицын С.П. Руководство по нарушениям ритмов сердца. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2010: 409.
16. Мороз В.В., Голубев А.М., Козлова Е.К., Афанасьев А.В., Гудкова О.Е., Новодержкина И.С., Марченков Ю.В., Кузовлев А.Н., Заржецкий Ю.В., Костин А.И., Волков Д.П., Яковлев В.Н. Динамика морфологических изменений эритроцитов и биохимических показателей консервированной цельной крови в различные сроки хранения. *Общая реаниматология*. 2013; 9 (1): 5–13. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-1-5>
17. Мороз В.В., Черныш А.М., Богусhevich М.С., Козлова Е.К., Ближнюк У.А., Алексеева П.Ю., Козлов А.П. Скрытые повреждения эритроцитарных мембран при физических и фармакологических воздействиях. *Общая реаниматология*. 2006; 2 (5–6): 55–60. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2006-6-55-60>

Поступила 22.05.15

References

1. Kozlova E.K., Moroz V.V., Bogushevich M.S., Alekseyeva P.Yu., Chernysh A.M. Vliyaniye formy elektricheskogo impulsa na elektroporatsiyu membran eritrotsitov. *Obshchaya Reanimatologiya*. [Impact of electrical pulse pattern on red blood cell membranous electroporation. *General Reanimatology*]. 2005; 1 (1): 42–46. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2005-1-42-46>. [In Russ.]
2. Gurvich N.L. Osnovnye printsipy defibrillyatsii serdtsa. [The basic principles of defibrillation]. Moscow: Meditsina Publishers; 1975: 170. [In Russ.]
3. Chernysh A.M. Biomekhanika neodnorodnosti serdechnoi myshtsy. [Biomechanics heterogeneity of the heart muscle]. Moscow: Nauka; 1993: 372. [In Russ.]
4. Moroz V.V., Bogushevich M.S., Chernysh A.M., Kozlova E.K., Sharakshane A.S. Eksperimentalnoye issledovaniye deistviya defibrilliruyushchikh impulsov raznoi formy na biologicheskie membrany. [Effect of defibrillation pulses of different shapes on biомembranes: experimental study]. *Byulleten Eksperimentalnoi Biologii i Meditsiny*. 2004; 137 (2): 120–123. <http://dx.doi.org/10.1023/B:BEBM.0000028118.86481.f6>. PMID: 15273753. [In Russ.]
5. Moroz V.V., Kozlova E.K., Bogushevich M.S., Alekseyeva P.Yu., Chernysh A.M. Vliyaniye perforana na modifitsirovannye elektricheskimi impulsami membrany eritrotsitov. *Obshchaya Reanimatologiya*. [Effect of perfluorane on electric pulse-modified red blood cell membranes. *General Reanimatology*]. 2005; 1 (3): 5–10. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2005-3-5-10>. [In Russ.]
6. Gennis R. Biomembrany. [Biomembranes]. Moscow: Mir; 1997: 624. [In Russ.]
7. De Bruin K., Krassowska W. Modeling electroporation in a single cell. I. Effects of field strength and rest potential. *Biophys. J.* 1999; 77 (3): 1213–1224. [http://dx.doi.org/10.1016/S0006-3495\(99\)76973-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0006-3495(99)76973-0). PMID: 10465736
8. Tovar O., Tung L. Electroporation of cardiac cell membranes with monophasic or biphasic rectangular pulses. *Pacing Clin. Electrophysiol.* 1991; (11 Pt 2): 1887–1892. PMID: 1721194
9. Walcott G.P., Killingsworth C.R., Ideker R.E. Do clinically relevant transthoracic energies cause myocardial damage and dysfunction? *Resuscitation*. 2003; 59 (1): 59–70. [http://dx.doi.org/10.1016/S0300-9572\(03\)00161-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0300-9572(03)00161-8). PMID: 14580735
10. Wenzel V., Voelckel W.G., Krismer A.C., Mayr V.D., Strohmenger H.U., Baubin M.A., Wagner-Berger H., Stallinger A., Lindner K.H.; American Heart Association; European Resuscitation Council. The new international guidelines for cardiopulmonary resuscitation: an analysis and comments on the most important changes. *Anaesthesist*. 2001; 50 (5): 342–357. PMID: 11417270
11. Bogushevich M.S., Vostrikov V.A., Chernysh A.M. Eksperimentalnye i teoreticheskie problemy elektricheskoi defibrillyatsii serdtsa. [Experimental and theoretical problems of electrical defibrillation]. *Vestnik RAMN*. 1997; 10: 36–44. [In Russ.]
12. Vostrikov V.A., Syrkin A.L., Kholin P.V., Razumov K.V. Vnutribolnichnaya defibrillyatsiya zheludochkov serdtsa: effektivnost bipolyarnogo kvazisinusoidalnogo impulsa. [Inpatient cardiac defibrillation: efficacy of bipolar sinusoidal impulse]. *Kardiologiya*. 2003; 43 (12): 51–58. PMID: 14671552. [In Russ.]
13. Moroz V.V., Bogushevich M.S., Vostrikov V.A., Kozlova E.K., Chernysh A.M. Vliyaniye formy vysokovoltynogo impulsa na effekt defibrillyatsii. [The shape of high-voltage impulse and the effect of defibrillation]. *Anesteziology i Reanimatologiya*. 2002; 6: 60–63. PMID: 12611162. [In Russ.]
14. Moroz V.V., Golubev A.M., Chernysh A.M., Kozlova E.K., Vasilyev V.Yu., Gudkova O.E., Sergunova V.A., Fedorova M.S. Izmeneniya struktury poverkhnosti membran eritrotsitov pri dlitelnom khraneni dонorskoi 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.]
15. Chazov E.I., Golitsyn S.P. Rukovodstvo po narusheniyam ritmov serdtsa. [Guidelines for heart rhythm disturbances]. Moscow: GEOTAR-Media; 2010: 409. [In Russ.]
16. Moroz V.V., Golubev A.M., Kozlova E.K., Afanasyev A.V., Gudkova O.E., Novodержкина 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 razlichnyye 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.]
17. Moroz V.V., Chernysh A.M., Bogushevich M.S., Kozlova E.K., Bliznyuk U.A., Alekseyeva P.Yu., Kozlov A.P. Skrytye povrezhdeniya eritrotsitarnykh membran pri fizicheskikh i farmakologicheskikh vozdeystviyakh. *Obshchaya Reanimatologiya*. [Occult erythrocytic membrane damages upon physical and pharmacological exposures. *General Reanimatology*]. 2006; 2 (5–6): 55–60. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2006-6-55-60>. [In Russ.]

Submitted 22.05.15

НЕЙРОПРОТЕКТИВНАЯ РОЛЬ ОСНОВНОГО ФАКТОРА РОСТА ФИБРОБЛАСТОВ bFGF ПРИ ИШЕМИЧЕСКОМ ПОВРЕЖДЕНИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА (ОБЗОР)

И. В. Острова, М. Ш. Аврущенко

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

Neuroprotective Role of Basic Fibroblast Growth Factor in Ischemic Brain Lesion: a Review

I. V. Ostrova, M. Sh. Avrushchenko

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

Обзор посвящен одному из наиболее известных представителей семейства нейротрофических факторов – основному фактору роста фибробластов bFGF. Обсуждаются его функции в ЦНС в норме и при патологическом воздействии, некоторые механизмы нейропротективного действия, терапевтический потенциал bFGF для лечения функциональных и структурных нарушений нервной системы при ишемии головного мозга различной этиологии, а также при нейродегенеративных заболеваниях. Рассмотрены альтернативные способы доставки этого белка к поврежденным областям головного мозга.

Ключевые слова: нейротрофические факторы; bFGF; нейропротекция; ишемия-реперфузия; гистология; иммуногистохимия

The review deals with basic fibroblast growth factor (bFGF), one of the most known representatives of the family of neurotrophic factors. It discusses its function in the central nervous system in health and disease, some mechanisms of neuroprotective action, the therapeutic potential of bFGF for the treatment of functional and structural disorders of the nervous system in brain ischemia of different etiologies, and in neurodegenerative diseases. Alternative routes for delivery of this protein to injured cerebral regions are considered.

Key words: neurotrophic factors; basic fibroblast growth factor; neuroprotection; ischemia-reperfusion; histology; immunohistochemistry

DOI:10.15360/1813-9779-2015-6-48-60

Введение

Нейропротекция является важной составляющей нейрореанимационной интенсивной терапии. Доказанным и очевидным нейропротекторным действием обладает только гипотермия, причем это абсолютно справедливо только для пациентов с остановкой сердца и новорожденных с ишемически-гипоксическим перинатальным повреждением мозга [1].

Среди обширного поля исследований, посвященных поиску эффективных способов борьбы с постгипоксическими энцефалопатиями, существует множество работ, направленных на

Introduction

Neuroprotection is an important component of neurocare. Only hypothermia has demonstrated proven and obvious neuroprotective potential. This is absolutely true only for patients with cardiac arrest and neonatal hypoxic-ischemic perinatal brain injury [1].

Among numerous studies dedicated to searching effective ways to fight posthypoxic encephalopathy, there are many investigations dealing with various neurotrophic factors (neurotrophins) and their participation in the protection of neurons during ischemic brain injury.

Адрес для корреспонденции:

Ирина Острова
E-mail: irinaostrova@mail.ru

Correspondence to:

Irina Ostrova
E-mail: irinaostrova@mail.ru

изучение различных нейротрофических факторов, их участия в защите нейронов при ишемическом повреждении головного мозга.

Нейротрофические факторы — это эндогенные белки, которые играют существенную роль в поддержании, выживании и дифференцировке различных нейрональных популяций в развивающемся и зрелом мозге. 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 [2].

В исследованиях *in vitro* и *in vivo* было показано, что нейротрофические факторы могут ослаблять повреждающее действие ишемии, а также участвуют в репаративных процессах, таких как аксональная регенерация, нейрональная пластичность и нейрогенез [3].

В связи с этим применение нейротрофических факторов весьма перспективно для предупреждения и коррекции нарушений, вызванных ишемией-реперфузией.

Семейство факторов роста фибробластов (fibroblast growth factors — FGF) относится к нейротрофическим факторам и представляет собой группу многофункциональных сигнальных молекул с самым разнообразным действием. У млекопитающих семейство FGF состоит из 22-х структурно родственных белков, которые участвуют в органогенезе, ремоделировании ткани, контроле нервной системы, ангиогенезе и регулировании обмена веществ. В зависимости от способа действия, механизма секреции и конечного биологического результата семейство FGF делят на несколько подсемейств. В подсемейство FGF1 входят белки FGF1 и FGF2 [4]. Основной фактор роста фибробластов — the basic fibroblast growth factor (bFGF или FGF2) наиболее распространен в центральной нервной системе по сравнению с другими членами семейства FGF [5]. Он представляет собой полипептид 18kDa с мощным трофическим действием на нейроны, глию и эндотелиальные клетки. Ключевые функции bFGF в нервной системе сходны с функциями нейротрофинов. bFGF участвует в нейрогенезе, дифференцировке нейронов, глиогенезе, стимуляции роста аксонов. В норме bFGF участвует в синаптической пластичности мозга и процессах обучения и памяти [5, 6]. При нейрональном повреждении bFGF повышает выживаемость нейронов, улучшает региональный мозговой кровоток и спраутинг нейронов (от англ. sprouting, т.е. «прорастание» аксонов) [7–10]. Спраутинг — это процесс восстановления в периферической нервной системе, характеризующийся отрастанием новых ветвей от аксонов нервных волокон, что обуслов-

Neurotrophins are endogenous proteins playing essential role in 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 [2].

In vitro and *in vivo* studies shown that trophic factors may attenuate ischemic injury, also participate in brain repair-associated processes such as neurogenesis, gliogenesis, oligodendrogenesis, synaptogenesis and angiogenesis. Therefore the use of neurotrophic factors seems very promising for the prevention and correction of disorders caused by ischemia-reperfusion.

The fibroblast growth factor (FGF) family is a group of multifunctional signaling molecules possessing different activities. In mammals, the FGF family is comprised of 22 structurally related proteins with a wide variety of functions contributing to organogenesis, tissue modeling, nervous system control, angiogenesis and regulation of metabolism. Although structurally related, FGFs exhibit diverse modes of action, mechanisms of secretion and ultimate biological consequences. The proteins have been grouped into several subfamilies, each sharing both genetic and functional similarity. FGF1 and FGF2 belong to FGF1 subfamily [4]. The basic fibroblast growth factor (bFGF or FGF-2) is most common in the central nervous system [5]. It represents a 18 kDa polypeptide with potent trophic effects on brain neurons, glia and endothelial cells. Key functions of bFGF in the nervous system are similar to the neurotrophins. They participate in neurogenesis, differentiation, gliogenesis, stimulation of neurite outgrowth. Normally bFGF is involved in the synaptic plasticity of the brain, learning and memory [5, 6]. In neuronal damage bFGF improves regional cerebral blood flow and sprouting of axons and survival of neurons [7–10]. In ischemic brain damage bFGF plays a pilot role.

Role of bFGF During Ischemia

Endogenous bFGF. Ischemia induces the activation of bFGF expression. It was shown that in normal brain tissue bFGF is expressed at low levels but several hours after focal cerebral ischemia the bFGF protein levels are increasing in the peri-infarct brain regions [11–13].

Immunohistochemical studies demonstrated increases of bFGF expression in both striatum and fronto-parietal cortex after focal cerebral ischemia (2-hour middle cerebral artery occlusion — MCAO) and 24-h reperfusion [13]. Interestingly, in the striatum bFGF-like immunoreactivity was mainly locat-

ливают пластичность нейрональной ткани и формирует механизмы, участвующие в восстановлении нарушенных неврологических функций. bFGF играет важную роль при ишемическом повреждении мозга.

Роль bFGF при ишемии

Эндогенный bFGF. При ишемическом воздействии происходит активация экспрессии bFGF. Так, например, было показано, что в норме в ткани головного мозга уровень bFGF довольно низок, но уже через несколько часов после очаговой ишемии его уровень резко возрастает в перинфарктных областях [11-13].

Иммуногистохимические исследования выявили повышение экспрессии bFGF в стриатуме и лобно-теменной коре через 24-ч после фокальной церебральной ишемии (2-х часовая окклюзия средней мозговой артерии — МСАО) [13]. Интересно, что в стриатуме в основном были иммунореактивны астроциты, а в коре — нейроны. Предполагается, что в стриатуме астроциты могут играть важную роль в защите нейронов, вырабатывая повышенное количество bFGF; в то время как в коре нейроны, вероятно, проявляют свойство самозащиты (self-repare), увеличивая выработку этого белка.

С помощью Northern-blot-анализа было выявлено повышение уровня bFGF мРНК и белка bFGF в коре и гиппокампе крыс, перенесших ишемический инсульт, вызванный 60 мин окклюзией правой мозговой артерии и общих каротидных артерий. При этом уровень экспрессии bFGF мРНК оставался повышенным в течение 2-х недель после ишемии [12]. С помощью разных методов (иммуноблоттинг, гибридизация *in situ*, иммуногистохимия) исследовали экспрессию bFGF в мозге взрослых крыс после фокального инфаркта, вызванного перманентной МСАО [11]. Через 1 сутки было выявлено 4-х кратное увеличение bFGF мРНК в ткани, окружающей область инфаркта (перинфарктная область). Гибридизация *in situ* показала, что рост экспрессии происходил в нескольких структурах ипсилатерального полушария, в том числе в лобно-теменной, височной и поясной коре, а также в хвостатом ядре, бледном шаре, ядрах перегородки, прилежащем ядре, и обонятельном бугорке. Повышенная экспрессия bFGF мРНК в этих структурах была связана с клетками, имеющими отчетливые морфологические признаки астроглии. При иммуногистохимическом исследовании было обнаружено увеличение размера и числа bFGF-иммунореактивных ядер в этих структурах, а также переход от ядерной к ядерно-цитоплазматической локализации иммунореактивности, начиная с 1 суток, достигая пика к 3 суткам после ишемии. Двойное иммуногистохимическое окра-

ed in astrocytes, whereas in frontoparietal cortex strong induction of bFGF-like immunoreactivity was mostly observed in neurons. It is assumed that in striatum, astrocytes may play an important role in the protection of neurons via the overexpression of bFGF; whereas in cortex, neurons probably exert an autoprotection through expressing bFGF.

Northern blot analysis showed an increase in bFGF mRNA and protein bFGF within the ischemic cortex and hippocampus of rats subjected to 60 min ischemic insult induced by transient occlusion of the right middle cerebral artery and both common carotid arteries. bFGF mRNA remained elevated for up to 2 weeks after the onset of reperfusion [12].

Northern blotting, *in situ* hybridization, and immunohistochemical techniques were used to examine bFGF expression in brain following focal infarction due to permanent occlusion of the proximal middle cerebral artery in mature rats [11]. After 1 day a 4-fold increase in bFGF mRNA in the tissue surrounding the infarct area (peri-infarction area) was revealed. *In situ* hybridization showed that this increase was found throughout several structures in the ipsilateral hemisphere, including frontoparietal, temporal, and cingulate cortex, as well as in caudoputamen, globus pallidus, septal nuclei, nucleus accumbens, and olfactory tubercle. Increased bFGF mRNA expression was associated with cells possessing distinct morphological appearance of astroglia in these structures. Immunohistochemistry showed an increase in the size and number of bFGF-immunoreactive nuclei in these same structures, as well as a shift from nuclear to nuclear plus cytoplasmic localization of immunoreactivity beginning on day 1 and peaking on day 3 after ischemia. Double immunostaining identified bFGF-immunoreactive cells as astroglia in these structures. An exception was the piriform cortex, in which both increased bFGF mRNA levels and increased bFGF-immunoreactivity were found in neurons on day 1 after ischemia. Overall, the peak of increased bFGF expression preceded the peak in expression of the astroglial marker GFAP within the ipsilateral hemisphere. Increased bFGF expression may play an important role in the glial, neuronal, and vascular changes occurring after focal infarction.

Significance of bFGF in neuronal protection has been shown recently in a rat model of cardiac arrest [14]. Histological study revealed cerebellar Purkinje cell death on the 7th day after resuscitation, as evidenced by a decrease in the total density by 13.2%. Immunohistochemical study demonstrated that the number of bFGF-negative Purkinje cells in resuscitated rats was reduced by 68.8%, and the total number of bFGF-positive cells did not differ from the control level. The number of moderately positive neurons was reduced by 26.0%, while the number of strongly positive Purkinje cells increased by 40.7%. We

шивание выявило наличие иммунореактивности к bFGF в клетках астроглии. Исключением была периформная кора, в нейронах которой наблюдался повышенный уровень bFGF мРНК и белка bFGF. В целом, пик экспрессии bFGF предшествовал пику экспрессии астроглиального маркера GFAP в ипсилатеральном полушарии. Эти данные свидетельствуют о том, что повышенная экспрессия bFGF может играть важную роль в глиальных, нейрональных и сосудистых изменениях, происходящих при очаговом инфаркте.

Значение bFGF для защиты нейронов недавно было показано и на модели временной остановки сердца у крыс [14]. Гистологическое исследование выявило гибель клеток Пуркинье мозжечка на 7-е сутки после реанимации. Об этом свидетельствовало снижение их общего числа на 13,2% в сравнении с контролем. Иммуногистохимическое исследование уровня экспрессии белка bFGF показало, что у реанимированных крыс в сравнении с контролем число bFGF-негативных клеток Пуркинье снижалось на 68,8%, а общее число bFGF-позитивных клеток не отличалось от контрольного уровня. При этом число умеренно позитивных нейронов было уменьшено (на 26,0%), а число сильно позитивных клеток Пуркинье увеличено (на 40,7%). Учитывая полученные данные, можно заключить, что у реанимированных животных происходил «переход» слабо экспрессирующих клеток в категорию сильно экспрессирующих, вследствие чего уровень экспрессии у bFGF в популяции клеток Пуркинье возрастал. Эти данные позволяют предположить, что выпадение нейронов в постреанимационном периоде связано с потерей bFGF-негативных, т.е. не экспрессирующих bFGF, нейронов. Следовательно, способность нейронов к экспрессии bFGF является важным фактором их устойчивости к ишемии-реперфузии.

В пользу этого предположения свидетельствуют и данные, полученные на других моделях ишемии. Так, снижение уровня экспрессии bFGF в секторе CA1 гиппокампа после временной ишемии переднего мозга сопровождалось гибелью пирамидных нейронов [15]. На модели 2-х часовой двусторонней МСАО у крыс было показано, что внутривенное введение анестетика пропофола до реперфузии приводит к уменьшению объема инфаркта и отека мозга, а также неврологического дефицита. При этом экспрессия bFGF мРНК и белка bFGF в областях, окружающих зону инфаркта, у крыс с введением пропофола была выше, чем у животных с введением плацебо [16]. С активацией экспрессии bFGF, а также ряда других факторов роста (IGF1, TGFbeta1, EGF and PDGF-A), связывают и положительные эффекты ишемического preconditionирования [17]. Значимость эндогенного bFGF при ишемии головного мозга (МСАО) была продемонстрирована у

assumed that the «transition» of poorly expressing cells to the category of strongly expressing occurred in resuscitated animals that resulted in increased bFGF expression in the Purkinje cell population. These data suggested that the loss of neurons postresuscitation associated with the loss of bFGF-negative, i.e., not expressing bFGF, neurons. Consequently, the ability of neurons to express bFGF is important for their resistance to ischemia-reperfusion.

This assumption evidenced by data obtained in other models of ischemia. Thus, the reduced expression of bFGF in the hippocampal CA1 sector following transient forebrain ischemia was accompanied by pyramidal neurons loss [15].

In a bilateral carotid artery occlusion model in rats anesthetic propofol was shown to reduce infarct volume, cerebral edema, and neurological deficits. Expression of bFGF mRNA and protein bFGF in peri-infarcted areas in rats with administration of propofol was higher than in animals with administration of placebo [16]. Positive effects of ischemic preconditioning were also associated with activation of the expression of bFGF as well as other growth factors — IGF1, TGFbeta1, EGF and PDGF-A [17]. The importance of endogenous bFGF in cerebral ischemia (MCAO) was demonstrated in mice with null mutation of the bFGF gene [18]. bFGF knockout mice have higher mortality and increased infarct volume versus wild type littermates.

Exogenous bFGF. It was shown that exogenous bFGF improved the structural and functional brain state after ischemia [19–21]. Fujiwara et al. [22] evaluated effects of grafting encapsulated bFGF-secreting cells in rat brains 7 days prior to permanent right MCAO. The authors found that the infarct volume in the group with transplantation was reduced compared to control. The number of apoptotic cells in the penumbral ischemic zone also decreased.

Infusion of bFGF into the common carotid artery after left MCAO in rats resulted in a significant decrease in infarct size and increase in cerebral blood flow [10]. Intraventricular infusion of recombinant adenovirus vector expressing bFGF on day 2 after focal cerebral ischemia in rats reduced infarct volume and improved neurological function [20]. bFGF injection to rats with MCAO improved neurological recovery and promoted the preservation of cholinergic neurons in the hippocampus [21].

Together, the data provide the evidence that bFGF is important for neuroprotection suggesting the bFGF as crucial target gene for developing new therapeutic strategies in brain ischemia.

The Mechanisms of bFGF Neuroprotection

Positive effects of bFGF are related to its ability to inhibit the activity of pro-inflammatory factors

мышей с нулевой мутацией гена bFGF [18]. Оказалось, что у bFGF-нокаутных мышей по сравнению с мышами дикого типа была выше смертность и больше размеры области инфаркта.

Экзогенный bFGF. Показано, что экзогенное введение bFGF улучшает структурно-функциональное состояние мозга после ишемии [19-21]. Fujiwara et al. [22] проведено исследование для оценки эффекта пересадки инкапсулированных фибробластов, секретирующих bFGF, в мозг крыс за 7 суток до правосторонней МСАО. Обнаружено, что объем инфаркта в группе с пересадкой был снижен по сравнению с контрольными группами. Также уменьшалось число апоптотических клеток в зоне ишемической полутени.

Введение bFGF в каротидную артерию после окклюзии левой средней мозговой артерии у крыс приводило к значительному уменьшению зоны инфаркта и к увеличению мозгового кровотока [10]. Внутривенное введение ассоциированного с аденовирусом bFGF через 2 ч после очаговой ишемии мозга также снижало размеры очага поражения и улучшало неврологическую функцию у крыс [20]. Инъекция bFGF крысам, перенесшим ишемию (двусторонняя окклюзия общих сонных артерий) улучшала неврологическое восстановление и способствовала сохранению холинергических нейронов гиппокампа [21]. Приведенные выше данные свидетельствуют о нейропротективных свойствах bFGF.

Механизмы нейропротективного действия bFGF

Позитивные эффекты bFGF связывают с его способностью ингибировать активность провоспалительных факторов [23], а также усиливать нейрогенез стволовых клеток после ишемии [19, 24]. Полагают, что bFGF способствует восстановлению мозга после ишемии, увеличивая пролиферацию нервных стволовых клеток и их дифференцировку в нейроны, астроциты и олигодендроциты. bFGF играет важную роль в компенсаторной реакции «self-repair» при травме и ишемии головного мозга и участвует в восстановлении поврежденной ткани [25]. С клинической точки зрения, его выраженная роль в поддержании поврежденных нейронов (например, после ишемии или перерезки нервных волокон) имеет особое значение. При исследовании механизмов, лежащих в основе нейротрофического и защитного действия bFGF, было установлено, что он стабилизирует внутриклеточный гомеостаз ионов кальция, активирует антиоксидантные ферменты и снижает глутамат-опосредованную эксайтотоксичность [26]. Показано, что bFGF подавляет экспрессию рецепторов NMDA, уменьшает избыточное накопление внутриклеточного кальция и свободных радикалов [7-10]. Защитные свойства

[23], а также усиливают стволовую клеточную нейрогенез после ишемии [19, 24]. Оно считается, что bFGF поощряет восстановление после церебральной ишемии, увеличивая пролиферацию нервных стволовых клеток и их дифференцировку в нейроны, астроциты и олигодендроциты. bFGF играет важную роль в реакции «self-repair», которая происходит после травм и ишемии мозга, и что bFGF способствует восстановлению поврежденной ткани [25]. С клинической точки зрения, его выраженная роль в поддержании поврежденных нейронов (например, после ишемии или перерезки нервных волокон) имеет особое значение. Исследования механизмов, лежащих в основе защитного и нейротрофического действия bFGF, показали, что bFGF стабилизирует внутриклеточный кальций, активирует антиоксидантные ферменты и снижает глутамат-опосредованную эксайтотоксичность [26]. Оно ингибирует экспрессию рецепторов NMDA, уменьшает избыточное накопление внутриклеточного кальция и свободных радикалов [7-10]. Защитные свойства

Некоторые другие нейротрофические факторы могут быть медиаторами bFGF нейропротективного действия [9, 18]. Используя глутамат-обработанные культивированные гиппокампальные нейроны Lenhard et al. [9] показали, что bFGF делит его нейропротективную способность с глиальным нейротрофическим фактором (GDNF). Гиппокампальные нейроны экспрессируют GDNF, его рецепторы c-Ret и липид-закрепленный GDNF семейный рецептор-α1 (GFRα1), и рецептор bFGF (FGFR1). bFGF защищал нейроны от эксайтотоксического действия глутамата. Таким образом, нейтрализующие антитела к GDNF отменили нейропротективный эффект bFGF. bFGF увеличивал экспрессию GDNF и GFRα1 в гиппокампальных нейронах, что вызвало усиленную фосфорилировку c-Ret и сигнальных компонентов Akt и Erk. Оно считается, что предполагаемая нижестоящая мишень bFGF и GDNF — это белки семейства bcl-2, чьи мРНК дифференциально регулируются этими двумя факторами.

Было найдено, что активация PI3K/Akt сигнального пути защищает мозг от ишемического повреждения, ингибируя экспрессию генов, участвующих в нарушении проницаемости сосудов, апоптозе и воспалении [27-29]. Akt блокирует BAD и Bax транслокацию через митохондриальную мембрану, тем самым предотвращая высвобождение митохондриального цитохрома C и активацию каспазы [29, 30]. Akt субстратом был идентифицирован богатый пролином субстрат Akt (PRAS). Его взаимодействие с Akt может ингибировать процесс апоптотической гибели нейронов, вызванной фокальной церебральной ишемией [31]. Не было активации brain-derived neurotrophic factor (BDNF) экспрессии и его рецептора TrkB в гиппокампе во время церебральной ишемии (МСАО) у мышей с делизией гена bFGF [18]. Это вызвало более высокую смертность и большую зону инфаркта в bFGF-нокаутных мышах по сравнению с дикими типами.

bFGF связывают также с его способностью ингибировать активность воспалительных факторов [23], а также активизировать нейрогенез [19, 24].

Медиаторами нейропротективного действия bFGF могут быть некоторые другие нейротрофические факторы [9, 18]. Lenhard et al. [9] на обработанной глутаматом культуре нейронов гиппокампа показали, что глиальный нейротрофический фактор GDNF опосредует нейропротективное действие bFGF. Нейроны гиппокампа экспрессируют GDNF, его рецепторы c-Ret и GFRalpha-1, а также рецептор bFGF (FGFR1). bFGF защищал нейроны от эксайтотоксического действия глутамата. При этом антитела к GDNF отменяли нейропротективный эффект bFGF. Введение bFGF приводило к увеличению уровня GDNF и GFRalpha-1 в нейронах гиппокампа, что в свою очередь вызывало повышенное фосфорилирование белка C-Ret и сигнальных компонентов протеин-киназ Akt и Erk. Полагают, что мишенью для bFGF и GDNF являются члены семейства Bcl-2 генов, экспрессия которых избирательно повышается этими двумя факторами. Установлено, что активация PI3K/Akt сигнального пути защищает мозг от ишемического повреждения путем ингибирования экспрессии генов, отвечающих за проницаемость сосудов, апоптоз и воспаление [27-29]. Akt блокирует транслокацию BAD and Bax через мембрану митохондрий, тем самым предотвращая высвобождение митохондриального цитохрома C и активацию каспаз [29, 30]. Был выявлен субстрат Akt — proline-rich-Akt substrate (PRAS). Его взаимодействие с Akt может ингибировать процесс апоптотической гибели нейронов, вызванной фокальной ишемией головного мозга [31]. Выявлено, что у мышей с делецией гена bFGF [18] не происходит активации экспрессии мозгового нейротрофического фактора BDNF и его рецептора TrkB в гиппокампе при ишемии головного мозга (МСАО). С этим связана, по мнению авторов, более высокая смертность и большая площадь инфаркта у нокаутных мышей по сравнению с мышами дикого типа.

Как было установлено ранее, способность к экспрессии белков BDNF и GDNF является фактором, повышающем устойчивость нейронов гибели в постишемическом периоде [32, 33]. Полученные данные показывают, что BDNF и TrkB могут быть генами-мишенями для bFGF и вместе с GDNF опосредовать защитное действие bFGF на клетки головного мозга.

Роль bFGF в нейрогенезе

Известно, что стволовые/прогениторные клетки сохраняются в ЦНС взрослого организма. В зрелом мозге нейрогенез происходит в двух областях, а именно, субвентрикулярной зоне (sub-

As stated previously, the capacity for proteins expression of BDNF and GDNF is a factor that increases the resistance of neurons to death in postischemic period [32, 33]. These data indicate that BDNF and TrkB as target genes for bFGF in concert with GDNF may mediate protective effect of bFGF in brain cells.

The Role of bFGF in Neurogenesis

It is known that stem/progenitor cells reside throughout the adult CNS. Neurogenesis occurs in two regions of the adult brain, namely, the subventricular zone (SVZ) throughout the wall of the lateral ventricle and the subgranular zone (SGZ) of the dentate gyrus (DG) in hippocampal formation. Adult neurogenesis requires several neurotrophic factors to sustain and regulate the proliferation and differentiation of the adult stem cell population. Mudo al. [34] examined the cellular and functional aspects of a trophic system mediated by bFGF and its receptors (FGFRs) related to neurogenesis in the SVZ and SGZ of the adult rat brain. In the SVZ bFGF expressed in GFAP-positive cells (i.e. mature astrocytes), but not in proliferating progenitor cells, which express receptors FGFR1 and FGFR2. Apparently, astrocytes produce bFGF, which in turn acts on the proliferating progenitor cells. With aging, their proliferation in the SVZ and SGZ reduced. The authors believe that this may be due to alterations of fibroblast growth factor levels. The trophic system mediated by bFGF and its receptors contributes to creating micro-environmental niche that promotes neurogenesis in the adult and aged brain [34].

It has been found that neurogenic capacity is enhanced following traumatic brain injury and brain ischemia. For example, focal brain ischemia causes proliferation of neural progenitors in the SVZ and SGZ and neurogenesis in the peri-infarcted cortex of monkeys and rats [35, 36]. Therefore, the adult brain has the inherent potential to restore neuronal populations lost in injury. This raises the possibility of developing strategies aimed at harnessing the neurogenic capacity of these regions to repair the damaged brain. One strategy is enhancing neurogenesis with mitogenic factors.

Since bFGF is a potent stem cell mitogen, its role in neurogenesis during brain ischemia is intensively studied [8, 19, 37, 38].

To determine the effect of bFGF on the proliferation and differentiation of neural stem cells after cerebral ischemia-induced cellular changes, a model of bilateral occlusion of the carotid arteries in the SVZ of 3-day-old rats was deployed [8]. It was found that the number of proliferating cells in rats following administration of bFGF increased compared with control animals with no bFGF administration. In this study, bFGF also promoted differentiation of stem cells into neurons, astrocytes and oligodendrocytes.

ventricular zone — SVZ) стенки бокового желудочка и субгранулярной зоне (subgranular zone — SGZ) зубчатой извилины (dentate gyrus — DG) в гиппокампе. При нейрогенезе требуется несколько нейротрофических факторов для поддержания и регулирования пролиферации и дифференцировки популяции стволовых клеток. В работе Мудо др. [34] рассмотрены клеточные и функциональные аспекты трофической системы, опосредованной bFGF и его рецепторами (FGFRs), связанные с нейрогенезом в SVZ и SGZ мозга взрослой крысы. В SVZ bFGF экспрессируется в GFAP-позитивных клетках (т.е. в зрелых астроцитах), но не в пролиферирующих клетках-предшественниках, которые экспрессируют рецепторы FGFR1 и FGFR2. По-видимому, именно астроциты вырабатывают bFGF, который в свою очередь действует на пролиферирующие клетки-предшественники. С возрастом их пролиферация в SVZ и SGZ снижается. По мнению авторов, это может быть следствием изменений уровня экспрессии фактора роста фибробластов. Трофическая система, опосредованная bFGF и его рецепторами, способствует формированию условий, обеспечивающих нейрогенез в зрелом мозге [34].

Обнаружено, что способность к нейрогенезу повышается после травматического повреждения головного мозга, а также после ишемии мозга. Показано, например, что фокальная ишемия мозга вызывает пролиферацию нейрональных прогениторов в SVZ и SGZ и нейрогенез в перинфарктной коре крыс и обезьян [35, 36]. Следовательно, зрелый мозг имеет внутренний потенциал для восстановления нейрональных популяций. С этим предположением связана разработка стратегий, направленных на усиление способности данных областей к репарации поврежденного мозга. Одной из таких стратегий является усиление нейрогенеза с помощью митогенных факторов.

В связи с тем, что bFGF является митогеном для стволовых клеток ЦНС, его роль в нейрогенезе при ишемии головного мозга активно исследуется [8, 19, 37, 38]. Так, для изучения действия bFGF на пролиферацию и дифференцировку нервных стволовых клеток после ишемии мозга исследовали клеточные изменения в SVZ 3-х дневных крысят с билатеральной окклюзией каротидных артерий [8]. Оказалось, что число пролиферирующих клеток у крысят с введением bFGF увеличивалось по сравнению с группой без введения bFGF. bFGF также способствовал дифференцировке стволовых клеток в нейроны, астроциты и олигодендроциты. Показано, что внутрижелудочковая инфузия bFGF в течение 7 дней после травмы головного мозга у взрослых крыс увеличивала пролиферацию клеток в SVZ и DG [37]. Существенно, что усиление нейрогенеза с помощью bFGF ускоряло восстановление когни-

Intraventricular infusion of bFGF for 7 days immediately following traumatic brain injury in adult rats increased cell proliferation in the SVZ and DG [37]. Additionally, animals infused with bFGF showed significant cognitive improvement. In another study, rats with permanent MCAO were administered with the adenovirus encoding bFGF directly to the damaged area [19]. This resulted in increased bFGF expression in the damaged area, raising the number of proliferating cells in the SVZ, corpus callosum, and peri-infarction zone, and led to improved motor behavior in rats. Studies have found that the progenitor cells first divided in the SVZ, then migrate into the infarct zone, where they continue to divide for a long time (90 days).

Considerable importance is the question of whether bFGF retains capability to enhance neurogenesis in the aged ischemic brain. Since stroke in human is much more common in older people than among younger adults, addressing this problem is most clinically important issue in elderly.

Neuroprotective properties of bFGF depend on the age. In a study by Won et al. [38] aged (24-month-old) rats were treated with intracerebroventricular infusion of bFGF or vehicle for 3 days, beginning 48hr before (pre-ischemia), 24 hr after (early post-ischemia), or 96 hr after (late post-ischemia) 60 min MCAO and were killed 10 days after ischemia. Young adult (3-month-old) rats were administered with bFGF for 3 days starting 24 hours after MCAO. Aged rats given bFGF pre-ischemia showed improved behavioral and histological parameters compared to rats treated with vehicle, but no significant improvement was found in aged rats given bFGF after focal ischemia. In contrast, young adult rats treated with bFGF post-ischemia showed significant neurobehavioral improvement and better histological outcome. The numbers of «newborn» neurons in the SVZ were also found to be increased in aged rats treated with bFGF prior to ischemia. However, unlike in young adult ischemic rats, only a few of newly generated cells migrated into the damaged region in aged brain after focal ischemia. Therefore, the positive effects of bFGF in aged rats are associated with neuroprotection, but not with the ability to enhance neurogenesis. Such age differences in the response of aged versus young adult rats to bFGF in cerebral ischemia need to be considered in developing novel neuroprotective agents to prevent and/or fight stroke.

Therapeutic Potential of bFGF

Despite the encouraging results obtained in experimental studies of bFGF, the problem of its clinical use remains unsolved. Clinical trials with bFGF were not very successful. 15 years ago a multicenter randomized trial of bFGF (European-Australian phase II/III trial with bFGF (5–10 mg, i.v. infusion over 24 h) started. It was planned to

тивных функций мозга. У крыс с перманентной МСАО в область повреждения вводили аденовирус со встроенным геном bFGF [19]. Это вызывало повышение экспрессии bFGF в поврежденной области, увеличение числа пролиферирующих клеток в SVZ, мозолистом теле и перинфарктной зоне, а также улучшение двигательной активности у крыс. В ходе исследований было обнаружено, что прогениторные клетки вначале делятся в SVZ, затем мигрируют в зону инфаркта, где продолжают деление в течение длительного периода времени (до 90 суток).

Существенное значение имеет вопрос о том, сохраняет ли bFGF способность усиливать нейрогенез при старении. Значимость этой проблемы для клиники обусловлена тем, что нарушения мозгового кровообращения гораздо чаще развиваются у пожилых людей.

Интересно, что, в зависимости от возраста, нейротропные свойства bFGF проявляются по-разному. Так, в исследовании Won et al. [38] 24-месячным (старым) крысам проводили внутрижелудочковую инфузию bFGF или плацебо в течение 3 дней, начиная с 48 ч до 60-ти мин МСАО, или после нее (через 24 ч или 96 ч). 3-х месячным (молодым половозрелым) крысам вводили bFGF в течение 3 дней, начиная с 24 ч после МСАО. Существенно, что у старых крыс улучшение поведенческих и гистологических показателей было выявлено только в группе с предварительным введением bFGF. У молодых крыс позитивные эффекты выявлены при введении bFGF после ишемии. У старых крыс с введением bFGF до ишемии число новообразованных нейронов в SVZ увеличивалось, однако, в отличие от молодых крыс, только немногие из новых клеток мигрировали в область повреждения. Следовательно, у старых крыс положительный эффект bFGF связан именно с его нейротропными свойствами, а не со способностью к усилению нейрогенеза. Выявленные возрастные различия в эффектах bFGF должны учитываться при разработке нейротропной терапии инсультов.

Терапевтический потенциал bFGF

Несмотря на вдохновляющие результаты, полученные при экспериментальных исследованиях bFGF, проблема его использования в клинической практике остается нерешенной. Испытания bFGF в клинике оказались не очень успешными. Так, 15 лет назад было начато многоцентровое рандомизированное исследование bFGF (Европейско-Австралийская испытание, фаза II/III), в которое планировали включить 900 пациентов с симптомами острого ишемического инсульта. В группе больных с острым ишемическим инсультом (286 человек) внутривенное введение bFGF не приво-

include 900 patients with symptoms of acute ischemic stroke. Intravenous administration of bFGF to 286 patients did not produce any significant neuroprotection; instead it caused dose-dependent hypotension and high mortality rate. This study was stopped by sponsors due to negative effects [39].

It should be noted that bFGF, as well as other neurotrophic factors (nerve growth factor, glia-derived neurotrophic factor), possesses side effects, such as hyperalgesia [40]. Another problem is the delivery of bFGF into the brain to achieve a pharmacologically significant level of therapeutics in the brain while minimizing side effects in the periphery. bFGF is a cationic peptide that undergoes transport across the BBB at a modest rate via absorptive-mediated transcytosis after intravenous administration. The objectives of researchers are to develop a BBB targeting strategy of drug delivery to the brain.

One of these strategies is the use of a chimeric peptide, wherein a nontransportable peptide drug, such as a neurotrophin, is conjugated to another peptide or protein that functions as a brain drug delivery carrier or vector. The model vector is a monoclonal antibody against transferrin receptor. The transferrin receptors are expressed on the brain capillary endothelial cells, which make up of the BBB. The binding of a conjugate of this antibody and neurotrophin to the transferrin receptor triggers receptor-mediated transcytosis through the BBB. This strategy has been successfully used for BBB delivery of several neurotrophins or peptide drugs, for which enhanced CNS pharmacologic effects or neuroprotection have been consistently demonstrated in a variety of animal models including brain ischemia [41].

In experiments with intravenous administration of bFGF-chimeric peptide (biotinylated recombinant human protein bFGF, preserving affinity to receptor and having improved pharmacokinetics in plasma and BBB permeability) in rats with permanent MCAO the therapeutic dose bFGF was reduced from 135–200g/kg to 25g/kg, and its neuroprotective effect was significantly increased (80% reduction in infarct volume) [41].

Although the results of chimeric peptide approach to the treatment of experimental brain ischemia are very promising, there is still a gap between the laboratory studies and clinical application of the chimeric neurotrophin peptide for treatment of patients with acute ischemic stroke. One of the concerns is the immunogenicity of the anti-transferrin receptor antibody that is used as the BBB peptide drug delivery vector. This problem can be solved or ameliorated by the use of humanized antibody via genetic engineering. Humanized antibodies are less likely to provoke an immune reaction in human subjects compared to murine-derived antibodies.

The intranasal route of bFGF administration could provide an alternative to intracerebroventricular

дило к значимой нейропротекции, при этом наблюдалась дозозависимая гипотензия и высокий уровень смертности. В связи с этим исследование было остановлено спонсорами [39].

Нельзя не отметить, что у bFGF, также как и у других нейротрофических факторов (фактор роста нервов, глиальный нейротрофический фактор) имеются побочные эффекты, в частности, гипералгезия [40].

Другой проблемой является доставка bFGF в мозг для достижения фармакологически значимого уровня в головном мозге при минимизации побочных эффектов на периферии. bFGF — катионный пептид, который при внутривенном введении плохо транспортируется через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ). В задачи исследователей входит разработка ГЭБ-направленной стратегии доставки препарата в мозг.

Одной из таких стратегий является создание химерных белков — технология, при которой не-транспортабельные пептиды, такие как, нейтрофины, конъюгируются с другими пептидами или белками, которые осуществляют их перенос или доставку в мозг. Одним из таких векторов доставки является антитело к рецептору трансферрина. Трансферриновые рецепторы экспрессируются в эндотелиальных клетках головного мозга, которые входят в состав ГЭБ. Связывание конъюгата этого антитела и нейротрофина с рецептором трансферрина вызывает рецептор-опосредованный транцитоз через ГЭБ. Такая стратегия была успешно использована на различных животных моделях, включая ишемию мозга, для доставки в мозг некоторых нейротрофинов и пептидных препаратов. Это вызывало усиление фармакологического эффекта и нейропротективного действия этих веществ [41].

Так, в опытах с внутривенным введением bFGF-химерного пептида (белок bFGF, конъюгированный с рецептором трансферрина) крысам с перманентной МСАО удалось снизить терапевтическую дозу bFGF с 135–200 г/кг до 25 г/кг, а также значительно увеличить его нейропротективный эффект (80%-е уменьшение объема инфаркта) [41]. Это объясняется его высокой аффинностью к специфическому рецептору, улучшенной фармакокинетикой в плазме крови и проницаемостью ГЭБ.

Несмотря на то, что результаты использования химерных пептидов для лечения экспериментальной ишемии головного мозга весьма перспективны, существует большой разрыв между этими лабораторными исследованиями и клиническим применением химерных пептидов для лечения пациентов с острым ишемическим инсультом. Одна из проблем — это иммуногенность антитела к рецептору трансферрина, который используется в качестве вектора доставки лекарственного средст-

в infusion. Thus, intranasal administration of bFGF in rats for 1–6 days following MCAO resulted in improved behavioral performance, increased proliferation of progenitor cells in the SGZ and SVZ, although it had no effect on infarct volume. Interestingly, proliferating cells in the striatum and dentate gyrus differentiated into neurons at 28 days after MCAO. Intranasal administration of bFGF is considered as a non-invasive method for the treatment of stroke [24].

bFGF nasal spray appears to be an emerging potential therapeutic approach to neurodegenerative diseases, such as Alzheimer's disease. Intranasal administration of bFGF nasal spray was an effective means of delivering bFGF to the brain. Its penetration into the brain was improved, that reduced the severity of neurological disorders caused by co-administration of β -amyloid and ibotenic acid into the hippocampus of rats [42]. In addition, bFGF improved spatial memory, recovered acetylcholinesterase and choline acetyltransferase activity to the sham control level, and alleviated neuronal degeneration in rat hippocampus.

Delivery of neurotrophic factors to the brain may also be improved by using nanoparticles. Chitosan nanoparticles were loaded with peptide like bFGF and then functionalized by conjugating with antibodies directed against the transferrin receptor-1 on brain endothelia to induce receptor-mediated transcytosis across the BBB [43]. Pre-ischemic systemic administration of bFGF-loaded nanoparticles significantly decreased the infarct volume after 2-hour middle cerebral artery occlusion and 22-hour reperfusion in mice.

A study was conducted to evaluate the effects of grafting encapsulated bFGF-secreting cells in rat brains 7 day before permanent right MCAO. The authors found that the infarct volume in bFGF group was reduced by approximately 30% compared with that in the control groups. In the ischemic penumbral area, the number of apoptotic cells in the bFGF group was significantly decreased compared with that in the other groups. Thus, the grafting encapsulated bFGF-secreting cells protected neurons against ischemic brain damage [22]. The use of bFGF is very promising for the development of alternative therapeutic strategies in treatment of Parkinson's disease. In animal model of Parkinson's disease, co-transplantation of bFGF-expressing cells with fetal dopaminergic cells increased survival and functional integration of the grafted dopaminergic neurons resulting in improved behavioral performance [44].

Conclusion

Over the past two decades a large number of experimental studies of neuroprotective potential of bFGF was performed. It was discovered that the ability of neurons to express bFGF is important for their resistance to ischemia-reperfusion. Administration of bFGF improves the functional and structural state of

ва через ГЭБ. Эта проблема может быть решена за счет использования человеческих антител, которые с меньшей вероятностью вызовут иммунную реакцию у человека, чем мышинные антитела.

Альтернативой внутрижелудочковой инфузии bFGF может быть его интраназальное введение. Так, интраназальное введение bFGF крысам в течение 1–6 суток после МСАО приводило к улучшению поведенческих показателей, к усилению пролиферации прогениторных клеток SVZ и SGZ, хотя и не влияло на размеры инфаркта. Интересно, что в стриатуме и зубчатой извилине к 28 суткам после МСАО пролиферирующие клетки дифференцировались в нейроны. Интраназальное введение bFGF рассматривается как неинвазивный способ лечения инсульта [24].

bFGF назальный спрей обладает высоким потенциалом для лечения болезни Альцгеймера. При этом способе введения bFGF улучшалось его проникновение в мозг, что уменьшало выраженность неврологических нарушений, вызванных совместным введением β -амилоида и иботеновой кислоты в гиппокамп крыс [42]. Кроме того, bFGF улучшал пространственную память, восстанавливал активность ацетилхолинэстеразы и холинацетилтрансферазы, снижал дегенерацию нейронов гиппокампа.

Доставка нейротрофических факторов в мозг может быть также улучшена с помощью наночастиц. Yemisci et al. [43] загружали хитозановые наночастицы пептидом bFGF, затем их конъюгировали с антителами против трансферринового рецептора. Предварительное введение bFGF-загруженных наночастиц приводило к значительному уменьшению объема инфаркта через 22 часа после 2 ч МСАО у мышей.

Проведено исследование для оценки эффекта пересадки инкапсулированных клеток, секретирующих bFGF, в мозг крыс за 7 сут до правосторонней МСАО. Обнаружено, что объем инфаркта в группе с пересадкой был снижен на 30% по сравнению с контрольными группами, также уменьшалось число апоптотических клеток в зоне ишемической полутени. Таким образом, пересадка инкапсулированных клеток, секретирующих bFGF, защищала нейроны мозга от ишемического повреждения [22]. Использование bFGF весьма перспективно и для разработки

the brain in the post-ischemic period. bFGF is a promising candidate for the development of alternative treatments for neurodegenerative diseases such as Parkinson's disease and Alzheimer's disease. One of the key functions of bFGF is its involvement in the processes of neurogenesis. However, the questions are remained that include which neurons are generated during ischemia, whether they migrate into the damaged areas, and how these processes are associated with the restoration of brain function. One of the major remaining problems is improving the delivery of bFGF into the brain while minimizing its side effects.

альтернативной терапевтической стратегии при лечении болезни Паркинсона. На экспериментальных моделях болезни Паркинсона показано, что совместная трансплантация bFGF-экспрессирующих клеток с фетальными дофаминэргическими клетками повышала выживание и функциональную интеграцию дофаминэргическими нейронами, что приводило к улучшению поведенческих показателей [44].

Заключение

За последние два десятилетия было проведено большое количество экспериментальных исследований нейропротективного потенциала bFGF. Установлено, что способность нейронов к экспрессии bFGF является важным фактором их устойчивости к ишемии-реперфузии. Его экзогенное введение улучшает функциональное и структурное состояние мозга в постишемическом периоде. bFGF — перспективный кандидат для разработки альтернативных методов лечения нейродегенеративных заболеваний, таких как болезнь Паркинсона и болезнь Альцгеймера. Одной из ключевых функций bFGF является его участие в процессах нейрогенеза. Однако остаются нерешенными вопросы о том, какие именно нейроны генерируются при ишемии, мигрируют ли они в поврежденные области, и как эти процессы связаны с восстановлением функции мозга. Одной из главных задач в настоящее время является разработка способов улучшения доставки bFGF в головной мозг при минимизации его побочных эффектов.

Литература

1. Попугаев К.А., Савин И.А., Ошоров А.В. Новые аспекты реаниматологии в неврологии и нейрохирургии. *Общая реаниматология*. 2014; 10 (6): 55–64. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2014-6-55-64>
2. 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
3. Gutiérrez-Fernández M., Fuentes B., Rodríguez-Frutos B., Ramos-Cejudo J., Vallejo-Cremades M.T., Díez-Tejedor E. Trophic factors and cell therapy to stimulate brain repair after ischaemic stroke. *J. Cell Mol. Med.* 2012; 16 (10): 2280–2290. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1582-4934.2012.01575.x>. PMID: 22452968

References

1. Popugaev K.A., Savin I.A., Oshorov A.V. Novye aspekty reanimatologii v neurologii i neurokhirurgii. *Obshchaya Reanimatologiya*. [New aspects of resuscitation in neurology and neurosurgery. *General Reanimatology*]. 2014; 10 (6): 55–64. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2014-6-55-64> [In Russ.]
2. 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
3. Gutiérrez-Fernández M., Fuentes B., Rodríguez-Frutos B., Ramos-Cejudo J., Vallejo-Cremades M.T., Díez-Tejedor E. Trophic factors and cell therapy to stimulate brain repair after ischaemic stroke. *J. Cell Mol. Med.* 2012; 16 (10): 2280–2290. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1582-4934.2012.01575.x>. PMID: 22452968

Review

4. Imamura T. Physiological functions and underlying mechanisms of fibroblast growth factor (FGF) family members: recent findings and implications for their pharmacological application. *Biol. Pharm. Bull.* 2014; 37(7): 1081–1089. PMID: 24988999
5. Zechel S., Werner S., Unsicker K., von Bohlen und Halbach O. Expression and functions of fibroblast growth factor 2 (FGF-2) in hippocampal formation. *Neuroscientist.* 2010; 16 (4): 357–373. <http://dx.doi.org/10.1177/1073858410371513>. PMID: 20581332
6. Avet-Rochex A., Kaul A.K., Gatt A.P., McNeill H., Bateman J.M. Concerted control of gliogenesis by InR/TOR and FGF signalling in the Drosophila post-embryonic brain. *Development.* 2012; 139 (15): 2763–2772. <http://dx.doi.org/10.1242/dev.074179>. PMID: 22745312
7. Chen J., Li Y., Katakowski M., Chen X., Wang L., Lu D., Lu M., Gautam S.C., Chopp M. Intravenous bone marrow stromal cell therapy reduces apoptosis and promotes endogenous cell proliferation after stroke in female rat. *J. Neurosci. Res.* 2003; 73 (6): 778–786. <http://dx.doi.org/10.1002/jnr.10691>. PMID: 12949903
8. Jin-qiao S., Bin S., Wen-hao Z., Yi Y. Basic fibroblast growth factor stimulates the proliferation and differentiation of neural stem cells in neonatal rats after ischemic brain injury. *Brain Dev.* 2009; 31 (5): 331–340. <http://dx.doi.org/10.1016/j.braindev.2008.06.005>. PMID: 18657919
9. Lenhard T., Schober A., Suter-Crazzolara C., Unsicker K. Fibroblast growth factor-2 requires glial-cell-line-derived neurotrophic factor for exerting its neuroprotective actions on glutamate-lesioned hippocampal neurons. *Mol. Cell. Neurosci.* 2002; 20 (2): 181–197. <http://dx.doi.org/10.1006/mcne.2002.1134>. PMID: 12093153
10. Tanaka R., Miyasaka Y., Yada K., Ohwada T., Kameya T. Basic fibroblast growth factor increases regional cerebral blood flow and reduces infarct size after experimental ischemia in a rat model. *Stroke.* 1995; 26 (11): 2154–2158. <http://dx.doi.org/10.1161/01.STR.26.11.2154>. PMID: 7482665
11. Speliotis E.K., Caday C.G., Do T., Weise J., Kowall N.W., Finklestein S.P. Increased expression of basic fibroblast growth factor (bFGF) following focal cerebral infarction in the rat. *Brain Res. Mol. Brain Res.* 1996; 39 (1–2): 31–42. [http://dx.doi.org/10.1016/0169-328X\(95\)00351-R](http://dx.doi.org/10.1016/0169-328X(95)00351-R). PMID: 8804711
12. Lin T.N., Te J., Lee M., Sun G.Y., Hsu C.Y. Induction of basic fibroblast growth factor (bFGF) expression following focal cerebral ischemia. *Brain Res. Mol. Brain Res.* 1997; 49 (1–2): 255–265. PMID: 9387885
13. Wei O.Y., Huang Y.L., Da C.D., Cheng J.S. Alteration of basic fibroblast growth factor expression in rat during cerebral ischemia. *Acta Pharmacol. Sin.* 2000; 21 (4): 296–300. PMID: 11324453
14. Аврущенко М.Ш., Острова И.В., Зарзхетский Ю.В., Мороз В.В., Гудашева Т.А., Середенин С.Б. Влияние миметика фактора роста нервов ГК-2 на постреанимационную экспрессию нейротрофических факторов. *Патол. физиология и эксперим. медицина.* 2015; 2: 13–18.
15. Okada T., Kataoka Y., Takeshita A., Mino M., Morioka H., Kusakabe K.T., Kondo T. Effects of transient forebrain ischemia on the hippocampus of the Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*): an immunohistochemical study. *Zoolog. Sci.* 2013; 30 (6): 484–489. <http://dx.doi.org/10.2108/zsj.30.484>. PMID: 23725314
16. Zhao X.C., Zhang L.M., Tong D.Y., An P., Jiang C., Zhao P., Chen W.M., Wang J. Propofol increases expression of basic fibroblast growth factor after transient cerebral ischemia in rats. *Neurochem. Res.* 2013; 38 (3): 530–537. <http://dx.doi.org/10.1007/s11064-012-0945-4>. PMID: 23247820
17. Naylor M., Bowen K.K., Sailor K.A., Dempsey R.J., Vemuganti R. Preconditioning-induced ischemic tolerance stimulates growth factor expression and neurogenesis in adult rat hippocampus. *Neurochem. Int.* 2005; 47 (8): 565–572. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuint.2005.07.003>. PMID: 16154234
18. Kiprianova I., Schindowski K., von Bohlen und Halbach O., Krause S., Dono R., Schwanninger M., Unsicker K. Enlarged infarct volume and loss of BDNF mRNA induction following brain ischemia in mice lacking FGF-2. *Exp. Neurol.* 2004; 189 (2): 252–260. <http://dx.doi.org/10.1016/j.expneurol.2004.06.004>. PMID: 15380477
19. Leker R.R., Soldner F., Velasco I., Gavin D.K., Androutsellis-Theotokis A., McKay R.D. Long-lasting regeneration after ischemia in the cerebral cortex. *Stroke.* 2007; 38 (1): 153–161. PMID: 17122419
20. Watanabe T., Okuda Y., Nonoguchi N., Zhao M.Z., Kajimoto Y., Furutama D., Yukawa H., Shibata M.A., Otsuki Y., Kuroiwa T., Miyatake S. Postischemic intraventricular administration of FGF-2 expressing adenoviral vectors improves neurologic outcome and reduces infarct volume after transient focal cerebral ischemia in rats. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2004; 24 (11): 1205–1213. <http://dx.doi.org/10.1097/01.WCB.0000136525.75839.41>. PMID: 15545913
21. Ye J., Lin H., Mu J., Cui X., Ying H., Lin M., Wu L., Weng J., Lin X. Effect of basic fibroblast growth factor on hippocampal cholinergic neurons in a rodent model of ischaemic encephalopathy. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* 2010; 107 (6): 931–939. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1742-7843.2010.00603.x>. PMID: 20618306
22. Fujiwara K., Date I., Shingo T., Yoshida H., Kobayashi K., Takeuchi A., Yano A., Tamiya T., Ohmoto T. Reduction of infarct volume and apoptosis to stimulate brain repair after ischaemic stroke. *J. Cell Mol. Med.* 2012; 16 (10): 2280–2290. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1582-4934.2012.01575.x>. PMID: 22452968
4. Imamura T. Physiological functions and underlying mechanisms of fibroblast growth factor (FGF) family members: recent findings and implications for their pharmacological application. *Biol. Pharm. Bull.* 2014; 37(7): 1081–1089. PMID: 24988999
5. Zechel S., Werner S., Unsicker K., von Bohlen und Halbach O. Expression and functions of fibroblast growth factor 2 (FGF-2) in hippocampal formation. *Neuroscientist.* 2010; 16 (4): 357–373. <http://dx.doi.org/10.1177/1073858410371513>. PMID: 20581332
6. Avet-Rochex A., Kaul A.K., Gatt A.P., McNeill H., Bateman J.M. Concerted control of gliogenesis by InR/TOR and FGF signalling in the Drosophila post-embryonic brain. *Development.* 2012; 139 (15): 2763–2772. <http://dx.doi.org/10.1242/dev.074179>. PMID: 22745312
7. Chen J., Li Y., Katakowski M., Chen X., Wang L., Lu D., Lu M., Gautam S.C., Chopp M. Intravenous bone marrow stromal cell therapy reduces apoptosis and promotes endogenous cell proliferation after stroke in female rat. *J. Neurosci. Res.* 2003; 73 (6): 778–786. <http://dx.doi.org/10.1002/jnr.10691>. PMID: 12949903
8. Jin-qiao S., Bin S., Wen-hao Z., Yi Y. Basic fibroblast growth factor stimulates the proliferation and differentiation of neural stem cells in neonatal rats after ischemic brain injury. *Brain Dev.* 2009; 31 (5): 331–340. <http://dx.doi.org/10.1016/j.braindev.2008.06.005>. PMID: 18657919
9. Lenhard T., Schober A., Suter-Crazzolara C., Unsicker K. Fibroblast growth factor-2 requires glial-cell-line-derived neurotrophic factor for exerting its neuroprotective actions on glutamate-lesioned hippocampal neurons. *Mol. Cell. Neurosci.* 2002; 20 (2): 181–197. <http://dx.doi.org/10.1006/mcne.2002.1134>. PMID: 12093153
10. Tanaka R., Miyasaka Y., Yada K., Ohwada T., Kameya T. Basic fibroblast growth factor increases regional cerebral blood flow and reduces infarct size after experimental ischemia in a rat model. *Stroke.* 1995; 26 (11): 2154–2158. <http://dx.doi.org/10.1161/01.STR.26.11.2154>. PMID: 7482665
11. Speliotis E.K., Caday C.G., Do T., Weise J., Kowall N.W., Finklestein S.P. Increased expression of basic fibroblast growth factor (bFGF) following focal cerebral infarction in the rat. *Brain Res. Mol. Brain Res.* 1996; 39 (1–2): 31–42. [http://dx.doi.org/10.1016/0169-328X\(95\)00351-R](http://dx.doi.org/10.1016/0169-328X(95)00351-R). PMID: 8804711
12. Lin T.N., Te J., Lee M., Sun G.Y., Hsu C.Y. Induction of basic fibroblast growth factor (bFGF) expression following focal cerebral ischemia. *Brain Res. Mol. Brain Res.* 1997; 49 (1–2): 255–265. PMID: 9387885
13. Wei O.Y., Huang Y.L., Da C.D., Cheng J.S. Alteration of basic fibroblast growth factor expression in rat during cerebral ischemia. *Acta Pharmacol. Sin.* 2000; 21 (4): 296–300. PMID: 11324453
14. Аврущенко М.Ш., Острова И.В., Зарзхетский Ю.В., Мороз В.В., Гудашева Т.А., Середенин С.Б. Влияние миметика фактора роста нервов ГК-2 на постреанимационную экспрессию нейротрофических факторов. *Патол. физиология и эксперим. медицина.* 2015; 2: 13–18.
15. Okada T., Kataoka Y., Takeshita A., Mino M., Morioka H., Kusakabe K.T., Kondo T. Effects of transient forebrain ischemia on the hippocampus of the Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*): an immunohistochemical study. *Zoolog. Sci.* 2013; 30 (6): 484–489. <http://dx.doi.org/10.2108/zsj.30.484>. PMID: 23725314
16. Zhao X.C., Zhang L.M., Tong D.Y., An P., Jiang C., Zhao P., Chen W.M., Wang J. Propofol increases expression of basic fibroblast growth factor after transient cerebral ischemia in rats. *Neurochem. Res.* 2013; 38 (3): 530–537. <http://dx.doi.org/10.1007/s11064-012-0945-4>. PMID: 23247820
17. Naylor M., Bowen K.K., Sailor K.A., Dempsey R.J., Vemuganti R. Preconditioning-induced ischemic tolerance stimulates growth factor expression and neurogenesis in adult rat hippocampus. *Neurochem. Int.* 2005; 47 (8): 565–572. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuint.2005.07.003>. PMID: 16154234
18. Kiprianova I., Schindowski K., von Bohlen und Halbach O., Krause S., Dono R., Schwanninger M., Unsicker K. Enlarged infarct volume and loss of BDNF mRNA induction following brain ischemia in mice lacking FGF-2. *Exp. Neurol.* 2004; 189 (2): 252–260. <http://dx.doi.org/10.1016/j.expneurol.2004.06.004>. PMID: 15380477
19. Leker R.R., Soldner F., Velasco I., Gavin D.K., Androutsellis-Theotokis A., McKay R.D. Long-lasting regeneration after ischemia in the cerebral cortex. *Stroke.* 2007; 38 (1): 153–161. PMID: 17122419
20. Watanabe T., Okuda Y., Nonoguchi N., Zhao M.Z., Kajimoto Y., Furutama D., Yukawa H., Shibata M.A., Otsuki Y., Kuroiwa T., Miyatake S. Postischemic intraventricular administration of FGF-2 expressing adenoviral vectors improves neurologic outcome and reduces infarct volume after transient focal cerebral ischemia in rats. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2004; 24 (11): 1205–1213. <http://dx.doi.org/10.1097/01.WCB.0000136525.75839.41>. PMID: 15545913
21. Ye J., Lin H., Mu J., Cui X., Ying H., Lin M., Wu L., Weng J., Lin X. Effect of basic fibroblast growth factor on hippocampal cholinergic neurons in a rodent model of ischaemic encephalopathy. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* 2010; 107 (6): 931–939. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1742-7843.2010.00603.x>. PMID: 20618306
22. Fujiwara K., Date I., Shingo T., Yoshida H., Kobayashi K., Takeuchi A., Yano A., Tamiya T., Ohmoto T. Reduction of infarct volume and apoptosis

- sis by grafting of encapsulated basic fibroblast growth factor-secreting cells in a model of middle cerebral artery occlusion in rats. *J. Neurosurg.* 2003; 99 (6): 1053–1062. <http://dx.doi.org/10.3171/jns.2003.99.6.1053>. PMID: 14705734
23. Zhang M., Ma Y.F., Gan J.X., Jiang G.Y., Xu S.X., Tao X.L., Hong A., Li J.K. Basic fibroblast growth factor alleviates brain injury following global ischemia reperfusion in rabbits. *J. Zhejiang Univ. Sci. B.* 2005; 6 (7): 637–643. <http://dx.doi.org/10.1631/jzus.2005.B0637>. PMID: 15973765
 24. Wang Z.L., Cheng S.M., Ma M.M., Ma Y.P., Yang J.P., Xu G.L., Liu X.F. Intranasally delivered bFGF enhances neurogenesis in adult rats following cerebral ischemia. *Neurosci. Lett.* 2008; 446 (1): 30–35. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neulet.2008.09.030>. PMID: 18822350
 25. Martinez G., Di Giacomo C., Sorrenti V., Camazza M.L., Ragusa N., Barcellona M.L., Vanella A. Fibroblast growth factor-2 and transforming growth factor-beta1 immunostaining in rat brain after cerebral postischemic reperfusion. *J. Neurosci. Res.* 2001; 63 (2): 136–142. PMID: 11169623
 26. Mattson M.P. Neuroprotective signal transduction: relevance to stroke. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 1997; 21 (2): 193–206. [http://dx.doi.org/10.1016/S0149-7634\(96\)00010-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0149-7634(96)00010-3). PMID: 9062943
 27. Blum S., Issbrücker K., Willuweit A., Hehlhans S., Lucerna M., Mechtcheriakova D., Walsh K., von der Ahe D., Hofer E., Claus M. An inhibitory role of the phosphatidylinositol 3-kinase-signaling pathway in vascular endothelial growth factor-induced tissue factor expression. *J. Biol. Chem.* 2001; 276 (36): 33428–33434. <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.M105474200>. PMID: 11445586
 28. Williams D.L., Ozment-Skelton T., Li C. Modulation of the phosphoinositide 3-kinase signaling pathway alters host response to sepsis, inflammation, and ischemia/reperfusion injury. *Shock.* 2006; 25 (5): 432–439. <http://dx.doi.org/10.1097/01.shk.0000209542.76305.55>. PMID: 16680006
 29. Zhao H., Sapolsky R.M., Steinberg G.K. Phosphoinositide-3-kinase/akt survival signal pathways are implicated in neuronal survival after stroke. *Mol. Neurobiol.* 2006; 34 (3): 249–270. <http://dx.doi.org/10.1385/MN:34:3:249>. PMID: 17308356
 30. Noshita N., Lewén A., Sugawara T., Chan P.H. Evidence of phosphorylation of Akt and neuronal survival after transient focal cerebral ischemia in mice. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2001; 21 (12): 1442–1450. <http://dx.doi.org/10.1097/00004647-200112000-00009>. PMID: 11740206
 31. Saito A., Narasimhan P., Hayashi T., Okuno S., Ferrand-Drake M., Chan P.H. Neuroprotective role of a proline-rich Akt substrate in apoptotic neuronal cell death after stroke: relationships with nerve growth factor. *J. Neurosci.* 2004; 24 (7): 1584–1593. <http://dx.doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5209-03.2004>. PMID: 14973226
 32. Острова И.В., Аврущенко М.Ш. Экспрессия мозгового нейротрофического фактора (BDNF) повышает устойчивость нейронов к гибели в постреанимационном периоде. *Общая реаниматология.* 2015; 11 (3): 45–53. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2015-3-45-53>
 33. Аврущенко М.Ш., Острова И.В., Волков А.В. Постреанимационные изменения экспрессии глимального 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>
 34. Mudò G., Bonomo A., Di Liberto V., Frinchi M., Fuxe K., Belluardo N. The FGF-2/FGFRs neurotrophic system promotes neurogenesis in the adult brain. *J. Neural. Transm.* 2009; 116 (8): 995–1005. <http://dx.doi.org/10.1007/s00702-009-0207-z>. PMID: 19291360
 35. Kuge A., Takemura S., Kokubo Y., Sato S., Goto K., Kayama T. Temporal profile of neurogenesis in the subventricular zone, dentate gyrus and cerebral cortex following transient focal cerebral ischemia. *Neurol. Res.* 2009; 31 (9): 969–976. <http://dx.doi.org/10.1179/174313209X383312>. PMID: 19138475
 36. Tonchev A.B. Brain ischemia, neurogenesis, and neurotrophic receptor expression in primates. *Arch. Ital. Biol.* 2011; 149 (2): 225–231. <http://dx.doi.org/10.4449/aib.v149i2.1368>. PMID: 21701994
 37. Sun D., Bullock M.R., McGinn M.J., Zhou Z., Altememi N., Hagood S., Hamm R., Colello R.J. Basic fibroblast growth factor-enhanced neurogenesis contributes to cognitive recovery in rats following traumatic brain injury. *Exp. Neurol.* 2009; 216 (1): 56–65. <http://dx.doi.org/10.1016/j.expneurol.2008.11.011>. PMID: 19100261
 38. Won S.J., Xie L., Kim S.H., Tang H., Wang Y., Mao X., Banwait S., Jin K. Influence of age on the response to fibroblast growth factor-2 treatment in a rat model of stroke. *Brain Res.* 2006; 1123 (1): 237–244. PMID: 17064673
 39. Bogousslavsky J., Victor S.J., Salinas E.O., Pallay A., Donnan G.A., Fieschi C., Kaste M., Orgogozo J.M., Chamorro A., Desmet A.; European-Australian Fiblast (Trafermin) in Acute Stroke Group. Fiblast (trafermin) in acute stroke: results of the European-Australian phase I/II safety and efficacy trial. *Cerebrovasc. Dis.* 2002; 14 (3–4): 239–251. <http://dx.doi.org/10.1159/000065683>. PMID: 12403958
 40. Andres C., Hasenauer J., Ahn H.S., Joseph E.K., Isensee J., Theis F.J., Allgöwer F., Levine J.D., Dib-Hajj S.D., Waxman S.G., Hucho T. Wound in a rodent model of ischaemic encephalopathy. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* 2010; 107 (6): 931–939. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1742-7843.2010.00603.x>. PMID: 20618306
 22. Fujitwara K., Date I., Shingo T., Yoshida H., Kobayashi K., Takeuchi A., Yano A., Tamiya T., Ohmoto T. Reduction of infarct volume and apoptosis by grafting of encapsulated basic fibroblast growth factor-secreting cells in a model of middle cerebral artery occlusion in rats. *J. Neurosurg.* 2003; 99 (6): 1053–1062. <http://dx.doi.org/10.3171/jns.2003.99.6.1053>. PMID: 14705734
 23. Zhang M., Ma Y.F., Gan J.X., Jiang G.Y., Xu S.X., Tao X.L., Hong A., Li J.K. Basic fibroblast growth factor alleviates brain injury following global ischemia reperfusion in rabbits. *J. Zhejiang Univ. Sci. B.* 2005; 6 (7): 637–643. <http://dx.doi.org/10.1631/jzus.2005.B0637>. PMID: 15973765
 24. Wang Z.L., Cheng S.M., Ma M.M., Ma Y.P., Yang J.P., Xu G.L., Liu X.F. Intranasally delivered bFGF enhances neurogenesis in adult rats following cerebral ischemia. *Neurosci. Lett.* 2008; 446 (1): 30–35. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neulet.2008.09.030>. PMID: 18822350
 25. Martinez G., Di Giacomo C., Sorrenti V., Camazza M.L., Ragusa N., Barcellona M.L., Vanella A. Fibroblast growth factor-2 and transforming growth factor-beta1 immunostaining in rat brain after cerebral postischemic reperfusion. *J. Neurosci. Res.* 2001; 63 (2): 136–142. PMID: 11169623
 26. Mattson M.P. Neuroprotective signal transduction: relevance to stroke. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 1997; 21 (2): 193–206. [http://dx.doi.org/10.1016/S0149-7634\(96\)00010-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0149-7634(96)00010-3). PMID: 9062943
 27. Blum S., Issbrücker K., Willuweit A., Hehlhans S., Lucerna M., Mechtcheriakova D., Walsh K., von der Ahe D., Hofer E., Claus M. An inhibitory role of the phosphatidylinositol 3-kinase-signaling pathway in vascular endothelial growth factor-induced tissue factor expression. *J. Biol. Chem.* 2001; 276 (36): 33428–33434. <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.M105474200>. PMID: 11445586
 28. Williams D.L., Ozment-Skelton T., Li C. Modulation of the phosphoinositide 3-kinase signaling pathway alters host response to sepsis, inflammation, and ischemia/reperfusion injury. *Shock.* 2006; 25 (5): 432–439. <http://dx.doi.org/10.1097/01.shk.0000209542.76305.55>. PMID: 16680006
 29. Zhao H., Sapolsky R.M., Steinberg G.K. Phosphoinositide-3-kinase/akt survival signal pathways are implicated in neuronal survival after stroke. *Mol. Neurobiol.* 2006; 34 (3): 249–270. <http://dx.doi.org/10.1385/MN:34:3:249>. PMID: 17308356
 30. Noshita N., Lewén A., Sugawara T., Chan P.H. Evidence of phosphorylation of Akt and neuronal survival after transient focal cerebral ischemia in mice. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2001; 21 (12): 1442–1450. <http://dx.doi.org/10.1097/00004647-200112000-00009>. PMID: 11740206
 31. Saito A., Narasimhan P., Hayashi T., Okuno S., Ferrand-Drake M., Chan P.H. Neuroprotective role of a proline-rich Akt substrate in apoptotic neuronal cell death after stroke: relationships with nerve growth factor. *J. Neurosci.* 2004; 24 (7): 1584–1593. <http://dx.doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5209-03.2004>. PMID: 14973226
 32. Острова И.В., Аврущенко М.Ш. Экспрессия мозгового нейротрофического фактора (BDNF) повышает устойчивость нейронов к гибели в постреанимационном периоде. *Общая реаниматология.* 2015; 11 (3): 45–53. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2015-3-45-53>
 33. Аврущенко М.Ш., Острова И.В., Волков А.В. Постреанимационные изменения экспрессии глимального 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>
 34. Mudò G., Bonomo A., Di Liberto V., Frinchi M., Fuxe K., Belluardo N. The FGF-2/FGFRs neurotrophic system promotes neurogenesis in the adult brain. *J. Neural. Transm.* 2009; 116 (8): 995–1005. <http://dx.doi.org/10.1007/s00702-009-0207-z>. PMID: 19291360
 35. Kuge A., Takemura S., Kokubo Y., Sato S., Goto K., Kayama T. Temporal profile of neurogenesis in the subventricular zone, dentate gyrus and cerebral cortex following transient focal cerebral ischemia. *Neurol. Res.* 2009; 31 (9): 969–976. <http://dx.doi.org/10.1179/174313209X383312>. PMID: 19138475
 36. Tonchev A.B. Brain ischemia, neurogenesis, and neurotrophic receptor expression in primates. *Arch. Ital. Biol.* 2011; 149 (2): 225–231. <http://dx.doi.org/10.4449/aib.v149i2.1368>. PMID: 21701994
 37. Sun D., Bullock M.R., McGinn M.J., Zhou Z., Altememi N., Hagood S., Hamm R., Colello R.J. Basic fibroblast growth factor-enhanced neurogenesis contributes to cognitive recovery in rats following traumatic brain injury. *Exp. Neurol.* 2009; 216 (1): 56–65. <http://dx.doi.org/10.1016/j.expneurol.2008.11.011>. PMID: 19100261
 38. Won S.J., Xie L., Kim S.H., Tang H., Wang Y., Mao X., Banwait S., Jin K. Influence of age on the response to fibroblast growth factor-2 treatment in a rat model of stroke. *Brain Res.* 2006; 1123 (1): 237–244. PMID: 17064673
 39. Bogousslavsky J., Victor S.J., Salinas E.O., Pallay A., Donnan G.A., Fieschi C., Kaste M., Orgogozo J.M., Chamorro A., Desmet A.; European-Australian Fiblast (Trafermin) in Acute Stroke Group. Fiblast (trafermin) in acute stroke: results of the European-Australian phase I/II safety and efficacy trial. *Cerebrovasc. Dis.* 2002; 14 (3–4): 239–251. <http://dx.doi.org/10.1159/000065683>. PMID: 12403958
 40. Andres C., Hasenauer J., Ahn H.S., Joseph E.K., Isensee J., Theis F.J., Allgöwer F., Levine J.D., Dib-Hajj S.D., Waxman S.G., Hucho T. Wound

Review

- healing growth factor, basic FGF, induces Erk1/2-dependent mechanical hyperalgesia. *Pain*. 2013; 154 (10): 2216–2226. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pain.2013.07.005>. PMID: 23867734
41. Wu D. Neuroprotection in experimental stroke with targeted neurotrophins. *NeuroRx*. 2005; 2 (1): 120–128. PMID: 15717063
 42. Feng C., Zhang C., Shao X., Liu Q., Qian Y., Feng L., Chen J., Zha Y., Zhang Q., Jiang X. Enhancement of nose-to-brain delivery of basic fibroblast growth factor for improving rat memory impairments induced by co-injection of β -amyloid and ibotenic acid into the bilateral hippocampus. *Int. J. Pharm.* 2012; 423 (2): 226–234. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2011.12.008>. PMID: 22193058
 43. Yemisci M., Caban S., Gursoy-Ozdemir Y., Lule S., Novoa-Carballal R., Riguera R., Fernandez-Megia E., Andrieux K., Couvreur P., Capan Y., Dalkara T. Systemically administered brain-targeted nanoparticles transport peptides across the blood-brain barrier and provide neuroprotection. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2015; 35 (3): 469–475. <http://dx.doi.org/10.1038/jcbfm.2014.220>. PMID: 25492116
 44. Grothe C., Timmer M. The physiological and pharmacological role of basic fibroblast growth factor in the dopaminergic nigrostriatal system. *Brain Res. Rev.* 2007; 54 (1): 80–91. <http://dx.doi.org/10.1016/j.brainresrev.2006.12.001>. PMID: 17229467
 39. Bogousslavsky J., Victor S.J., Salinas E.O., Pallay A., Donnan G.A., Fieschi C., Kaste M., Orgogozo J.M., Chamorro A., Desmet A.; European-Australian Fiblast (Trafermin) in Acute Stroke Group. Fiblast (trafermin) in acute stroke: results of the European-Australian phase II/III safety and efficacy trial. *Cerebrovasc. Dis.* 2002; 14 (3-4): 239–251. <http://dx.doi.org/10.1159/000065683>. PMID: 12403958
 40. Andres C., Hasenauer J., Ahn H.S., Joseph E.K., Isensee J., Theis F.J., Allgöwer F., Levine J.D., Dib-Hajj S.D., Waxman S.G., Hucho T. Wound-healing growth factor, basic FGF, induces Erk1/2-dependent mechanical hyperalgesia. *Pain*. 2013; 154 (10): 2216–2226. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pain.2013.07.005>. PMID: 23867734
 41. Wu D. Neuroprotection in experimental stroke with targeted neurotrophins. *NeuroRx*. 2005; 2 (1): 120–128. PMID: 15717063
 42. Feng C., Zhang C., Shao X., Liu Q., Qian Y., Feng L., Chen J., Zha Y., Zhang Q., Jiang X. Enhancement of nose-to-brain delivery of basic fibroblast growth factor for improving rat memory impairments induced by co-injection of β -amyloid and ibotenic acid into the bilateral hippocampus. *Int. J. Pharm.* 2012; 423 (2): 226–234. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2011.12.008>. PMID: 22193058
 43. Yemisci M., Caban S., Gursoy-Ozdemir Y., Lule S., Novoa-Carballal R., Riguera R., Fernandez-Megia E., Andrieux K., Couvreur P., Capan Y., Dalkara T. Systemically administered brain-targeted nanoparticles transport peptides across the blood-brain barrier and provide neuroprotection. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2015; 35 (3): 469–475. <http://dx.doi.org/10.1038/jcbfm.2014.220>. PMID: 25492116
 44. Grothe C., Timmer M. The physiological and pharmacological role of basic fibroblast growth factor in the dopaminergic nigrostriatal system. *Brain Res. Rev.* 2007; 54 (1): 80–91. <http://dx.doi.org/10.1016/j.brainresrev.2006.12.001>. PMID: 17229467

Поступила 29.07.15

Submitted 29.07.15

ОБЩАЯ РЕАНИМАТОЛОГИЯ

Научно-практический журнал «Общая реаниматология»,
входящий в перечень ВАК РФ, предназначен для врачей анестезиологов-реаниматологов
и научных сотрудников.

Тематика журнала: патогенез, клиника, диагностика, лечение, профилактика и патологическая анатомия критических, терминальных и постреанимационных состояний. Вопросы оказания догоспитальной помощи при критических состояниях. Вопросы обучения населения и медицинского персонала приемам оказания неотложной помощи при критических состояниях.

Аудитория: лечебные учреждения; высшие учебные заведения медицинского профиля; медицинские учреждения последипломного образования, Федеральные и региональные органы управления здравоохранением, медицинские научно-исследовательские институты; медицинские библиотеки.

ПОДПИСКА

В любом почтовом отделении связи по каталогу «Роспечать»

- индекс 46338 — для индивидуальных подписчиков
- индекс 46339 — для предприятий и организаций

УСПЕШНОЕ ЛЕЧЕНИЕ АТИПИЧНОГО ГЕМОЛИТИКО-УРЕМИЧЕСКОГО СИНДРОМА У РОДИЛЬНИЦЫ

О. Н. Улиткина¹, Ж. С. Филипповская¹, Е. И. Прокопенко¹,
А. М. Овезов¹, В. В. Лихванцев^{1,2}

¹ Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М. Ф. Владимирского
Россия, 129110, г. Москва, ул. Щепкина, 61/2;

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

Successful Treatment for Atypical Hemolytic-Uremic Syndrome in a Puerpera

O. N. Ulitkina¹, Zh. S. Filippovskaya¹, E. I. Prokopenko¹, A. M. Ovezov¹, V. V. Likhvantsev^{1,2}

¹ M. F. Vladimirsky Moscow Regional Research Clinical Institute
61/2, Shchepkin St., Moscow 129110, Russia

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

Цель. Показать сложности дифференциальной диагностики и лечения атипичного гемолитико-уремического синдрома на примере пациентки 23 лет.

Результаты. Показана эффективность применения препарата Экулизумаб (Солирис, ДСМ Фармасьютиклс Инк., США) (гликозилированные гуманизированные моноклональные антитела к иммуноглобулинам IgG2/4k) при лечении этого заболевания.

Заключение. Атипичный гемолитико-уремический синдром беременных – заболевание, сложность лечения которого во многом связана с проблемами дифференциальной диагностики с тромботической тромбоцитопенической пурпурой и проявлениями полиорганной недостаточности. В лечении данного заболевания ключевая роль отводится препарату Экулизумаб.

Ключевые слова: атипичный гемолитико-уремический синдром; тромботическая тромбоцитопеническая пурпура; Экулизумаб (Солирис); беременность

Objective: to show the problems of differential diagnosis and treatment of atypical hemolytic-uremic syndrome in a 23-year-old patient.

Results. Eculizumab (Soliris), (Alexon Pharmaceuticals Inc., USA) that is a glycosylated humanized monoclonal antibody to immunoglobulins (IgG2/4k) is shown to be effective in treating this disease.

Conclusion. Atypical hemolytic-uremic syndrome in pregnancy is a disease, whose treatment difficulties are largely associated with the problem of differential diagnosis with thrombotic thrombocytopenic purpura and manifestations of multiple organ dysfunction. The treatment for this disease gives a key role to Eculizumab.

Key words: atypical hemolytic-uremic syndrome, thrombotic thrombocytopenic purpura, Eculizumab (Soliris), pregnancy

DOI:10.15360/1813-9779-2015-6-61-68

Адрес для корреспонденции:

Ольга Улиткина
E-mail: ulitkinaon@gmail.com

Correspondence to:

Olga Ulitkina
E-mail: ulitkinaon@gmail.com

Введение

Атипичный гемолитико-уремический синдром (аГУС) — хроническое системное заболевание генетической природы, в основе которого лежит неконтролируемая активация альтернативного пути комплемента, ведущая к генерализованному тромбообразованию в сосудах микроциркуляторного русла (комплемент-опосредованная тромботическая микроангиопатия). Наряду с типичным ГУС и тромботической тромбоцитопенической пурпурой (ТТП), аГУС является классическим заболеванием из группы тромботических микроангиопатий (ТМА). В настоящее время ТМА рассматривают как клинико-морфологический синдром, характеризующийся поражением сосудов микроциркуляторного русла [1].

АГУС характеризуется острым началом, частыми рецидивами, крайне тяжелым течением и относительно неблагоприятным прогнозом. В 75% случаев дебют заболевания заканчивается летальным исходом. В 25% случаев — происходит развитие почечной недостаточности, в течение года от начала болезни достигающей степени терминальной ХПН [2–4].

Менее 20% случаев аГУС являются семейными, т.е. развивающимися, по крайней мере, у двух членов одной семьи [2]. АГУС, диагностированный у пациентов, не имеющих семейного анамнеза, классифицируют как спорадический. Последний, как правило, развивается на фоне инфекций, злокачественных новообразований и приема некоторых лекарственных средств (оральные контрацептивы, антибиотики, ингибиторы кальцийнейрина, тиклопидины и др.) [5]. Развитие аГУС возможно при ряде системных болезней (антифосфолипидный синдром, системная красная волчанка, системная склеродермия).

В 12–31% случаев аГУС связан с беременностью или родами. Установлено, что частота встречаемости аГУС, ассоциированного с беременностью (Б-аГУС), составляет: 74% в III триместре и раннем послеродовом периоде, 11% во II триместре беременности, 15% в I триместре беременности [6].

По современным представлениям, при диагностике аГУС, как и других ТМА, основными критериями являются тромбоцитопения и микроангиопатическая гемолитическая анемия (МАГА) [2]. В связи с этим Б-аГУС часто бывает сложно отличить от преэклампсии и особенно HELLP-синдрома (H — hemolysis (гемолиз); EL — elevated liver enzymes (повышение активности ферментов печени); LP — low platelet count (тромбоцитопения)), для которых также характерно появление тромбоцитопении и микроангиопатического гемолиза. Это обуславливает крайнюю редкость диагностики аГУС во время беременности.

Introduction

Atypical hemolytic uremic syndrome (AHUS) is a chronic systemic disease of the genetic nature which is developed due to uncontrollable activation of an alternative pathway of complement leading to endothelial cell damage and thrombotic microangiopathy. Along with typical hemolytic uremic syndrome and thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP) AHUS belong to classic group of thrombotic microangiopathies (TMA). Nowadays TMA are considered as clinico-morphological syndromes that are characterized by alterations of vessels of microcirculation [1].

AHUS is characterized by frequent recurrence and the adverse prognosis: 75% of patients are dying at the time of a sharp episode, or exhibit fast development of the renal failure reaching degree of terminal HPN within a year from an onset of the illness [2–4]. Less than 20% of cases of AHUS are family cases, i.e. they are developing at least in two family members [2]. AHUS diagnosed with no family cases is classified as sporadic one. The latter as a rule is developing following «starting» factors that include infections, malignancy, some drugs (oral contraceptives, antibiotics, inhibitors of a calcineurin, ticlopidines etc.) [5]. Development of AHUS is possible in autoimmune syndrome or disease (antiphospholipid syndrome, systemic lupus erythematosus, scleroderma).

In 12–31% of cases AHUS is associated with pregnancy or delivery. It has been established that AHUS associated with pregnancy (p-AGUS) is developing in 74% of cases in the trimester III and early postnatal period, in 11% of cases in trimester I, in 15% of p-AGUS cases — in trimester II [6]. Currently, diagnostics of AGUS, as well as other TMA, is performed by observing thrombocytopenia and microangiopathic haemolytic anemia (MAHA). In this regard it is frequently difficult to distinguish p-AGUS from a pre-eclampsia and especially HELLP syndrome, for which the emergence of thrombocytopenia and a microangiopathic hemolysis is also typical that causes an extreme rarity of statement of the diagnosis of AGUS during pregnancy.

Laboratory signs of TMA include thrombocytopenia due to consumption of thrombocytes during thrombosis, microangiopathic haemolytic Coombs-negative anemia (mechanical hemolysis). In a clinical picture the fever and multiorgan failure (mostly, of kidneys and CNS) is dominating.

Clinical Case

Patient T., 23 years, admitted at the intensive care unit (ICU) and intensive therapy of MRCRI on 14.07.2015. The day before patient was admitted at the perinatal center of the city of Balashikha where the following diagnosis was established: first pregnancy, 35–36 weeks, HELLP

Специфическими лабораторными признаками ТМА являются тромбоцитопения, развивающаяся вследствие «потребления» тромбоцитов в процессах распространенного тромбообразования, микроангиопатическая гемолитическая Кумбс-негативная анемия (механический гемолиз) [7]. В клинической картине преобладают лихорадка и полиорганная недостаточность, прежде всего — поражение почек и ЦНС. Клинические проявления тромботической микроангиопатии зависят от локализации повреждения микрососудов и от вовлечения в патологический процесс различных органов [7].

Клиническое наблюдение

Пациентка Т. 23 лет поступила в перинатальный центр г. Балашихи, где был установлен диагноз: Первая беременность 35–36 недель. Головное предлежание. HELLP-синдром. Преэклампсия тяжелой степени. После оперативного родоразрешения она была доставлена в отделение реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) МОНИКИ 14.07.2015 г. Состояние при поступлении крайне тяжелое. Уровень сознания по шкале ком Глазго — 3 балла. Кожный покров и видимые слизистые желтушны, склеры иктеричны. Пастозность тканей. Проводили ИВЛ через оротрахеальную трубку в режиме Synchronized Intermittent Mandatory Ventilation (SIMV) с фракцией кислорода 0,4. Индекс оксигенации — 284 мм рт. ст. В легких выслушивали жесткое дыхание, равномерно ослабленное с обеих сторон, SpO₂ — 98%. Тоны сердца приглушены, ритм правильный, частота сердечных сокращений (ЧСС) — 110 уд в 1 мин; артериальное давление (АД) — 145/85 мм рт. ст. Живот мягкий, вздут, на его пальпацию реакции не было, перистальтика кишечника вялая. Олигурия (темн диуреза менее 1 мл/кг/час).

Общий анализ крови: гемоглобин — 54 г/л, тромбоциты — 36×10^9 /л, уровень лейкоцитоза — 22.16×10^9 /л. Биохимический анализ крови: билирубин общий — 141,7 мкмоль/л, креатинин — 206 мкмоль/л, аланинаминотрансфераза (АЛТ) — 176 ЕД/л, аспартатаминотрансфераза (АСТ) — 470 ЕД/л, лактатдегидрогеназа (ЛДГ) — 2625 ЕД/л.

Проведен консилиум специалистов: анестезиологов — реаниматологов, гепатологов, акушеров-гинекологов, нефрологов, терапевтов, врачей отделения хирургической гемокоррекции и детоксикации. Был подтвержден диагноз: HELLP синдром. Преэклампсия тяжелой степени. Состояние после лапаротомии по Пфаненштилю, кесарева сечения в нижнем маточном сегменте от 13.07.2015г. в сроке беременности 35–36 недель. Острая печеночно-почечная недостаточность. Отек серого и белого вещества головного мозга. Анемия тяжелой степени. Ангиопатия сетчатки обоих глаз по гипертоническому типу.

Было принято решение продолжить введение глюкокортикоидов (метилпреднизолон в дозе 500 мг в сутки в течение трех дней), добавить трансфузию карантинизированной свежемороженой плазмы (КСЗП) в дозе 20 мл/кг/сут., заместительную почеч-

syndrome, preeclampsia. On the same day the childbirth by Cesarean section was executed.

Considering condition of the patient and potential threat for life the patient was transferred to ICU of MRCRI.

The patient's status at admittance was considered as very severe. Consciousness: level 3 points, Glasgow coma scale. Prolonged mechanical lung ventilation (MLV) through an orotracheal tube in the SIMV+PCV regimen at FiO₂ mode, 40%. Oxigenation index — 284. Rigid breath in lungs evenly weakened in both parts, SpO₂ 98%. Tones of heart are muffled, rhythm is correct; heart rate: 110 per 1 min; arterial pressure 145/85 mm Hg. Patient does not react to a palpation, peristaltics is sluggish. Oliguria. Blood test: Hb 54 g/l, platelets 36×10^9 , leukocytosis 22.16×10^9 . Biochemical blood test: bilirubin 141,7 μ mol/l, creatinine 206 μ mol/l, ALT 176 U/l, aspartate aminotransferase of 470 U/l, LDH 2625 U/l.

14.07.2015. Diagnosis by consilium: HELLP syndrome. Severe preeclampsia. Pfannestil laparotomy and Cesarean section at the lower uterine segment were performed. Severe hepatorenal failure. Brain oedema. Acute anemia. Angiopathy of a retina of both eyes of a hypertensive type.

The decision was to continue administration of glucocorticosteroids (methylprednisolone, 500 mg per day for three days), transfusion of fresh frozen plasma (20 ml/kg/day), replacement kidney therapy, plasmapheresis, symptomatic therapy (antibiotics: meropenem 6 g/days, linezolid 1200 mg/day; oxytocin: 1.0 ml 3 times per day intramuscularly; human albumin, anticoagulants, omeprazole (80 mg/day), hypotensive drug: nifedipine (0,3–0,7 mg/hour).

22.07.2015. due to respiratory insufficiency and because of a need in prolonged MLV the tracheostoma was imposed.

On day 9 of admittance at ICU, the inefficiency of treatment became obvious. The condition of the patient worsened, polyorgan insufficiency progressed as demonstrated by functions of brain, respiratory system, liver, intestinal and kidney function. Blood tests demonstrated alterations: Hb 61 g/l, platelets 39×10^9 , bilirubin 83,1 μ mol/l, creatinine 256 μ mol/l, ALT of 47 U/l, aspartate aminotransferase 71 U/l, LDH 451 U/l. Earlier Negative ANF and level antiphospholipids at 0,9 allowed to exclude autoimmune syndrome, low activity (39%) of plasma ADAMS-13 metalloproteinase did not confirm suggested TTP.

At the same time, C3 component of complement was found to be decreased to 0,71 g/l (compared to normal level at 0,83–1,93), C4 component was determined as 0,17 g/l (compared to 0,15–0,57 g/l in norm). It allowed to diagnose the AHUS. Consilium confirmed the existence of microangiopathic hemolytic thrombocytopenia and polyorgan insufficiency and stated the thrombotic microangiopathy. Resistance to a plasmatherapy forced to doubt the diagnosis of HELLP syndrome as an independent form of a preeclampsia. The diagnosis of AHUS was issued as the most probable one. These considerations justified the need for a treatment with antibodies to terminal enzyme of an alternative pathway (C5) of activation of a complement, Eculizumab (Soliris).

24.07.2015. Treatment with Eculizumab (Soliris), 900 mg once a week, for 4 weeks, followed by increasing the dose to 1200mg once had been initiated, with further

Clinical Observation

ную терапию (ЗПТ), сеансы плазмафереза. Кроме того, проводили лечение преэклампсии (MgSO_4 — 25% 1 г/час; адонат — 0,3–0,7 мг/час), антибактериальную терапию (меронем — 6 г/сут, зивокс — 1200 мг/сут.); рестриктивную инфузионную терапию коллоидами (альбумин) и кристаллоидами (стерофундин) в объеме 2 мл/кг/сут.

Для уточнения диагноза провели специфические исследования на наличие аутоиммунных заболеваний (антифосфолипидный синдром (АФЛС), системная красная волчанка (СКВ), тромбоцитическая тромбоцитопеническая пурпура (ТТП)).

22.07.2015 г. в связи с сохраняющимися явлениями дыхательной недостаточности и необходимости проведения длительной ИВЛ была выполнена трахеостомия.

Ввиду отсутствия положительной динамики приняли решение о необходимости верификации диагноза с коррекцией медикаментозной терапии. В анализах крови сохранялись выраженные изменения: анемия, несмотря на периодическую трансфузию эритроцитов, тромбоцитопения (количество тромбоцитов — $39 \times 10^9/\text{л}$), билирубинемия (общий билирубин — 83,1 мкмоль/л), признаки печеночно — почечной недостаточности (креатинин — 256 мкмоль/л, АЛТ — 47 ЕД/л, АСТ — 71 ЕД/л, ЛДГ — 451 ЕД/л). Следующие лабораторные данные: отрицательный антинуклеарный фактор (АНФ) и низкий уровень антител (IgG и IgM — 0,9 Ед/мл) позволили исключить АФС и СКВ, низкая активность металлопротеиназы ADAMS — 13 в плазме (39%) — тромбоцитопеническую пурпуру (ТТП).

Было установлено также, что уровень антител к фактору Н в сыворотке больной составляет 39% от соответствующего уровня в контрольной сыворотке, а при исследовании компонентов системы комплемента уровень С3 составил 0,71 г/л (N 0,83–1,93), С4 — 0,17 г/л (N 0,15–0,57). Это позволило заподозрить наличие атипичного гемолитико-уремического синдрома беременных. Хотя аГУС — это генетическое заболевание, у 30–50% пациентов генетическую мутацию выявить не удается. Поэтому генетический анализ представляется ненадежным методом диагностики заболевания. Не каждая известная генетическая мутация имеет прогностическое значение. Последнее соображение, в сочетании с ограниченной доступностью генетического анализа из-за его высокой стоимости и длительного ожидания результатов, позволяет считать, что для первоначальной диагностики и выбора тактики лечения аГУС генетический анализ не является необходимым [11].

Ввиду вышеуказанных лабораторных данных было принято решение о необходимости повторного консилиума, который пришел к следующим выводам: симптомокомплекс в виде микроангиопатического гемолиза, тромбоцитопении, полиорганной недостаточности позволяет диагностировать у пациентки тромбоцитическую микроангиопатию. Вместе с тем, резистентность к плазматерапии заставляет усомниться в диагнозе HELLP-синдрома, как самостоятельной формы преэклампсии. Наиболее вероятным представляется диагноз атипичного гемолитико-уремического синдрома беременных. Были сформулированы абсолютные показания для введения препарата, содержащего комплекс антител к терминальным ферментам альтернативного пути активации комплемента — Экулизумаб (Солирис).

changing the dose to 1200 mg each 2 weeks, as recommended by manufacturer (DSM Pharmaceuticals Inc., Greenville, NC, USA).

Although the use of Eculizumab required urgent anti-meningococcal vaccination, it could not be performed due to severe condition of the patient. Instead, ciprofloxacin was added to the protocol replacing the need in an antibacterial support.

Administration of Eculizumab (Soliris) resulted in positive clinical and biochemical tests dynamics. Clear consciousness was restored and signs of paresis of intestine disappeared quickly, on 25.07.2015. On the same day kidney function and diuresis were normalized. Next day (26.07.2015) patients was transferred to independent breath through a tracheostoma. On day 10 starting from a Soliris treatment (23th day from the admittance) laboratory parameters returned to norm: level of bilirubin decreased to 17,6/л, LDH 151 U/л, platelets 221×10^9 . For rehabilitation the patient was transferred to a local medical office.

Discussion

AHUS is an orphan disease, which is remembered in the last turn and the diagnosis of which is made by exclusion other diseases. In compliance with standards of clinical recommendations on diagnosis and treatment of AHUS, diagnosis of TMA is based on existence of thrombocytopenia and a microangiopathic hemolytic anemia (MAHA) in combination with signs of damage of kidneys and/or extrarenal alterations of CNS, intestine, lungs. Development of MAHA without thrombocytopenia occur rarely. MAHA could be identified in patients with anemia by shizocytosis (when numbers of shizocytes in peripheral blood is higher than 0,1%) and/or by the increased level of LDH and/or decrease in a haptoglobin concentration in plasma. When TMA is under suspect, all three above specified markers should be determined since the lack of changes in any of these markers it would be impossible to diagnose TMA. All patients with suspected TMA should be checked for a Coombs reaction to exclude the autoimmune nature of a hemolysis. In patients with MAHA and thrombocytopenia existence of any signs of the damage of kidneys (isolated or in combination with symptoms of alteration of CNS, heart, gastrointestinal tract, and/or lungs) provides a base for diagnosis of TMA.

When doubts in diagnosis of TMA disappeared, further differential diagnostics was performed to differentiate STEC — HUS and TTP. The former was excluded by a lack of shiga-toxin in blood and stool, whereas the latter was excluded following checking the activity of metalloproteinase ADAMTS-13. The quantitative analysis of components of a complement system confirmed the diagnosis of AHUS and, in connection with an inefficiency of a plasmotherapy, it justified the administration of antibodies specifically inhibiting C5 component of complement —

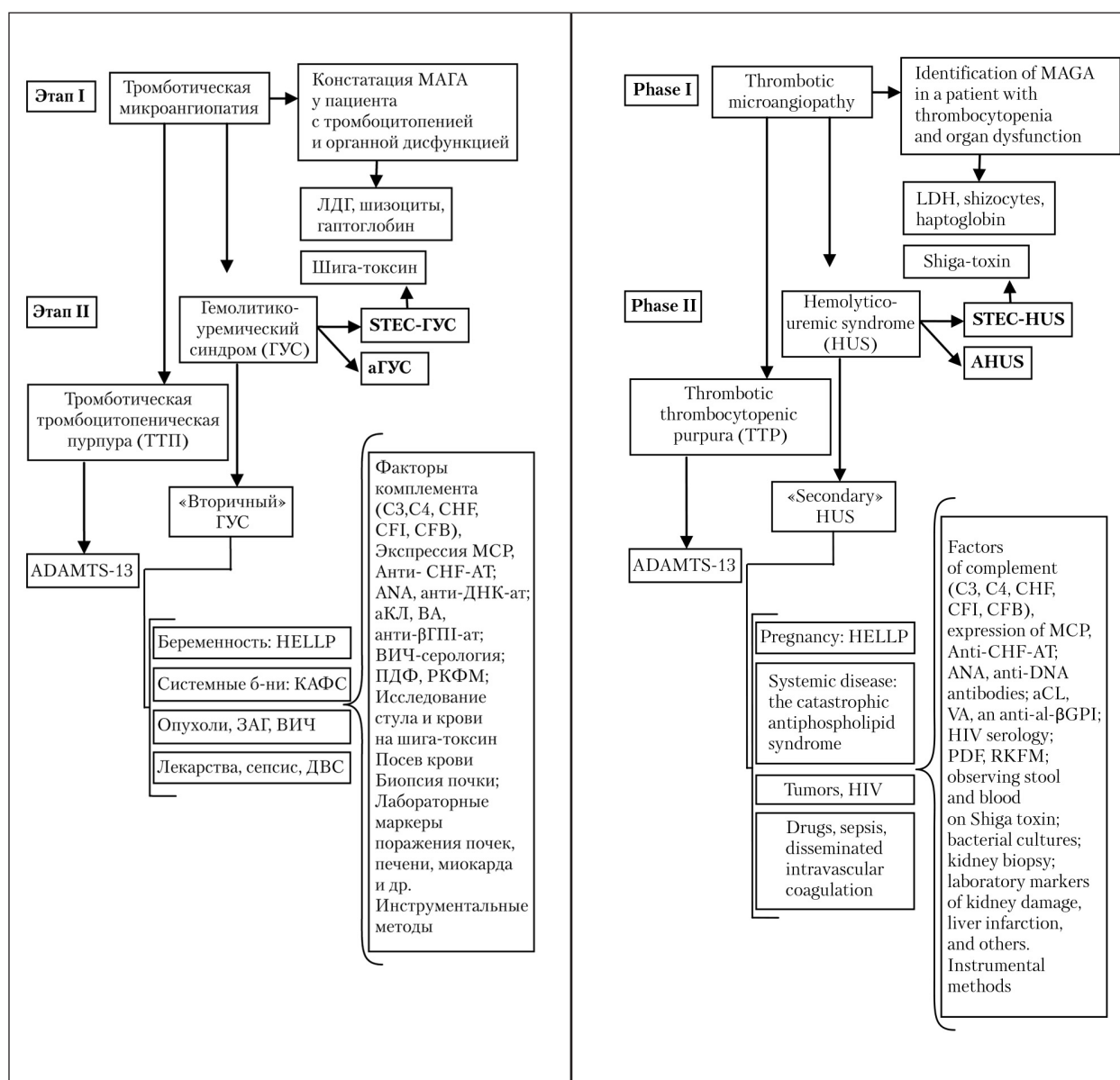


Рис. 1. Схема диагностики аГУС 1 [1, 8].

Fig. 1. Diagnostics of AHUS (schemes 1) [1, 8].

24.07.2015 г. начата терапия солирисом (Солирис, ДСМ Фармасьютиклс Инк., 5900 Мартин Лютер Кинг Дж. Хайвей, Гринвиль, Северная Каролина, 27834, США), по схеме — 900 мг 1 раз в неделю, в течение 4 недель, далее по 1200 мг 1 раз в неделю, затем 1200 мг каждые 2 недели.

Применению препарата Солирис, согласно инструкции, должна предшествовать вакцинация (в том числе — экстренная) против менингококковой инфекции, так как введение Экулизумаба вызывает дефицит терминального комплекса комплемента, что сопровождается повышенной частотой развития инфекций инкапсулированными микроорганизмами, главным образом менингококковой инфекции. При этом экулизумаб поддерживает содержание ранних продуктов активации комплемента, необходимых для опсонизации микроорганизмов и выведения иммунных комплексов. Однако, учитывая тяжелое состояние пациентки, и, как следствие, невозможность выполнения данного пункта,

Ecuzumab (Soliris, DSM Pharmaceuticals Inc., Greenville, NC, USA).

The effect did not keep itself waiting. Fast regress of symptomatology in combination with normalization of laboratory indicators validated the chosen tactics.

Unfortunately, AHUS remains an incurable disease and long remission can be reached only by regularly repeated courses of therapy with Ecuzumab. The decision to terminate treatment with Ecuzumab can be considered in 12 months of continuous treatment. At recurrence happened after cancellation of an Ecuzumab the treatment should be resumed immediately.

Currently the development of effective biomarkers of early endothelial damage seems crucial to predict development of AHUS recurrence. It might

Clinical Observation

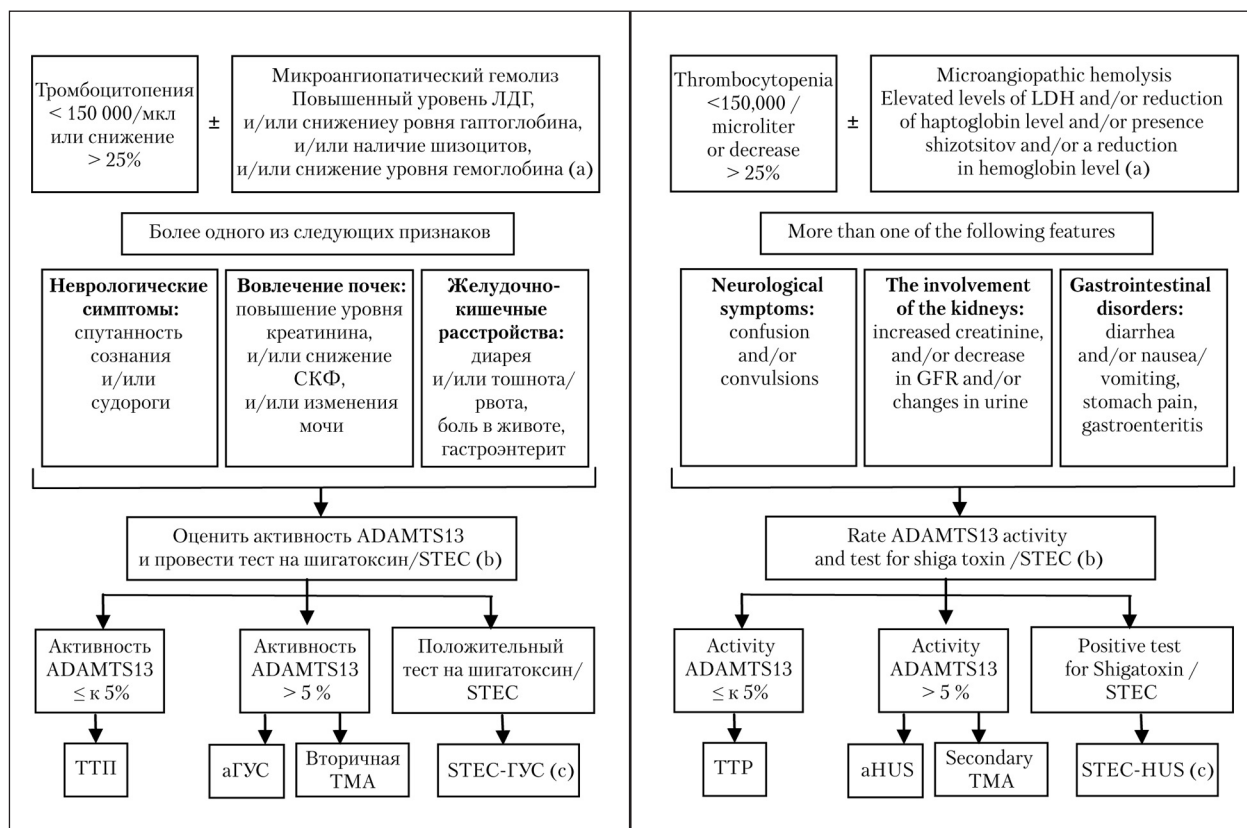


Рис. 2. Схема диагностики aГУС 2 [1, 8].

Fig. 2. Diagnostics of AHUS (schemes 2) [1, 8].

по решению консилиума к терапии был добавлен ципрофлоксацин.

На фоне терапии Солирисом отмечена выраженная положительная динамика. Восстановление ясного сознания наступило 25.07.2015 г., разрешение пареза кишечника — 25.07.2015 г., восстановление почечной функции, нормализация диуреза — 25.07.2015 г., перевод на самостоятельное дыхание через трахеостому — 26.07.2015 г. К 10 м суткам (23 сутки от начала заболевания) нормализовались лабораторные показатели: уровень билирубина снизился до 17,6 мкмоль/л, ЛДГ — 151 ЕД/л, содержание тромбоцитов — $221 \times 10^9/\text{л}$.

Для реабилитации больная была переведена в профильное отделение, затем выписана для поддерживающей терапии по месту жительства.

Обсуждение

В соответствие клиническими рекомендациями по диагностике и лечению aГУС [9, 10], диагностика ТМА основана на выявлении тромбоцитопении и микроангиопатического гемолиза (МАГА) в сочетании с признаками повреждения почек и/или экстраренального поражения центральной нервной системы, желудочно-кишечного тракта, легких. В редких случаях возможно развитие МАГА без тромбоцитопении. Наличие МАГА устанавливают на основании выявления у пациентов с анемией шизоцитоза (число шизоцитов в мазке периферической крови выше 0,1%) и/или

повышенного уровня ЛДГ и/или снижения гаптоглобина. При подозрении на ТМА необходимо определение всех трех указанных маркеров, поскольку в отсутствие изменений одного из них и

possess a special value for protocols on cancellation of treatment with Eculizumab. Optimum duration of therapy with the new drug and a way to cancel the Eculizumab certainly deserve further studies. [6]

Conclusion

On the basis of the analysis of literature and own experience, the following principles of diagnostics and treatment of AHUS are suggested:

1. All pregnant women with signs of TMA and non-effective delivery should be examined for a possibility of an AHUS.

2. Diagnostics of AHUS is performed in two stages according to described scheme [8]. Differential diagnosis of thrombotic microangiopathy is performed by described algorithm [1, 8].

3. When the plasmotherapy is ineffective, it is necessary to come back to diagnostic stage and, if the AHUS is confirmed, the treatment with Eculizumab should be initiated according to the scheme as described in this paper.

повышенного уровня ЛДГ и/или снижения гаптоглобина. При подозрении на ТМА необходимо определение всех трех указанных маркеров, поскольку в отсутствие изменений одного из них и

не выполненных исследованиях двух других, диагноз ТМА установить невозможно (ложноотрицательный результат!). Всем больным с ТМА необходимо также выполнять реакцию Кумбса для исключения иммунной природы гемолиза. У пациентов с МАГА и тромбоцитопенией наличие ОПП или других признаков поражения почек, изолированного или в сочетании с симптомами поражения ЦНС, сердца, ЖКТ, легких служит основанием для диагностики ТМА.

В обсуждаемом случае основанием для начала повторного диагностического процесса послужили ухудшение клинико-лабораторных данных и резистентность к проводимому лечению. Когда сомнения в наличии ТМА исчезли, дальнейшую дифференциальную диагностику проводили со СТЕС — ГУС и ТТП. Первое состояние было исключено в связи с отсутствием шига-токсина в крови и стуле, второе на основании изучения активности ADAMTS-13. Анализ компонентов системы комплемента подтвердил диагноз аГУС и, в связи с неэффективностью плазматерапии, было решено прибегнуть к введению препарата группы комплемент-ингибирующих антител — Экулизумабу (Солирис, ДСМ Фармасьютиклс Инк., США).

К сожалению, аГУС неизлечимое заболевание и длительная ремиссия может быть достигнута только регулярным повторением курсов терапии Экулизумабом. Вопрос о прекращении терапии Экулизумабом может

быть поставлен через 12 месяцев постоянного лечения. При развитии рецидива после отмены экулизумаба, лечение следует немедленно возобновить. В настоящее время критически важным представляется разработка действенного биомаркера эндотелиального повреждения, который сможет на ранних сроках и точно прогнозировать развитие рецидива а-ГУСа. Это имеет особенное значение для разработки протоколов по отмене экулизумаба. Вопросы оптимальной длительности терапии и способа отмены экулизумаба, безусловно, заслуживают проведения дальнейших исследований [6].

Заключение

На основании анализа литературы и клинического наблюдения, мы считаем принципиальным следующие принципы диагностики и лечения аГУС:

1. Все беременные, с признаками ТМА, в случае прогрессирования симптоматики микрососудистого тромбоза, должны быть обследованы на наличие аГУС.

2. Схемы диагностики аГУС, предложенные профессором М. М. Батюшиным [1, 8], подтвердили свою эффективность в настоящем наблюдении (схема 1, 2).

3. В случае подтверждения диагноза аГУС, следует немедленно начинать терапию Экулизумабом по схеме, описанной в настоящей работе.

Литература

1. Campistol J.M., Arias M., Ariceta G., Blasco M., Espinosa L., Espinosa M., Grinyó J.M., Macía M., Mendizábal S., Praga M., Román E., Torra R., Valdés F., Vilalta R., Rodríguez de Córdoba S. An update for atypical haemolytic uraemic syndrome: diagnosis and treatment. A consensus document. *Nefrologia*. 2015; 35 (5): 421–447. <http://dx.doi.org/10.1016/j.nefro.2015.07.005>. PMID: 26456110
2. Козловская Н.Л., Меркушева Л.И., Кирсанова Т.В., Рунихина Н.К. Особенности течения и исхода атипичного гемолитико-уремического синдрома при беременности. *Клиническая нефрология*. 2012; 3: 44–49.
3. Noris M., Giuseppe R. Atypical hemolytic-uremic syndrome. *N. Engl. J. Med.* 2009; 361 (17): 1676–1687. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMra0902814>. PMID: 19846853
4. Châtelet V., Lobbedez T., Frémeaux-Bacchi V., Ficheux M., Ryckelynck J.P., Hurault de Ligny B. Eculizumab: safety and efficacy after 17 months of treatment in a renal transplant patient with recurrent atypical hemolytic-uremic syndrome: case report. *Transplant. Proc.* 2010; 42 (10): 4353–4355. <http://dx.doi.org/10.1016/j.transproceed.2010.09.125>. PMID: 21168697
5. Donne R.L., Abbs I., Barany P., Elinder C.G., Little M., Conlon P., Goodship T.H. Recurrence of hemolytic uremic syndrome after live related renal transplantation associated with subsequent de novo disease in the donor. *Am. J. Kidney Dis.* 2002; 40 (6): E22. PMID: 12460067
6. Zuber J., Fakhouri F., Roumenina L.T., Loirat C., Frémeaux-Bacchi V.; French Study Group for aHUS/C3G. Use of eculizumab for atypical haemolytic uraemic syndrome and C3 glomerulopathies. *Nat. Rev. Nephrol.* 2012; 8 (11): 643–657. <http://dx.doi.org/10.1038/nrneph.2012.214>. PMID: 23026949
7. Акиншина С.В., Бицадзе В.О., Гадаева З.К., Макасария А.Д. Значение тромботической микроангиопатии в патогенезе акушерских осложнений. *Акушерство, гинекология и репродукция*. 2015; 9 (2): 62–71.
8. Батюшин М.М. Атипичный гемолитико-уремический синдром при беременности и HELLP-синдром. Вопросы дифференциальной диагностики. *Клиническая нефрология*. 2015; 2: 46–51.
9. Kavanagh D., Goodship T.H. Atypical hemolytic uremic syndrome. *Curr. Opin. Hematol.* 2010; 17 (5): 432–438. <http://dx.doi.org/10.1097/MON.0b013e32833cae86>. PMID: 20613506

References

1. Campistol J.M., Arias M., Ariceta G., Blasco M., Espinosa L., Espinosa M., Grinyó J.M., Macía M., Mendizábal S., Praga M., Román E., Torra R., Valdés F., Vilalta R., Rodríguez de Córdoba S. An update for atypical haemolytic uraemic syndrome: diagnosis and treatment. A consensus document. *Nefrologia*. 2015; 35 (5): 421–447. <http://dx.doi.org/10.1016/j.nefro.2015.07.005>. PMID: 26456110
2. Kozlovskaya N.L., Merkusheva L.I., Kirsanova T.V., Runikhina N.K. Osobennosti techeniya i iskhoda atipichnogo gemolitiko-uremicheskogo sindroma pri beremennosti. [Specific features of the course and outcome of atypical hemolytic-uremic syndrome in pregnancy]. *Klinicheskaya Nefrologiya*. 2012; 3: 44–49. [In Russ.]
3. Noris M., Giuseppe R. Atypical hemolytic-uremic syndrome. *N. Engl. J. Med.* 2009; 361 (17): 1676–1687. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMra0902814>. PMID: 19846853
4. Châtelet V., Lobbedez T., Frémeaux-Bacchi V., Ficheux M., Ryckelynck J.P., Hurault de Ligny B. Eculizumab: safety and efficacy after 17 months of treatment in a renal transplant patient with recurrent atypical hemolytic-uremic syndrome: case report. *Transplant. Proc.* 2010; 42 (10): 4353–4355. <http://dx.doi.org/10.1016/j.transproceed.2010.09.125>. PMID: 21168697
5. Donne R.L., Abbs I., Barany P., Elinder C.G., Little M., Conlon P., Goodship T.H. Recurrence of hemolytic uremic syndrome after live related renal transplantation associated with subsequent de novo disease in the donor. *Am. J. Kidney Dis.* 2002; 40 (6): E22. PMID: 12460067
6. Zuber J., Fakhouri F., Roumenina L.T., Loirat C., Frémeaux-Bacchi V.; French Study Group for aHUS/C3G. Use of eculizumab for atypical haemolytic uraemic syndrome and C3 glomerulopathies. *Nat. Rev. Nephrol.* 2012; 8 (11): 643–657. <http://dx.doi.org/10.1038/nrneph.2012.214>. PMID: 23026949
7. Akinshina S.V., Bitsadze V.O., Gadaeva Z.K., Makatsariya A.D. Znachenie trombolicheskoi mikroangiopatii v patogeneze akusher-skikh oslozhnenii. [Thrombotic microangiopathy in the pathogenesis of obstetric complications]. *Akusherstvo, Ginekologiya i Reproduktsiya*. 2015; 9 (2): 62–71. [In Russ.]
8. Batyushin M.M. Atipichnyi gemolitiko-uremichesky sindrom pri beremennosti i HELLP-sindrom. Voprosy differentsialnoi diagnostiki.

10. Шукевич Д.Л., Переделкин Д.К., Григорьев Е.В., Разумов А.С., Чурляев Ю.А., Шукевич Л.Е. Продолжительная заместительная почечная терапия при тяжелом акушерском сепсисе. *Общая реаниматология*. 2010; 4 (2): 21–24. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2010-2-21>
11. Laurence J. Atypical hemolytic uremic syndrome (aHUS): making the diagnosis. *Clin. Adv. Hematol. Oncol.* 2012; 10 (10 Suppl 17): 1–12. PMID: 23187605

Поступила 22.05.15

- [Atypical hemolytic-uremic syndrome in pregnancy and HELLP syndrome. Differential diagnostic problems]. *Klinicheskaya Nefrologiya*. 2015; 2: 46–51. [In Russ.]
9. Kavanagh D., Goodship T.H. Atypical hemolytic uremic syndrome. *Curr. Opin. Hematol.* 2010; 17 (5): 432–438. <http://dx.doi.org/10.1097/MOH.0b013e32833cae86>. PMID: 20613506
10. Shukevich D.L., Peredelkin D.K., Grigoryev E.V., Razumov A.S., Churlyayev Yu.A., Shukevich L.E. Prodolzhitelnaya zamestitelnaya pochechnaya terapiya pri tyazhelom akusherskom sepsise. *Obshchaya Reanimatologiya*. [Continuous renal replacement therapy for severe obstetric sepsis. *General Reanimatology*]. 2010; 4 (2): 21–24. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2010-2-21>. [In Russ.]
11. Laurence J. Atypical hemolytic uremic syndrome (aHUS): making the diagnosis. *Clin. Adv. Hematol. Oncol.* 2012; 10 (10 Suppl 17): 1–12. PMID: 23187605

Submitted 22.05.15

КАЛЕНДАРЬ МЕРОПРИЯТИЙ — 2016

ФГБНУ «НИИ общая реаниматология им. В. А. Неговского»
г. Москва, ул. Петровка, 25/2, +7 (495) 650-25-17
www.niiorramn.ru • niiorramn@niiorramn.ru

Сертификационный цикл повышения квалификации врачей
по специальности «Анестезиология-реаниматология»
14 марта — 08 апреля

Симпозиум «Фармакотерапия критических состояний» в рамках
XXIII Российского национального конгресса «Человек и лекарство»
11–14 апреля

Международная конференция
«Актуальные вопросы анестезиологии, реаниматологии и токсикологии»
21–22 апреля

XII ежегодная Всероссийская конференция с международным участием
«Проблема инфекции при критических состояниях»
02–03 июня

Сертификационный цикл повышения квалификации врачей
по специальности «Анестезиология-реаниматология»
07 ноября — 02 декабря

Всероссийская конференция молодых ученых
«Современные методы диагностики и лечения в реаниматологии»
16 ноября

XVIII Всероссийская конференция с международным участием
«Жизнеобеспечение при критических состояниях»
17–18 ноября

ОСОБЕННОСТИ ИНТЕНСИВНОГО ЛЕЧЕНИЯ БОЛЬНЫХ, ПЕРЕНЕСШИХ ТРАХЕОСТОМИЮ

Е. А. Кирасирова^{1,2}, Н. В. Лафуткина¹, О. К. Пиминиди¹,
Р. Ф. Мамедов¹, Е. А. Кузина²

¹ Научно-исследовательский клинический институт оториноларингологии
им. Л. И. Свержевского Департамента здравоохранения г. Москвы,
Отдел «Реконструктивной хирургии полых органов шеи»,
Россия, 117152, г. Москва, Загородное шоссе, д. 18-А, стр. 2

² Национальный Исследовательский Медицинский Университет
им. Н. И. Пирогова Минздрава России, Кафедра оториноларингологии лечебного факультета,
Россия, 117997, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1

Features of Intensive Treatment in Patients after Tracheostomy

E. A. Kirasirova^{1,2}, N. V. Lafutkina¹, O. K. Piminidi¹, R. F. Mamedov¹, E. A. Kuzina²

¹ L. I. Sverzhovsky Research Clinical Institute of Otorhinolaryngology, Moscow Healthcare Department,
Department of Reconstructive Surgery for Hollow Organs of the Neck,
18-A, Zagorodnoe Shosse, Build. 2, Moscow 117152, Russia

² N. I. Pirogov Russian National Medical Research University, Ministry of Health of Russia,
Department of Otorhinolaryngology, Faculty of Therapeutics,
1, Ostrovityanov St., Moscow 117997, Russia

Цель исследования — повышение эффективности медицинской реабилитации больных, перенесших ИВЛ и трахеостомию в отделении интенсивной терапии, посредством динамического клинко-лабораторного, эндоскопического контроля и адекватной терапии выявленной патологии.

Материалы и методы. Обследовано 120 больных в разные сроки ИВЛ, которым в отделении реанимации и интенсивной терапии проведена операция — трахеостомия, из них мужчин — 76, женщин — 44 в возрасте от 15 до 78 лет. Описана техника проведения операции — трахеостомии, представлена клинко-эндоскопическая картина состояния слизистой оболочки гортани и трахеи у больных. Проведено типирование бактерий, выделенных у больных, находившихся на ИВЛ; патоморфологическое исследование хрящей передней стенки трахеи больным в разные сроки ИВЛ.

Результаты. Результаты микробиологического исследования показали преобладание сочетанной микрофлоры: стафилококк, синегнойная палочка, протей. Интраоперационное патоморфологическое исследование хрящей передней стенки трахеи было проведено 30 больным в разные сроки ИВЛ. Отмечено, что даже при продолжительности интубации трахеи до 3 суток развиваются патологические изменения слизистой оболочки гортани и трахеи, деструктивные и дистрофические изменения хрящей трахеи. Морфологическое исследование хрящей трахеи больных, находящихся на ИВЛ от 4 до 7 суток, выявило нарастание деструктивных и дистрофических процессов в перетрахеальной соединительной ткани, скопление лейкоцитов и очаговые кровоизлияния. При продолжительности интубации более 7 суток определялась частичная гибель хряща, замена его грануляционной тканью, появление участков секвестрации мертвого хряща. При эндоскопическом осмотре у всех (120) обследованных больных выявлены постинтубационные изменения гортани и трахеи различной степени выраженности.

Заключение. В результате проведенного лечения деканюлировано 111 больных; 16 пациентам проведены эндоскопические вмешательства на гортани и трахее; 4 больным с постинтубационным стенозом гортани и трахеи выполнены реконструктивные операции с последующей деканюляцией, 5 больных с тяжелой сопутствующей патологией остались хроническими канюленосителями.

Ключевые слова: ИВЛ; трахеостомия; микрофлора; морфология; диагностика; лечение

Адрес для корреспонденции:

Екатерина Кузина
E-mail: 43lor@mail.ru

Correspondence to:

Ekaterina Kuzina
E-mail: 43lor@mail.ru

Guidelines for Practitioner

Objective: to enhance the efficiency of medical rehabilitation in patients who have undergone mechanical ventilation (MV) and tracheostomy in an intensive care unit through dynamic clinical, laboratory, endoscopic control and adequate therapy for detected pathology. A total of 120 intensive care unit patients who had undergone tracheostomy in different MV periods were examined.

Subjects and methods. A total of 120 patients (76 men and 44 women) aged 15 to 78 years were examined in different MV periods. All the patients were operated on in intensive care units. The surgical techniques of tracheostomy were described; the clinical and endoscopic pattern of the laryngeal and tracheal mucosa in patients on MV was presented. The bacteria isolated from the patients on MV were typed; the cartilages of the anterior tracheal wall were pathomorphologically studied in different MV periods.

Results. Microbiological examination indicated the predominance of the mixed microflora: *Staphylococcus*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Proteus*. Intraoperative postmortem examination of the cartilages of the anterior tracheal wall was made in 30 patients in different MV periods who were noted to develop pathological changes in the laryngeal and tracheal mucosa and destructive and dystrophic alterations in the tracheal cartilage even if their intubation lasted as long as 3 days. Morphological examination of tracheal cartilages in patients who were on MV for 4 to 7 days revealed progressive destructive and dystrophic processes in peritracheal connective tissue, leukocyte accumulation, and focal bleeding. During intubation for more 7 days, there was partial death of the cartilage, its replacement by granulation tissue, and appearance of regions of sequestration of the dead cartilage. Endoscopic examination showed varying degrees of postintubation laryngeal and tracheal changes in all ($n=120$) the examinees.

Conclusion. The performed treatment permitted decannulation of 111 patients; 16 patients underwent endoscopic intervention into the larynx and trachea; reconstructive operations followed by decannulation were performed in 4 patients with postintubation laryngeal and tracheal stenosis; 5 patients with severe comorbidity remained to be chronic cannula carriers.

Key words: mechanical ventilation; tracheostoma; microflora; morphology; diagnosis; treatment

DOI:10.15360/1813-9779-2015-6-69-78

Введение

В настоящее время в результате автокатастроф, техногенных аварий, военных конфликтов отмечен рост числа больных, нуждающихся в проведении реанимационных мероприятий, включающих интубацию трахеи, искусственную вентиляцию легких и трахеостомию. Кроме того, стало возможным выполнение хирургических операций на сердце, крупных сосудах, головном мозге у исходно тяжелой категории больных, что в послеоперационном периоде часто требует проведения длительной ИВЛ и трахеостомии [1–8].

Установлено, что даже непродолжительная по времени ИВЛ, погрешности в технике трахеостомии оказывают отрицательное воздействие на состояние слизистой оболочки гортани и трахеи, способствуют образованию эрозий и формированию в последующем стеноза различной степени выраженности [9–13].

В литературе малочисленны сведения о клинико-эндоскопической картине состояния слизистой оболочки гортани и трахеи у больных, получающих ИВЛ, трактовке этих данных и их влиянии на развитие постинтубационных повреждений верхних дыхательных путей. Остаются дискуссионными вопросы о сроках проведения трахеостомии при ИВЛ, способе подбора необходимых трахеостомических трубок и тактики ведения больных после трахеостомии [14, 15].

Комплексное изучение проблемы постинтубационных стенозов гортани и трахеи необходи-

Introduction

Currently, due to increases in road accidents, technological accidents and military conflicts significant number of patients require resuscitation procedures including intubation, mechanical ventilation and tracheostomy. In addition, surgeries of the heart, major vessels, and brain often require postoperative mechanical ventilation of lungs and tracheostomy [1–8].

It has been found that a short duration of mechanical ventilation and tracheostomy technique errors negatively impacts on the mucous membrane of the larynx and trachea, contribute to the formation of erosions and the formation of subsequent stenosis of varying severity [9–13].

In the literature there are few data on clinical and endoscopic evaluation of the mucous membrane of the larynx and trachea in patients undergoing mechanical ventilation. Interpretations of the data related to the development of postintubation damage of the upper airways remain poor. Questions on the timing of tracheostomy during mechanical ventilation, selecting the required tracheostomy tubes and management of patients after tracheostomy are debated [14, 15].

A comprehensive study of the problem of postintubation stenosis of the larynx and trachea is necessary for early detection of postintubation changes, developing tactics of patients who underwent tracheostomy in the ICU and strategy of adequate medical and social rehabilitation of this category patients.

Таблица 1. Распределение обследованных больных на группы в зависимости от продолжительности ИВЛ ($n=120$).
Table 1. Distribution of patients examined in groups depending on the duration of mechanical ventilation ($n=120$).

Groups of patients	Duration of mechanical ventilation, days	The Number of patients	%
1	up to 3	32	27
2	4–7	56	46
3	more 7	32	27

Примечание: Groups of patients — группы больных; Duration of mechanical ventilation, days — продолжительность искусственной вентиляции легких, сутки; The number of patients — число больных (то же для таблиц 3–5); up to — до; more — более.

мо как для раннего выявления постинтубационных изменений, выработки тактики ведения больных, перенесших трахеостомию в отделении интенсивной терапии, так и для осуществления их адекватной медико-социальной реабилитации.

Цель исследования — повышение эффективности медицинской реабилитации больных, перенесших ИВЛ и трахеостомию в отделении интенсивной терапии, посредством динамического клинико-лабораторного, эндоскопического контроля и адекватной терапии выявленной патологии.

Материал и методы

С целью определения влияния пролонгированной интубации трахеи и трахеостомии на слизистую оболочку гортани и трахеи обследовали 120 больных в разные сроки ИВЛ, из них мужчин — 76, женщин — 44, в возрасте от 15 до 78 лет. Все больные были оперированы в отделениях реанимации и интенсивной терапии.

В зависимости от продолжительности ИВЛ, больные распределились на 3 группы.

Как следует из таблицы, у большинства больных продолжительность ИВЛ составила от 1 до 7 суток.

Основной причиной реанимационных вмешательств и проведения ИВЛ явилась тяжелая сочетанная травма (41%).

При проведении трахеостомии, учитывали индивидуальные конституциональные параметры телосложения больного. Перешеек щитовидной железы в 60% случаев смещали вверх, в 34% — вниз; в 6% — препарировали и рассекали между лигатурами. Трахеостому формировали на уровне 2–4 полуколец трахеи. Величина разреза трахеи соответствовала размеру канюли. В просвет трахеи вводили трахеостомические одно- или двухканальные трубки соответствующего диаметра фирмы Portex или Rusch ($d = 8$ мм), диаметр трубки составлял примерно $2/3$ диаметра трахеи.

Клиническое обследование и динамическое наблюдение больных проводили по специально разработанной схеме, в которой учитывали: причины ИВЛ; наличие сопутствующей патологии; длительность ИВЛ до трахеостомии; вид трахеостомии, размер трахеостомической трубки; сроки перевода больного с управляемого на спонтанное дыхание. Осуществляли патоморфологическое и микробиологическое исследование хрящей и слизистой оболочки трахеи в разные сроки ИВЛ (3, 5, 7 суток); эндоскопию верхних дыхательных путей с видеодокументированием; рентгеноматографию гортани и трахеи; динамический эндоскопический

Objective: to improve the efficiency of medical rehabilitation of patients after tracheostomy and mechanical ventilation in the ICU through a dynamic clinical and laboratory, endoscopic control and adequate therapy revealed pathology.

Materials and Methods

To determine the effect of prolonged intubation and tracheostomy on the mucous membrane of the larynx and trachea, we examined 120 patients at different periods of mechanical ventilation, including 76 men and 44 women at age from 15 to 78 years. All patients were operated in emergency departments and intensive care.

Depending on the duration of mechanical ventilation, patients were divided into 3 groups

As the table shows, for the majority of patients the duration of mechanical ventilation ranged from 1 to 7 days.

The Table demonstrates that the main cause of a need in resuscitation with interventions and mechanical ventilation was severe concomitant injury (41%).

In a tracheostomy step, we take into account the individual parameters of the patient. The isthmus of the thyroid gland in 60% of cases have displaced upwards, in 34% — downwards; 6% — dissected between the ligatures. Tracheostomy was formed at the level of 2–4 rings of the trachea. The magnitude of the cut size corresponded tracheal cannula. In the lumen of the trachea was introduced tracheostomy tubes of appropriate diameter, Portex or Rusch ($d=8$ mm), the diameter of the tube is about $2/3$ the diameter of the trachea.

Clinical examination and follow-up of patients was carried out by a specially developed circuit, which took into account the causes of mechanical ventilation; presence of comorbidities; duration of mechanical ventilation; tracheostomy view, the size of the tracheostomy tube; terms of transfer of the patient from a managed to spontaneous breathing. We made pathology and microbiological examination of cartilage and tracheal mucosa in different periods of mechanical ventilation (3, 5, 7 days); endoscopy of the upper respiratory tract with computerized tomography of larynx and trachea; dynamic endoscopic control of the larynx and trachea after 1.5 months, 3 months, 6 months after decannulation.

Results and Discussion

Clinical observation of 120 patients who underwent tracheostomy and mechanical ventilation in the intensive care unit, revealed features of the

Guidelines for Practitioner

Таблица 2. Причины, приведшие к необходимости реанимационных вмешательств и проведения ИВЛ (n=120).
Table 2. The reasons that led to the need for intensive care interventions and mechanical ventilation (n=120).

The character of the pathology	The absolute number	%
Severe concomitant injury	49	41
Patients who have undergone surgery	26	22
Infectious disease (botulism, tetanus, etc.).	12	10
Acute ischemic attack	8	7
Cardiac infarction	7	6
Pathology in childbirth (eclampsia, disseminated intravascular coagulation syndrome)	5	4
Kussmaul's coma	5	4
Status asthmaticus	4	3
Poisoning by chemicals	4	3

Примечание: The character of the pathology — характер патологии; Severe concomitant injury — тяжелые сочетанные травмы; Patients who have undergone surgery — больные, перенесшие хирургические вмешательства; Infectious disease (botulism, tetanus, etc.) — инфекционные заболевания (ботулизм, столбняк и др.); Acute ischemic attack — острое нарушение мозгового кровообращения; Cardiac infarction — инфаркт миокарда; Pathology in childbirth (eclampsia, disseminated intravascular coagulation syndrome) — патология в родах (эклампсия, синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания); Kussmaul's coma — диабетическая кома; Status asthmaticus — астматический статус; Poisoning by chemicals — отравление химическими веществами; The absolute number — абсолютное число.

контроль состояния гортани и трахеи через 1,5 месяца, 3 месяца, 6 месяцев после деканюляции трахеи.

Результаты и обсуждение

Анализ клинических наблюдений 120 больных позволил выявить особенности развития и течения патологических процессов в гортани и трахее, связанных с пролонгированной ИВЛ и трахеостомией. Отметим, что характер течения послеоперационного периода во многом зависел от вида микрофлоры и ее чувствительности к антибактериальной терапии. При инфекции вызванной ассоциациями бактерий, заживление происходило, в основном, вторичным натяжением.

Перед трахеостомией мы провели типирование бактерий, выделенных у 80 обследованных больных, находившихся на ИВЛ в отделениях интенсивной терапии. В результате исследования отмечено преобладание сочетанной микрофлоры. В частности симбиоз стафилококка и синегнойной палочки, либо протей, т. е. типичная микрофлора отделений интенсивной терапии.

У 30 больных провели исследование микрофлоры слизистой оболочки трахеи в динамике на 3, 5 и 7 сутки после проведения трахеостомии. Результаты бактериологического исследования показали, что на 3 сутки из трахеобронхиального дерева высевалась в основном грамположительная флора: эпидермальный стафилококк, золотистый стафилококк. На 5 сутки преобладала синегнойная палочка (77% больных), клебсиелла, стафилококки (в основном в ассоциациях), к 7 суткам отмечалось снижение титров *Pseudomonas aeruginosa* (46% больных), появление дрожжеподобных грибов.

Проведенный анализ антибиотикочувствительности выделенных грамположительных госпитальных штаммов показал, что 90% штаммов

development and course of pathological processes in the larynx and trachea, associated with prolonged mechanical ventilation and tracheostomy. It is noted that the nature of postoperative period depends largely on the type of microflora and its sensitivity to antibacterial therapy.

Typing of bacteria isolated from 80 examined patients on mechanical ventilation in the ICU was performed prior to tracheostomy. The prevalence of concomitant microflora was determined. In particular, symbiosis of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* or *Proteus*, i.e. typical microflora ICU, were typical for these patients.

In 30 patients microflora derived from the mucous membrane of the trachea was studied in dynamics on days 3, 5 and 7 post-tracheostomy. The results of bacteriological studies have shown that on day 3 mainly gram-positive microflora (*Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*) were determined. On day 5, *Pseudomonas aeruginosa* (77% patients) prevailed, and *Klebsiella* and *Staphylococcus aureus* associated frequently. On day 7, a decrease in *Pseudomonas aeruginosa* (occured only in 46% patients) became associated with the appearance of yeasts.

The analysis of antibiotic susceptibility of gram-positive nosocomial isolated strains showed that 90% of *Staphylococcus aureus* strains were resistant to methicillin and other β -lactams. According to drug sensitivity monitoring, the sensitivity to vancomycin remained at a high level (100%).

Highlighted in the examined patients, *Pseudomonas aeruginosa* strains were highly sensitive only to imipenem (88, 7%) and meropenem (93.9%), whereas 68.4% of microorganisms were sensitive to ceftazidime.

Klebsiella pneumoniae was characterized by a high level of resistance to III generation cephalosporins except cephamycins that produced β -

Staphylococcus aureus были резистентны к метициллину и другим β -лактамам. По данным проведенного мониторинга, чувствительность к ванкомицину остается на высоком уровне — 100%.

Выделенные у обследованных больных штаммы синегнойной палочки обладали высокой чувствительностью лишь к имипенему (88,7%) и меропенему (93,9%), к цефтазидиму были чувствительны 68,4% микроорганизмов.

Спектр антибиотикорезистентности *Klebsiella pneumoniae* характеризовался высоким уровнем устойчивости к цефалоспорином III поколения, за исключением цефамицинов, что связано с продукцией этим микроорганизмом β -лактамаз расширенного спектра действия. Наибольшей активностью в отношении *K. pneumoniae* обладали имипенем, амикацин и цефотетан.

Интраоперационное патоморфологическое исследование хрящей передней стенки трахеи было проведено 30 больным в разные сроки ИВЛ.

У больных 1 группы (1–3 суток ИВЛ) результаты проведенного морфологического исследования хрящей трахеи показали, что уже к 1 суткам ИВЛ определяются дистрофические изменения с потерей хрящевых клеток. На 2 сутки ИВЛ в хрящах трахеи выявлены значительные дистрофические изменения, основное вещество плохо окрашивалось, местами было пропитано плазменными белками, в хондроцитах отмечен пикноз ядер. К 3 суткам ИВЛ наступала отслойка перихондра, поверхность лишнего перихондра хряща была узурирована, покрыта фибринозными наложениями, хрящ не содержал хрящевых клеток.

Следовательно, продолжительность интубации трахеи до 3 суток вызывает патологические изменения не только в слизистой оболочке гортани и трахеи, но и деструктивные и дистрофические изменения в хрящах трахеи.

Анализ результатов проведенного морфологического исследования больных 2 группы показал, что на 4–7 суток ИВЛ в хрящах трахеи возникают более глубокие дистрофические и деструктивные изменения — перихондрий обычно отсутствовал, поверхность хряща была узурирована, наблюдали очаги хондронекроза в участках прилежащих к поврежденному перихондрию. У некоторых больных на фоне выраженных дистрофических процессов, происходящих в хрящевой ткани, отмечали ее замену грануляционной тканью. Морфологическое исследование хрящей трахеи больных, получавших ИВЛ 4–7 суток, позволило выявить нарастание деструктивных и дистрофических процессов. В перитрахеальной соединительной ткани выявили очаговое скопление лейкоцитов и очаговые кровоизлияния.

Морфологическое исследование хрящей трахеи больных 3 группы, получавших ИВЛ более 7 суток, выявило наряду с гибелью хряща и

lactamase. Maximum antibacterial activity against *K. pneumoniae* had imipenem, amikacin and tsefotetan.

Intraoperative pathological examination of cartilage anterior wall of the trachea was performed in 30 patients at different periods of mechanical ventilation.

In Group 1 (mechanical ventilation for 1–3 days) the results of morphological examination of tracheal cartilage showed the degenerative changes with loss of cartilage cells on the first day of ventilation. On day 2 of mechanical ventilation histological observations of the cartilage of the trachea revealed significant degenerative changes, the basic substance was stained poorly, marked pyknosis of nuclei was observed in chondrocytes. After 3 days of mechanical ventilation the advanced detachment of perichondrium surface devoided of cartilage perichondrium covered fibrinous deposits became evident, and cartilage lost cartilage cells.

Consequently, the length of intubation to 3 days led to pathological changes not only in the mucosa of the larynx and trachea. Destructive and dystrophic changes in the cartilage of the trachea were easily observed starting from day 3.

Morphological studies of patients from group 2 showed that 4–7 hours of mechanical ventilation revealed deeper dystrophic and destructive changes in the cartilage of the trachea that included absence of perichondry and necrotic foci in areas adjacent to the damaged perichondrium. In peritrahéal connective tissue focal accumulation of leukocytes and focal hemorrhage were revealed.

Morphological examination of the tracheal cartilage in group 3 (patients were on mechanical ventilation for more than 7 days) revealed the loss of cartilage and its replacement by granulation tissue, along with the presence of regeneration processes as demonstrated by focal chondrocyte proliferation, thickening and fibrosis perichondrium, and the emergence of sequestration of dead cartilage tissue.

Development of destructive and degenerative processes was associated with the severity of the general condition of the patient that included functional disorders of the respiratory, cardiovascular and central nervous systems, accompanied by nosocomial infection (tracheobronchitis, pneumonia, sepsis).

All patients of the first group after transferring to a spontaneous breathing were performed by endoscopy of larynx and trachea. To perform endoscopy of the trachea, the tracheostomy tube was removed and different parts of the larynx, followed by cervical and thoracic trachea were examined. At the same time the state of the mucous membrane of the larynx and trachea were thoroughly assessed.

It was found that 100% of the patients had postintubation changes in the larynx and trachea of different degrees of severity.

Guidelines for Practitioner

Таблица 3. Постинтубационные изменения гортани и трахеи у больных, получавших на ИВЛ в первые 3-е суток ($n=32$).**Table 3. Postintubation changes in the larynx and trachea in patients on mechanical ventilation in the first 3 days ($n=32$).**

The results of endofibrotracheoscopy	The number of patients
Damage to the cervical trachea	24
Edematous laryngitis with stenosis of the larynx I–II degrees	5
Scar-granulation «canopy» over the top edge of the tracheostomy	2
Postintubation unilateral paresis of the larynx with stenosis I–II degree	1

Примечание: The results of endofibrotracheoscopy — результаты эндоброфотрахеоскопии; Damage to the cervical trachea — повреждение шейного отдела трахеи; Edematous laryngitis with stenosis of the larynx I–II degrees — отечный ларингит со стенозом гортани I–II степени; Scar-granulation «canopy» over the top edge of the tracheostomy — рубцово-грануляционный «козырек» над верхним краем трахеостомы; Postintubation unilateral paresis of the larynx with stenosis I–II degree — постинтубационный односторонний парез гортани со стенозом I–II степени.

заменой его грануляционной тканью, наличие процессов регенерации, что выражалось в очаговой пролиферации хондроцитов, утолщении и фиброзе перихондрия, а также появлением секвестрации мертвого хряща.

Очевидно, что в хрящевой ткани трахеи больных, получавших ИВЛ, в различные сроки развитие деструктивных и дистрофических процессов связано с тяжестью общего состояния больного, функциональными нарушениями органов дыхания, сердечно-сосудистой и центральной нервной систем, с ранним «присоединением» нозокомиальной инфекции (трахеобронхит, пневмония, сепсис).

Всем обследованным пациентам первой группы после их перевода с ИВЛ на спонтанное дыхание проводили эндоброфоскопическое (ЭФБС) исследование гортани и трахеи. Во время эндоскопического осмотра трахеи трахеостомическую трубку удаляли. Осматривали вестибулярный, складковый и подскладковый отделы гортани, затем шейный и грудной отдел трахеи. При этом оценивали состояние слизистой оболочки гортани и трахеи. Обязательное эндоскопическое исследование проводили также при деканюляции больного.

Было установлено, что у 100% обследованных больных имели место постинтубационные изменения гортани и трахеи различной степени выраженности.

В таблице 3 представлены данные ЭФБС 1 группы больных (ИВЛ 1–3 суток).

В данной группе преобладали поражения слизистой оболочки шейного отдела трахеи эрозивно-язвенного характера в сочетании с грануляциями.

Диагностированные в результате эндоскопического исследования постинтубационные изменения в гортани и трахее у больных 2 группы представлены в таблице 4.

В данной группе больных преобладала клиника отечного ларингита со стенозом гортани I–II степени, эрозивно-язвенного трахеита и сочетание патологий.

Table 3 presents data of endoscopy study in group 1 (mechanical ventilation for 1–3 hours).

The table above shows that in this group of patients with predominant mucosal lesions of the cervical trachea the erosive and ulcerative lesions were combined with granulation.

The average term of patients on mechanical ventilation from the moment of transfer to tracheostomy to spontaneous breathing in this group was 12–17 days.

Postintubation changes in the larynx and trachea in patients are shown in Table 4.

Table 4 shows that in this group of patients edematous laryngitis with stenosis of the larynx of 1–2 degree dominated accompanied by erosive and ulcerative tracheitis and other pathological features. The average term of patients on mechanical ventilation from the moment of transfer to a tracheostomy to spontaneous breathing in this group was 10–15 days.

Results of endoscopy of mucosa of the larynx and trachea in group 3 (mechanical ventilation over 7 days) are shown in Table 5.

Table 5 shows that in this group postintubation damage of larynx and cervical trachea tissues dominated accompanied by lesions of vocal part of the larynx. This feature can be explained by trauma of cartilage skeleton of the larynx during intubation, followed by developing inflammation in the mucous membrane and cartilage of the larynx due to prolonged mechanical action of the endotracheal tube. The average term of patients on mechanical ventilation from the moment of transfer to a tracheostomy to spontaneous breathing in this group was 5–11 days.

Methods of treatment of patients with postintubation alterations of larynx and trachea.

Clinical managing the patients undergoing mechanical ventilation and tracheostomy includes preventive measures, the implementation of which should be carried out during the surgery and postoperative care and directed to reduce inflammation and injury elements in laryngotracheal complex to ensure postoperative wound healing, early detection and treatment of pathological changes.

Таблица 4. Постинтубационные изменения гортани и трахеи у больных, получавших на ИВЛ 4–7 суток (n=56).
Table 4. Postintubation changes in the larynx and trachea in patients on mechanical ventilation in the 4–7 days (n=56).

The results of endofibrotracheoscopy	The number of patients
Erosive and ulcerative tracheitis varying severity	22
Edematous laryngitis with stenosis of the larynx I–II degrees	19
Postintubation unilateral paresis of the larynx with stenosis I–II degree	5
Granulation of the mucous membrane of the cervical trachea	4
Scar-granulation «canopy» over the top edge of the tracheostomy	4
A granuloma of the larynx	2

Примечание: The results of endofibrotracheoscopy — результаты эндофибротрахеоскопии; Damage to the cervical trachea — повреждения шейного отдела трахеи; Edematous laryngitis with stenosis of the larynx I–II degrees — отечный ларингит со стенозом гортани I–II степени; Scar-granulation «canopy» over the top edge of the tracheostomy — рубцово-грануляционный «козырек» над верхним краем трахеостомы; Postintubation unilateral paresis of the larynx with stenosis I–II degree — постинтубационный односторонний парез гортани со стенозом I–II степени.

Таблица 5. Постинтубационные изменения гортани и трахеи у больных, получавших на ИВЛ более 7 суток (n=32).
Table 5. Postintubation changes in the larynx and trachea in patients on mechanical ventilation more then 7 days (n=32).

The results of endofibrotracheoscopy	The number of patients
Combined postintubation changes in the larynx and cervical trachea	17
Erosive edematous laryngitis with stenosis of the larynx II–III degree	5
Violation of separating function of the larynx II–III degree	3
Scar membrane glottis	3
Scar-granulation «canopy» over the top edge of the tracheostomy	2
Postintubation bilateral paresis of the larynx with stenosis of III degree	1
Subluxation of the right cricoarytenoidea joint	1

Примечание: The results of endofibrotracheoscopy — результаты эндофибротрахеоскопии; Combined postintubation changes in the larynx and cervical trachea — сочетанные постинтубационные изменения гортани и шейного отдела трахеи; Erosive edematous laryngitis with stenosis of the larynx II–III degree — отечно-эрозивный ларингит со стенозом гортани II–III степени; Violation of separating function of the larynx II–III degree — нарушение разделительной функции гортани II–III степени; Scar membrane glottis — рубцовая мембрана голосовой щели; Scar-granulation «canopy» over the top edge of the tracheostomy — рубцово-грануляционный «козырек» над верхним краем трахеостомы; Postintubation bilateral paresis of the larynx with stenosis of III degree — постинтубационный двусторонний парез гортани, со стенозом III степени; Subluxation of the right cricoarytenoidea joint — подвывих правого перстнечерпаловидного сустава.

Результаты эндоскопического исследования слизистой оболочки гортани и трахеи больных 3 группы (ИВЛ более 7 суток) представлены в таблице 5.

В данной группе преобладали сочетанные постинтубационные повреждения гортани и шейного отдела трахеи, а также поражения складчатого отдела гортани. Это можно объяснить травматизацией хрящевого остова гортани во время интубации, развитием воспалительного процесса в слизистой оболочке и хрящах гортани вследствие длительного механического воздействия интубационной трубки на ее элементы.

Средний срок нахождения больных на ИВЛ от момента проведения трахеостомии до перевода на спонтанное дыхание в этой группе составил 5–11 суток.

Методы лечения больных с постинтубационными изменениями гортани и трахеи.

Тактика ведения больных, перенесших ИВЛ и трахеостомию, заключалась в проведении профилактических мероприятий, выполнение которых осуществляли в ходе операции, и послеоперационный уход, направленный на уменьшение

Depending on the identified pathological processes in the larynx and trachea the conducted treatment might be different. Methods of treatment include drug therapy, physical therapy, phonetician exercises, and if indicated endoscopy and plastic surgery (laringotraheoplastics).

The scheme of medical treatment involves type-specific antibiotics, general and local anti-inflammatory therapy, drugs improving microcirculation.

The combination of antimicrobial drugs as initial therapy in the ICU is deployed to fight polybacterial infection as a complication when its probability is high. The most appropriate combination of antibiotics were as follows: carbapenems with glycopeptides, fluoroquinolones with aminoglycosides and metronidazole, cephalosporins, III–IV generation amikacin.

When hondroperihondritis of larynx and trachea was diagnosed, the local preparations like ointment (levomekol, baktroban, olazol, solkoseril) was deployed. This strategy was accompanied by a physical therapy to the area of the larynx and tracheostomy: electrophoresis, lydasum and neostigmine

травмы и воспаления элементов гортанно-трахеального комплекса, контроль за процессом заживления послеоперационной раны, раннее выявление и лечение патологических изменений.

В зависимости от выявленных патологических процессов в гортани и трахеи проводили различные виды лечения.

Способы лечения включали в себя: медикаментозную терапию, физиотерапевтические процедуры, фонопедические упражнения, по показаниям — эндоскопическое и оперативное лечение (ларинготрахеопластика).

Схема медикаментозного лечения включала в себя антибактериальную терапию с учетом вида микрофлоры, общую и местную противовоспалительную терапию, препараты, улучшающие микроциркуляцию.

Комбинацию антимикробных препаратов в качестве «стартовой» терапии в отделении реанимации назначали при высокой вероятности полиэтиологичности инфекционного осложнения. Использовали следующие комбинации антибиотиков: карбапенемы с гликопептидами; фторхинолоны с аминогликозидами и метронидазолом; цефалоспорины III—IV поколения с амикацином.

При явлениях хондроперихондрита гортани и трахеи с целью ликвидации воспалительного процесса применяли препараты местного действия на патогенную флору — мази (левомеколь, бактробан, олазол, солкосерил). Обязательно назначали физиотерапевтические процедуры на область гортани и трахеостомы: электрофорез с лидазой и прозергином, использовали также магнитотерапию — 7–10 сеансов. Физиотерапия способствовала уменьшению местных воспалительных явлений в области трахеостомы, профилактике процессов рубцевания.

При эрозивно-язвенном трахеите выполняли санационную бронхоскопию, во время которой вводили различные по механизму действия лекарственные вещества непосредственно в очаг воспаления.

Эндоскопические оперативные методы в качестве самостоятельного способа лечения постинтубационных изменений верхних дыхательных путей использовали при наличии грануляций, внутрипросветных перегородок (пристеночных, серповидных, полулунных, кольцевидных «мембран»), рубцово-грануляционного «козырька» над трахеостомой.

Методика удаления рубцово-грануляционных образований гортани и трахеи зависела от количества и размеров грануляций. Если их размеры не превышали 3 мм, то производили электрокоагуляцию с помощью диатермической петли или коагулятора. Если размеры образований превышали 3 мм, то на их основание набрасывали и затягивали диатермическую петлю, и

methylsulfate, magnetic devices were employed for 7–10 sessions. Physiotherapy contributed to the reduction of local inflammation in the tracheostomy and prevention of scarring processes.

Bronchoscopy was performed in erosive and ulcerative tracheitis, during which various drugs were deployed directly to the local place of inflammation. Endoscopic surgical methods were employed to treat postintubation changes in the upper respiratory tract such as granulation, intraluminal walls (parietal, sickle-shaped, semilunar, annular «membranes»), over-the-tracheostomy scar-granulation «canopy». Methods of removing scars following granulation of larynx and trachea tissues depended on the number and size of granulations. If the size does not exceed 3 mm, then electrocoagulation or loop diathermy coagulator are employed. If the dimensions of altered area exceeds 3 mm, high-frequency current short bits were deployed.

Ulcers formed at the site of granulation were cuticulated in 3–5 day, thus the control endoscopy was performed not earlier than this period expired.

Scar-granulated «canopy» over the tracheostomy was an indication for removal if the size was larger than 0.5 cm in diameter.

Surgical treatment as the laringotraheoplastics was performed in 4 patients. Postoperatively, the formation of the airways were performed with the aid of various stents including protectors individually selected for each patient. T-shaped tubes of two major dimensions and thermoplastic tracheotomy tube served as base prostheses.

The effectiveness of treatment of patients in each group with the postintubation alterations of larynx and cervical trachea was assessed by decannulation, elimination of tracheal defects, and restoration of voice and respiratory functions.

Conclusion

1. Prolonged intubation and mechanical ventilation is the cause of postintubation complications of varying severity within the larynx and trachea. Spreading of inflammatory processes in the respiratory system occurred in 100% of examined patients.

2. Severity of pathological changes in cartilage of trachea depended on duration of intubation: 1–3 hours of mechanical ventilation led to destructive and degenerative processes; 7 days of mechanical ventilation on the background of the destructive and degenerative processes resulted in a replacement of cartilage tissue with granulations; after 10 days of mechanical ventilation the pathological picture showed destruction of cartilage and its replacement by granulation tissue with areas of sequestration.

3. The spectrum of pathogens found in specimens harvested from the from the tracheobronchial tree material was presented predominantly by gram-

путем подачи коротких разрядов высокочастотного тока отсекали и извлекали эти образования.

Язвы, образовавшиеся на месте удаленных грануляций, эпителизовались на 3–5 сутки, поэтому контрольное эндоскопическое исследование выполняли не ранее этого срока.

Размеры рубцово-грануляционного «козырька» над трахеостомой более 0,5 см в диаметре считали показанием к его удалению.

Ларинготрахеопластика проведена 4 пациентам. В послеоперационном периоде формирование просвета дыхательных путей производили на различных стентах — протекторах, которые подбирали индивидуально для каждого больного. Базовыми протезами явились Т-образные трубки двух основных размеров и термопластические трахеотомические трубки.

Эффективность лечения больных каждой группы с постинтубационными изменениями гортани и шейного отдела трахеи оценивали по факту деканюляции, ликвидации трахеального дефекта, восстановлению фонации и дыхательной функции.

Выводы

1. Продленная интубация трахеи и ИВЛ является причиной возникновения постинтубационных осложнений различной степени тяжести в гортани и трахее, распространения гнойно-воспалительных процессов в бронхолегочной системе у 100% больных.

2. Выраженность патоморфологических изменений хрящей трахеи обусловлена длительностью интубации: в 1–3 сутки ИВЛ развиваются деструктивные и дистрофические процессы; к 7 суткам ИВЛ на фоне деструктивных и дистрофических процессов, происходит замена хрящевой ткани на грануляционную; к 10 суткам ИВЛ патоморфологическая картина свидетельствует о гибели хряща и замене его грануляционной тканью с участками секвестрации.

3. В спектре возбудителей, высеваемых из трахеобронхиального дерева преобладает грамотрицательная флора (77%), которая высокорезистентна к амино-, карбоксипенициллинам, цефалоспорином I, II, цефалоспорином III поколения, не обладающая антипсевдомонадной активностью. Выделенные штаммы синегнойной палочки обладали высокой чувствительностью лишь к имипенему (88,7%) и меропенему (93,9%).

negative flora (77%) highly resistant to amino/ carboxypenicillinum, and I, II, III generation cephalosporins with no activity against *P.aeruginosa*; the latter was sensitive only to imipenem (88, 7%) and meropenem (93.9%).

4. Dynamic endoscopic control allows identifying early signs of postintubation damage in the larynx and trachea, and determine the optimal management of patients in order to restore respiratory function without surgery, and thereby reduce the time of medical rehabilitation of patients.

5. Formation of tracheostomy stand at the level of 2-4 half-rings of the trachea, the use of tracheostomy tubes of required diameter, endoscopic examinations and treatment of alterations in larynx and trachea, represents an optimal management of patients undergoing mechanical ventilation and tracheostomy.

6. Designed and implemented therapeutic algorithm of treatment of patients under mechanical ventilation and undergone tracheostomy allowed decannulation in 92.5% of patients. Postintubation stenosis of the larynx and trachea occurred in 3.3% of patients, which required reconstructive surgery of these organs. 4.2% of patients constantly remained with tracheostomic tube.

4. Динамический эндоскопический контроль позволяет выявить ранние проявления постинтубационных повреждений гортани и трахеи, определить оптимальную тактику ведения больных, восстановить дыхательную функцию без хирургического вмешательства.

5. Формирование «стойкой» трахеостомы на уровне 2–4 полуколец трахеи, использование трахеотомических трубок необходимого диаметра, эндоскопический контроль и лечение выявленной патологии гортани и трахеи, показано всем больным, перенесшим искусственную вентиляцию легких и трахеостомию.

6. Разработанный и внедренный лечебный алгоритм позволил деканюлировать 92,5% больных, перенесших ИВЛ и трахеостомию. Постинтубационный стеноз гортани и трахеи, потребовавший реконструктивных вмешательств на этих органах, развился у 3,3% больных. Хроническими канюлярами остались 4,2% больных.

Литература

1. Юнина А.И., Зенгер В.Г. Диагностика, лечение и профилактика стенозов гортани и трахеи у больных при длительной или повторной реанимации. Методические рекомендации. М.: 1977: 14–17.
2. Кассиль В.Л., Выхигина М.А., Хapaii X.X. Механическая вентиляция легких в анестезиологии и интенсивной терапии. М.: МЕДпресс-Информ; 2009: 608.
3. Кривонос В.В., Кичин В.В., Сулгунов В.А., Прокин Е.Г., Кандрашин А.Г., Федоров С.А., Безкоровайный П.Н. Современный взгляд на про-

References

1. Yunina A.I., Zenger V.G. Diagnostika, lechenie i profilaktika stenozov gortani i trakhei u bolnykh pri dlitelnoi ili povtorno reanimatsii. Metodicheskie rekomendatsii. [Diagnosis, treatment, and prevention of laryngeal and tracheal stenosis in patients during long-term and repeated resuscitation. Guidelines]. Moscow; 1977: 14–17. [In Russ.]
2. Kassil V.L., Vyzhigina M.A., Khapaii Kh.Kh. Mekhanicheskaya ventilyatsiya legkikh v anesteziologii i intensivnoi terapii. [Mechanical ventilation in anesthesiology and intensive care]. Moscow: MEDpress-Inform; 2009: 608. [In Russ.]

Guidelines for Practitioner

- блему трахеостомии. *Общая реаниматология*. 2012; 8 (2): 53–60. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2012-2-53>
4. Wain J.C. Postintubation tracheal stenosis. *Chest Surg. Clin. N. Am.* 2003; 13 (2): 231–246. PMID: 12755310
 5. Редько Д.Д., Шляга И.Д., Ермолин С.В. Трахеостомия: показания, техника, осложнения, уход в послеоперационном периоде. Гомель: ГомГМУ; 2012: 15–23.
 6. Hautefort C., Teissier N., Viala P., Van Den Abbeele T. Balloon dilation laryngoplasty for subglottic stenosis in children: eight years' experience. *Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.* 2012; 138 (3): 235–240. <http://dx.doi.org/10.1001/archoto.2011.1439>. PMID: 22351854
 7. Antón-Pacheco J.L., Cano I., García A., Martínez A., Cuadros J., Berchi F.J. Patterns of management of congenital tracheal stenosis. *J. Pediatr. Surg.* 2003; 38 (10): 1452–1458. [http://dx.doi.org/10.1016/s0022-3468\(03\)00495-0](http://dx.doi.org/10.1016/s0022-3468(03)00495-0). PMID: 14577067
 8. Tchervenikov A., Tchalakov P., Tchervenikov P. Traumatic and iatrogenic lesions of the trachea and bronchi. *Eur. J. Cardiothorac. Surg.* 2001; 19 (1): 19–24. [http://dx.doi.org/10.1016/s1010-7940\(00\)00610-2](http://dx.doi.org/10.1016/s1010-7940(00)00610-2). PMID: 11163555
 9. Паршин В.Д. Хирургия рубцовых стенозов трахей. М.: Медицина; 2003: 152.
 10. Breidenstein E.B., de la Fuente-Núñez C., Hancock R.E. Pseudomonas aeruginosa: all roads lead to resistans. *Trends Microbiol.* 2011; 19 (8): 419–426. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tim.2011.04.005>. PMID: 21664819
 11. Jaryszak E.M., Shah R.K., Amling J., Peña M.T. Pediatric tracheotomy wound complications: incidence and significance. *Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.* 2011; 137 (4): 363–366. <http://dx.doi.org/10.1001/archoto.2011.33>. PMID: 21502474
 12. Grillo H.C., Mathisen D.J., Ashiku S.K., Wright C.D., Wain J.C. Successful treatment of idiopathic laryngotracheal stenosis by resection and primary anastomosis. *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.* 2003; 112 (9 Pt 1): 798–800. <http://dx.doi.org/10.1177/000348940311200909>. PMID: 14535564
 13. Миротворцева А.Ю. Эндоскопические методы профилактики осложнений при трахеостомии и ИВЛ. Труды науч.-практ. конф. «Профилактика, диагностика и лечение рубцовых стенозов трахей». М.; 1999: 32–33.
 14. Solomon D.H., Wobb J., Buttaro B.A., Truant A., Soliman A.M. Characterization of bacterial biofilms on tracheostomy tubes. *Laryngoscope*. 2009; 119 (8): 1633–1638. <http://dx.doi.org/10.1002/lary.20249>. PMID: 19504601
 15. Черняховская Н.Е., Федченко Г.Г., Андреев В.Г., Поваляев А.В. Рентгено-эндоскопическая диагностика заболеваний органов дыхания. М.: МЕДпресс-Информ; 2007: 240.
 3. Krivosos V.V., Kichin V.V., Sungurov V.A., Prokin E.G., Kandrashin A.G., Fedorov S.A., Bezkorovainyi P.N. Sovremennyy vzglyad na problemu trakheostomii. *Obshchaya Reanimatologiya*. [Current view on the problem of tracheostomy. *General Reanimatology*]. 2012; 8 (2): 53–60. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2012-2-53>. [In Russ.]
 4. Wain J.C. Postintubation tracheal stenosis. *Chest Surg. Clin. N. Am.* 2003; 13 (2): 231–246. PMID: 12755310
 5. Redko D.D., Shlyaga I.D., Ermolin S.V. Trakheostomiya: pokazaniya, tekhnika, oslozhneniya, ukhod v posleoperatsionnom periode. [Tracheostomy: indications, techniques, complications, care in the postoperative period]. Gomel: GomGMU; 2012: 15–23. [In Russ.]
 6. Hautefort C., Teissier N., Viala P., Van Den Abbeele T. Balloon dilation laryngoplasty for subglottic stenosis in children: eight years' experience. *Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.* 2012; 138 (3): 235–240. <http://dx.doi.org/10.1001/archoto.2011.1439>. PMID: 22351854
 7. Antón-Pacheco J.L., Cano I., García A., Martínez A., Cuadros J., Berchi F.J. Patterns of management of congenital tracheal stenosis. *J. Pediatr. Surg.* 2003; 38 (10): 1452–1458. [http://dx.doi.org/10.1016/s0022-3468\(03\)00495-0](http://dx.doi.org/10.1016/s0022-3468(03)00495-0). PMID: 14577067
 8. Tchervenikov A., Tchalakov P., Tchervenikov P. Traumatic and iatrogenic lesions of the trachea and bronchi. *Eur. J. Cardiothorac. Surg.* 2001; 19 (1): 19–24. [http://dx.doi.org/10.1016/s1010-7940\(00\)00610-2](http://dx.doi.org/10.1016/s1010-7940(00)00610-2). PMID: 11163555
 9. Parshin V.D. Khirurgiya rubtsovykh stenozov trakhei. [Surgery for tracheal cicatricial stenosis]. Moscow: Meditsina Publishers; 2003: 152. [In Russ.]
 10. Breidenstein E.B., de la Fuente-Núñez C., Hancock R.E. Pseudomonas aeruginosa: all roads lead to resistans. *Trends Microbiol.* 2011; 19 (8): 419–426. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tim.2011.04.005>. PMID: 21664819
 11. Jaryszak E.M., Shah R.K., Amling J., Peña M.T. Pediatric tracheotomy wound complications: incidence and significance. *Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.* 2011; 137 (4): 363–366. <http://dx.doi.org/10.1001/archoto.2011.33>. PMID: 21502474
 12. Grillo H.C., Mathisen D.J., Ashiku S.K., Wright C.D., Wain J.C. Successful treatment of idiopathic laryngotracheal stenosis by resection and primary anastomosis. *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.* 2003; 112 (9 Pt 1): 798–800. <http://dx.doi.org/10.1177/000348940311200909>. PMID: 14535564
 13. Mirotvortseva A.Yu. Endoskopicheskie metody profilaktiki oslozhnenii pri trakheostomii i IVL. Trudy nauchno-prakticheskoi konferentsii «Profilaktika, diagnostika i lechenie rubtsovykh stenozov trakhei». [Endoscopic methods for the prevention of complications during tracheostomy and mechanical ventilation. Proceeding of the Scientific and Practical Conference on Prevention, Diagnosis, and Treatment of Tracheal Cicatricial Stenosis]. Moscow; 1999: 32–33. [In Russ.]
 14. Solomon D.H., Wobb J., Buttaro B.A., Truant A., Soliman A.M. Characterization of bacterial biofilms on tracheostomy tubes. *Laryngoscope*. 2009; 119 (8): 1633–1638. <http://dx.doi.org/10.1002/lary.20249>. PMID: 19504601
 15. Chernyakhovskaya N.E., Fedchenko G.G., Andreyev V.G., Povalyaev A.V. Rentgeno-endoskopicheskaya diagnostika zaboolevani organov dykhaniya. [X-ray endoscopic diagnosis of respiratory diseases]. Moscow: MEDpress-Inform; 2007: 240. [In Russ.]

Поступила 22.06.15

Submitted 22.06.15

Диссертации на соискание ученой степени доктора наук без опубликования основных научных результатов в ведущих журналах и изданиях, перечень которых утвержден Высшей аттестационной комиссией, будут отклонены в связи с нарушением п. 10 Положения о порядке присуждения ученых степеней.

Перечень журналов ВАК, издаваемых в Российской Федерации по специальности 14.01.20 «Анестезиология и реаниматология», в которых рекомендуется публикация основных результатов диссертаций на соискание ученой степени доктора и кандидата медицинских наук:

- *Анестезиология и реаниматология;*
- *Общая реаниматология.*

Памяти Заслуженного деятеля Высшей школы, доктора медицинских наук, профессора Раисы Ивановны НОВИКОВОЙ

In Memory of Professor Raisa I. Novikova

Раиса Ивановна Новикова родилась 27 января 1930 года.

Окончила Донецкий медицинский институт в 1955 году. С 1955 по 1959 год работала хирургом Харцызской районной больницы. С 1959 работала врачом-хирургом в областной клинической больнице г. Донецка.

С 1965 года работала заведующей анестезиолого-реанимационным отделением ОКБ им. Калинина. С этого времени профессиональная деятельность Раисы Ивановны была связана с областной клинической больницей и кафедрой факультетской хирургии, где она стала одной из первых заниматься анестезиологией.

В 1965 году Раиса Ивановна защитила кандидатскую диссертацию на тему: «Вопросы анестезиологического обеспечения при операциях на печени и желчных путях».

В 1972 году защитила докторскую диссертацию «Анестезиологическое пособие и интенсивная терапия у больных механической желтухой».

В 1973 году организовала и возглавила кафедру анестезиологии и реаниматологии.

Профессор Новикова Р. И. заведовала кафедрой 25 лет и создала Донецкую анестезиологическую школу. Под ее руководством на уровне мировых стандартов подготовлено более 4 тысяч анестезиологов, работающих на Украине, в странах ближнего и дальнего зарубежья. Из 50 лет врачебной, научной и педагогической деятельности 40 лет Р. И. Новикова была главным внештатным анестезиологом управления здравоохранения Донецкой области.

Она сформировала четко функционирующую анестезиологическую службу, организовала открытие 55-и отделений анестезиологии и интенсивной терапии в городах и районах Донецкой области, 15 отделений интенсивной терапии в областных лечебных учреждениях, 24 отделения — в городах области, 16 отделений в крупных районных центрах. В детских лечебных учреждениях Донецкой области организованы 4 отделения интенсивной терапии.

Профессор Новикова Р. И. воплотила в жизнь свою блестящую идею объединения в единый научно-практический центр кафедры анестезиологии и клинических подразделений: отделения анестезиологии, реанимации и интенсивной терапии, гуморальной и функциональной диагностики, эфферентной медицины и гипербарической оксигенации.

По инициативе профессора Новиковой Р. И. в структуре областного реанимационного центра были созданы:



- в 1985 году первое на Украине отделение эфферентных методов;
- в 1988 году — отделение нейрореанимации;
- в 1992 году — отделение акушерской реанимации;
- в 1998 году — отделение кардиологической реанимации.

Раиса Ивановна Новикова — автор более 30-и изобретений, 6-и учебников, 10-и монографий, а также более 520-и научных работ, 43 из которых были опубликованы за рубежом.

Под ее руководством защищено 3 докторские и 38 кандидатских диссертаций.

Раиса Ивановна Новикова была членом редакционного совета научно-практического журнала «Общая реаниматология».

В 1991 году Раиса Ивановна была награждена почетной грамотой Президиума Верховного Совета СССР. В 1993 году ей присвоено звание Заслуженного Деятеля Высшей школы. В сентябре 2004 года профессор Новикова Р. И. была награждена Почетной грамотой Министерства Здравоохранения Украины, орденом Шахтерской Славы II степени.

Раиса Ивановна Новикова ушла из жизни 17.11.2015.

Коллектив редакции журнала «Общая реаниматология» выражает искренние соболезнования родным, близким и коллегам Р. И. Новиковой и скорбит вместе с ними.

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.

— Редакция 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.

Подробнее о материалах для публикации и требованиях к структурным разделам статей см. на сайте www.reanimatology.com.

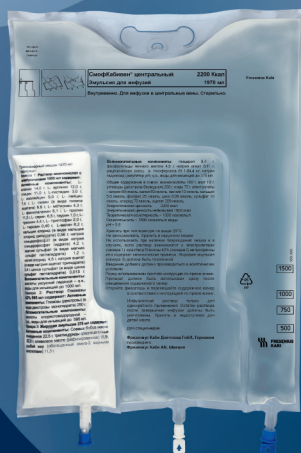
ПОЛНОЦЕННОЕ ПАРЕНТЕРАЛЬНОЕ ПИТАНИЕ



ДИПЕПТИВЕН
Глутамин



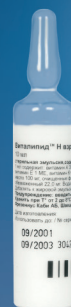
АДДАМЕЛЬ
*Комплекс
микроэлементов*



СМОФКАБИВЕН
*Глюкоза
Аминокислоты
Липиды
Рыбий жир*



СОЛУВИТ



ВИТАЛИПИД
*Комплексы водо- и
жирорастворимых
витаминов*

ООО «Фрезениус Каби»
125167, Москва, Ленинградский пр-т, д. 37, к. 9
Тел.: (495) 988-45-78
Факс: (495) 988-45-79
E-mail: freka@fresenius-kabi.ru
www.fresenius-kabi.ru



**FRESENIUS
KABI**
caring for life

Дексалгин®

Декскетопрофен



Скорая помощь при острой боли¹



Быстрое
начало
действия¹

Выраженный
обезболивающий
эффект²

Хороший
профиль
безопасности³

Показания к применению:

- ▶ купирование болевого синдрома различного генеза (в т. ч. послеоперационные боли, боли при метастазах в кости, посттравматические боли, боли при почечных коликах, альгодисменорея, ишиалгия, радикулит, невралгия, зубная боль);
- ▶ симптоматическое лечение острых и хронических воспалительных, воспалительно-дегенеративных и метаболических заболеваний опорно-двигательного аппарата (в т. ч. ревматоидный артрит, спондилоартрит, артроз, остеохондроз).



1. Инструкция по медицинскому применению препарата Дексалгин®
2. Peat S, 10th World Congress on Pain 2002, San Diego: 945-P215
3. Zippel, Clin Drug Invest, 2006, 26(9), 517-528

Сокращенная информация по применению препарата Дексалгин®: Противопоказания: Повышенная чувствительность к декскетопрофену или другим НПВП или к любому из вспомогательных веществ, входящих в состав препарата; язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки в фазе обострения; желудочно-кишечные кровотечения в анамнезе, другие активные кровотечения, антикоагулянтная терапия; воспалительные заболевания кишечника в фазе обострения; тяжелые нарушения функции печени; умеренные или тяжелые нарушения функции почек; лечение болевого синдрома при аortoкоронарном шунтировании; период после проведения аortoкоронарного шунтирования; бронхиальная астма, в т. ч. – в анамнезе; полное или неполное сочетание бронхиальной астмы, рецидивирующего полипоза носа и околоносовых пазух и непереносимости ацетилсалициловой кислоты или др. НПВП; тяжелая сердечная недостаточность; геморрагический диатез или другие нарушения коагуляции; возраст до 18 лет; беременность и период лактации. Дексалгин® противопоказан для невракциального введения. С осторожностью: ИБС; цереброваскулярные заболевания; сахарный диабет, язвенное поражение ЖКТ в анамнезе; длительное применение НПВП; пожилой возраст (старше 65 лет).

Способ применения и дозы. Раствор для инъекций: Дексалгин® предназначен для внутривенного и внутримышечного введения. Рекомендуемая доза для взрослых: 50 мг каждые 8-12 ч. Суточная доза 150 мг. Дексалгин® предназначен для краткосрочного (не более 2-х дней) применения в период острого болевого синдрома. Таблетки Дексалгин® 25 принимают внутрь во время еды. Рекомендуемая доза для взрослых составляет 12,5 мг (1/2 таблетки) каждые 4 - 6 ч или 25 мг (1 таблетка) каждые 8 ч. Максимальная суточная доза – 75 мг. Курс лечения препаратом не должен превышать 3-5 дней. Наиболее часто встречающиеся побочные эффекты при применении препарата Дексалгин®: для инъекционной формы: боль в месте инъекции, тошнота, рвота. Для таблетированной формы: тошнота, рвота, абдоминальная боль, диспепсия, диарея.

ООО «Берлин-Хеми/А.Менарини», 123317, 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>

Информация для специалистов здравоохранения. Отпускается по рецепту. Подробная информация содержится в инструкциях по применению (Дексалгин® от 30.11.11, Дексалгин® 25 от 22.10.12)



**БЕРЛИН-ХЕМИ
МЕНАРИНИ**