



www.reanimatology.com
ISSN 1813-9779 (print)
ISSN 2411-7110 (online)

ОБЩАЯ РЕАНИМАТОЛОГИЯ GENERAL REANIMATOLOGY

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ
Scientific-and-Practical Journal

Том 13

Volume 13

№ 2

Москва
Moscow
2017

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**

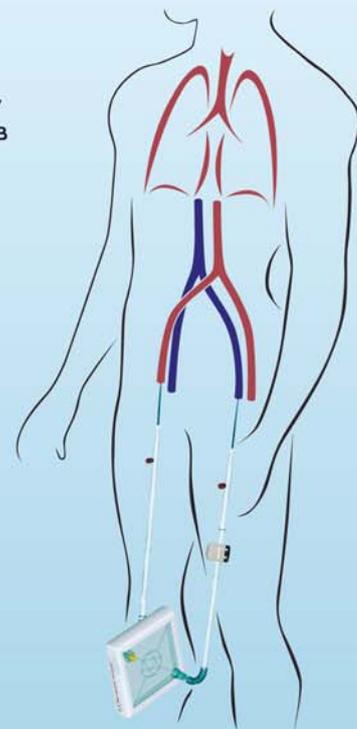
Система iLA обеспечивает эффективную оксигенацию и элиминацию CO₂, за счет высокотехнологичной мембраны Novalung с уникальным покрытием, позволяющим в течение 29 дней протезировать функцию легких у пациентов с тяжелыми формами дыхательной недостаточности, не поддающимися лечению традиционными режимами 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 CO₂ 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.



– эксклюзивный дистрибьютор в России

www.schag.ru

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

В. В. МОРОЗ,

*Заслуженный деятель науки РФ,
член-корреспондент РАН, профессор,
научный руководитель
Научно-исследовательского института
общей реаниматологии
им. В. А. Неговского ФНКЦ РР*

ЗАМЕСТИТЕЛИ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА

Г. А. РЯБОВ,

*Академик РАН, профессор,
главный научный сотрудник
Научно-исследовательского института
общей реаниматологии
им. В. А. Неговского ФНКЦ РР*

А. М. ГОЛУБЕВ,

*Заслуженный деятель науки РФ,
профессор, зам. руководителя по научной работе
Научно-исследовательского института
общей реаниматологии
им. В. А. Неговского ФНКЦ РР*

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

И. Г. БОБРИНСКАЯ,

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

Л. БОССАРТ,

*профессор, член консультативного комитета
Европейского совета по реанимации, Бельгия*

А. А. БУНЯТЯН,

*академик РАН, профессор, зав. отделом
анестезиологии-реаниматологии Российского
научного центра хирургии им. Б. В. Петровского,
профессор кафедры анестезиологии-реаниматологии
Первого Московского государственного медицинского
университета им. И. М. Сеченова*

О. А. ДОЛИНА,

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

А. А. ЗВЯГИН,

*профессор, главный научный сотрудник Института
хирургии им. А. В. Вишневского, (Москва)*

В. Л. ЗЕЛЬМАН,

*академик РАН, профессор,
зав. отделением нейроанестезиологии, профессор неврологии
и нейрохирургии, Медицинская школа Кека, США*

Н. А. КАРПУН,

*д.м.н., зам. главного врача по медицинской части
Городской клинической больницы
№ 68 Департамента здравоохранения города Москвы*

И. А. КОЗЛОВ,

*профессор, профессор кафедры анестезиологии и реанимации
Московского областного научно-исследовательского
клинического института им. М. Ф. Владимирского*

П. КОХАНЕК,

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

А. Н. КУЗОВЛЕВ,

*д.м.н., зав. лабораторией клинической
патофизиологии критических состояний
НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского
ФНКЦ РР, доцент кафедры анестезиологии-реаниматологии
МГМСУ им. А. И. Евдокимова,
Директор и организатор курсов
Европейского совета по реанимации (Россия)*

GENERAL REANIMATOLOGY

Scientific-and-Practical Journal

EDITOR-IN-CHIEF

Viktor V. MOROZ,

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

DEPUTY EDITOR-IN-CHIEF

Gennady A. RYABOV,

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

Arkady M. GOLUBEV,

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

EDITORIAL COUNCIL

Irina G. BOBRINSKAYA,

*MD, PhD, DSc, Professor, Department of Anesthesiology
and Reanimatology, Moscow Medical
Dental University (Moscow, Russia)*

Leo L. BOSSAERT,

*MD, Professor, Member, Board of Advisory Committee, European
Resuscitation Council University of Antwerpen (Belgium)*

Armen A. BUNYATYAN,

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

Olga A. DOLINA,

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

Alfred A. ZVYAGIN,

*MD, PhD, DSc, Professor, Chief Scientist, A. V. Vishnevsky
Institute of Surgery (Moscow, Russia)*

Vladimir L. ZELMAN,

*Member of RAS, Professor, Director of Neuroanesthesia,
Keck School of Medicine, Professor of Neurology and Neurological
Surgery, Keck School of Medicine (USA)*

Nikolai A. KARPUN,

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

Igor A. KOZLOV,

*MD, PhD, DSc, Professor, Department of Anesthesiology
and Resuscitation, M. F. Vladimirovsky Moscow Regional
Research Clinical Institute*

Patrick M. KOCHANЕК,

*MD, FCCM, Professor, Director, P. Safar Center
for Resuscitation Research, University of Pittsburgh School
of Medicine (USA)*

Artem N. KUZOVLEV,

*MD, Dr. Med, Head of Laboratory of Clinical Pathophysiology
of Critical States of the V. A. Negovsky Research Institute
of Reanimatology, Federal Scientific Clinical Center
of Reanimatology and Rehabilitology, Assistant Professor
of the Anesthesiology Department of the A. I. Evdokimov
Medical-Dental University, Course Director of the European
Resuscitation Council (Russia)*

В. В. ЛИХВАНЦЕВ,
профессор, зав. реаниматологическим отделом Московского
областного научно-исследовательского клинического
института им. М. Ф. Владимирского

Е. А. ЛУЖНИКОВ,
академик РАН, профессор, зав. научным отделом лечения
острых отравлений Научно-исследовательского института
скорой помощи им. Н. В. Склифосовского Департамента
здравоохранения города Москвы

Ю. В. МАРЧЕНКОВ,
д.м.н., зав. отделением реаниматологии Городской
клинической больницы им. С. П. Боткина
Департамента здравоохранения города Москвы

И. Ф. ОСТРЕЙКОВ,
профессор, зав. кафедрой анестезиологии, реаниматологии
и токсикологии Российской медицинской академии
последипломного образования (Москва)

Г. В. ПОРЯДИН,
член-корреспондент РАН, профессор, зав. кафедрой
патологической физиологии Российского национального
исследовательского медицинского университет им. Н. И.
Пирогова Минздрава России

В. И. РЕШЕТНЯК,
профессор, ученый секретарь
Научно-исследовательского института
общей реаниматологии
им. В. А. Неговского ФНКЦ РР

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

Е. А. СПИРИДОНОВА,
профессор, д. м. н., ученый секретарь Национального
научно-практического центра детской гематологии,
онкологии и иммунологии им. Д. Рогачева минздрава России

С. Е. ХОРОШИЛОВ,
д.м.н., начальник отделения гемодиализа
Главного военного клинического госпиталя
им. Н. Н. Бурденко

А. М. ЧЕРНЫШ,
профессор, зав. лабораторией биофизики
мембран клеток при критических состояниях
Научно-исследовательского института
общей реаниматологии
им. В. А. Неговского ФНКЦ РР

Ю. Л. ШЕВЧЕНКО,
академик РАН, профессор,
президент Национального медико-хирургического
центра им. Н. И. Пирогова

И. В. ЯРЕМА,
член-корреспондент РАН, профессор, зав. кафедрой хирургии
Московского государственного
медико-стоматологического университета

НАУЧНЫЕ РЕДАКТОРЫ

В. М. ПИСАРЕВ,
профессор, зав. лабораторией
молекулярных механизмов
критических состояний Научно-исследовательского
института общей реаниматологии
им. В. А. Неговского ФНКЦ РР

Д. А. ОСТАПЧЕНКО,
д.м.н., зав. отделением реанимации и интенсивной терапии
Городской клинической больницы №1 им. Н. И. Пирогова
Департамента здравоохранения города Москвы

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

С. БАРАМИ,
профессор, избранный президент
Международного общества по изучению шока,
Институт экспериментальной и клинической травматологии
им. Л. Больцмана (Вена, Австрия)

Valery V. LIKHVANTSEV,
MD, PhD, DSc, Professor, Head, Reanimatology Department,
M. F. Vladimirovsky Moscow Region
Clinical Research Institute (Moscow, Russia)

Evgeny 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)

Yury V. MARCHENKOV,
MD, PhD, DSc, Head, Intensive Care Unit,
S. P. Botkin Moscow City Hospital
(Moscow, Russia)

Ivan F. OSTREYKOV,
MD, PhD, DSc, Professor, Head Department of Anesthesiology,
Reanimatology and Toxicology, Medical Academy
of Postgraduate Education, (Moscow, Russia)

Gennady 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)

Vasily I. RESHETNYAK,
MD, PhD, DSc, Professor, Academic Secretary, V. A. Negovsky
Scientific Research Institute of General Reanimatology,
Federal Scientific Clinical Center of Reanimatology
and Rehabilitation (Moscow, Russia)

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

Elena A. SPIRIDONOVA,
MD, PhD, DSc, Professor, Academic Secretary, D. Rogachev
National Scientific Practical Centre of Pediatric Hematology,
Oncology and Immunology, Ministry of Health of Russia

Sergey E. KHOROSHILOV,
MD, PhD, DSc., Head, Extracorporeal Detoxication Unit,
N. N. Burdenko Main Clinical Military Hospital,
Russian Ministry of Defence (Moscow, Russia)

Alexander M. CHERNYSH,
PhD, DSc., Professor, Head, Laboratory of biophysics
of cell membranes of critical illness, V. A. Negovsky
Scientific Research Institute of General Reanimatology,
Federal Scientific Clinical Center of Reanimatology
and Rehabilitation (Moscow, Russia)

Yury L. SHEVCHENKO,
MD, PhD, DSc., Professor, Member of RAS, President,
N. I. Pirogov National Medical Surgical Center,
Russian Ministry of Public Health (Moscow, Russia)

Ivan V. YAREMA,
MD, PhD, DSc., Professor, Corr. Member of RAS,
Honored Scientist of Russia, Head, Department of Surgery,
Moscow Medical Dental University (Moscow, Russia)

SCIENTIFIC EDITORS

Vladimir M. PISAREV,
MD, PhD, DSc, Professor, Head, Laboratory
of molecular mechanisms of critical illness,
V. A. Negovsky Scientific Research Institute
of General Reanimatology, Federal Scientific Clinical Center
of Reanimatology and Rehabilitation (Moscow, Russia)

Dmitry A. OSTAPCHENKO,
MD, PhD, DSc, Head, Intensive Care Unit
N. I. Pirogov Moscow City Hospital №1
(Moscow, Russia)

EDITORIAL BOARD

Soheyl BAHRAMI,
Professor, PhD, The International Federation
of Shock Society (IFSS) President-Elect,
Ludwig Boltzmann Institute of Experimental and Clinical
Traumatology (Vienna, Austria)

Г. А. БОЯРИНОВ,
профессор, зав. кафедрой анестезиологии-реаниматологии
Нижегородской государственной
медицинской академии (Н.-Новгород)

М. А. ВЫЖИГИНА,
профессор кафедры анестезиологии-реаниматологии
Первого Московского государственного
медицинского университета им. И. М. Сеченова

Г. В. ГВАК,
д.м.н., зав. отделением анестезиологии-реаниматологии
Областной детской клинической больницы (Иркутск)

Г. А. ГОРОДНИК,
профессор, зав. кафедрой анестезиологии,
интенсивной терапии и медицины неотложных состояний
Донецкого национального медицинского университета
им. М. Горького, зав. отделением нейрохирургической
интенсивной терапии Донецкого клинического
территориального медицинского объединения (Донецк)

Е. В. ГРИГОРЬЕВ,
профессор, зам. директора по научной и лечебной работе
НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых
заболеваний СО РАН (Кемерово)

А. И. ГРИЦАН,
профессор, зав. кафедрой анестезиологии-реаниматологии
Красноярского государственного медицинского университета
(Красноярск)

В. Т. ДОЛГИХ,
профессор, зав. кафедрой патологической физиологии
с курсом клинической патофизиологии
Омской государственной медицинской академии (Омск)

М. Н. ЗАМЯТИН,
профессор, зав. кафедрой анестезиологии-реаниматологии
Института усовершенствования врачей
Национального медико-хирургического центра
им. Н. И. Пирогова (Москва)

И. Б. ЗАБОЛОТСКИХ,
профессор, зав. кафедрой анестезиологии, реаниматологии
и трансфузиологии Кубанского государственного
медицинского университета (Краснодар)

Ж.-М. КАВАЙОН,
Европейское общество по изучению шока,
зав. лабораторией изучения цитокинов и воспаления,
Институт Пастера (Париж, Франция)

В. Б. КОШЕЛЕВ,
профессор, зав. кафедрой нормальной и патологической
физиологии факультета фундаментальной медицины
Московского государственного университета
им. М. В. Ломоносова (Москва)

Г. А. ЛИВАНОВ,
профессор, ведущий научный сотрудник
НИИ скорой медицинской помощи
им. И. И. Джанелидзе (С.-Петербург)

В. Н. ЛУКАЧ,
профессор кафедры анестезиологии-реаниматологии
Омской государственной медицинской академии (Омск)

Д. М. САБИРОВ,
профессор, ректор Ташкентского института
усовершенствования врачей, зав. кафедрой
«Анестезиологии и реаниматологии» ТаШИУВ,
Главный анестезиолог реаниматолог министерства
здравоохранения Республики Узбекистан,
Председатель Ассоциации анестезиологов
и реаниматологов Республики Узбекистан

Д. В. САДЧИКОВ,
профессор, зав. кафедрой анестезиологии-реаниматологии
Государственного медицинского университета (Саратов)

Gennady A. BOYARINOV,
MD, PhD, DSc, Professor, Head, Department of Anesthesiology
and Reanimatology, Nizhniy Novgorod State Medical Academy
(Nizhniy Novgorod, Russia)

Margarita A. VYZHIGINA,
MD, PhD, DSc, Professor, Department of Anesthesiology
and Reanimatology, I. M. Sechenov 1st Moscow State
Medical University (Moscow, Russia)

Gennady V. GVAK,
MD, PhD, DSc, Head, Department of Anesthesiology
and Reanimatology, Regional Children's Hospital (Irkutsk, Russia)

Georgy A. GORODNIK,
DSc, Professor, Head, Department of Anesthesiology,
Intensive Care and Critical Care Medicine,
M. Gorky Donetsk National Medical University;
Head, Department of Neurosurgical Intensive Care,
Donetsk Territorial Medical Association

Evgeny 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)

Alexey I. GRITSAN,
MD, PhD, DSc, Professor, Head, Department of Anesthesiology
and Reanimatology, Krasnoyarsk State Medical University
(Krasnoyarsk, Russia)

Vladimir T. DOLGIH,
MD, PhD, DSc, Professor, Head, Department of pathological
physiology with the clinical course of pathophysiology,
Omsk State Medical Academy (Omsk, Russia)

Michael 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)

Igor B. ZABOLOTSKIХ,
MD, PhD, DSc, Professor, Head, Department of Anesthesiology,
Resuscitation and Transfusion Medicine, Kuban State Medical
University (Krasnodar, Russia)

Jean-Marc CAVAILLON,
DSc, European Shock Society (ESS)
and the Head of the Citokines & Inflammation Unit,
Institute Pasteur (Paris, France)

Vladimir B. KOSHELEV,
MD, PhD, DSc, Professor, Head, Department
of Normal and Pathological Physiology,
Faculty of Fundamental Medicine,
Moscow State University (Moscow, Russia)

Georgy A. LIVANOV,
MD, PhD, DSc, Professor, Chief Scientist, I. I. Dzhanelidze
Institute of Emergency Medical Care
(St. Petersburg, Russia)

Valery N. LUKACH,
MD, PhD, DSc, Professor, Department of Anesthesiology
and Reanimatology, Omsk State Medical Academy (Omsk, Russia)

Djurabay 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

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

Г. СИЛВЕЙ,
профессор кафедры анестезиологии,
Медицинская школа Mount Sinai, США

Л. В. УСЕНКО,
член-корреспондент УАМН, профессор, зав. кафедрой
анестезиологии-реаниматологии Днепропетровской
медицинской академии, (Днепропетровск, Украина)

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

А. М. ХАДЖИБАЕВ,
д. м. н., профессор, Генеральный директор Республиканского
научного центра экстренной медицинской помощи
министерства здравоохранения Республики Узбекистан

Н. В. ШАПОВАЛОВА,
профессор кафедры анестезиологии-реаниматологии
Воронежской государственной
медицинской академии (Воронеж)

Технический секретарь Н. В. Голубева

Учредитель журнала
«Общая реаниматология»

© Фонд «Медицина критических состояний»

Издатель журнала
«Общая реаниматология»

Научно-исследовательский институт общей реаниматологии
им. В. А. Неговского ФНКИЦ
реаниматологии и реабилитологии, Москва, Россия

Адрес редакции:

107031, Москва, ул. Петровка, 25, стр. 2.
Тел./факс: +7-495-650-25-20; +7-495-694-17-73;
+7-495-694-27-08; +7-495-694-65-05

E-mail: journal_or@mail.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

Индекс издания по каталогу ООО «Книга-Сервис»:

46338 — для индивидуальных подписчиков.

Установочный тираж 3000 экз.

Периодичность выхода: 6 раз в год.

Подписано в печать 24 апреля 2017.

Отпечатано в типографии:

ООО «Advanced Solutions»

119071, г. Москва, Ленинский пр-т, д. 19, стр. 1.

E-mail: om@aov.ru. Цена свободная.

Рецензируемый журнал «Общая реаниматология»:

- включен в реферативные и справочные издания:
SCOPUS (с 2015 года),
Российский Индекс научного цитирования (РИНЦ)
RSCI на платформе Web of Science
Index Copernicus International PLC,
Каталог периодических изданий Ульрих,
Реферативный журнал ВИНТИ (ВИНТИ РАН),
- **входит в Перечень ВАК** периодических научных и
научно-технических изданий, выпускаемых в Российской
Федерации, в которых рекомендуется публикация основ-
ных результатов диссертаций на соискание ученой степе-
ни доктора или кандидата наук
- имеет двухлетний импакт-фактор в РИНЦ — 1,374
- публикует рукописи бесплатно

George SILVAY,
MD, Professor, Department of Anesthesiology,
Mount Sinai School of Medicine, (New York, USA)

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

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

Abdukhakim M. KHADJIBAEV,
MD, Professor, Director General, Republican Research Center
of Emergency Medicine, Ministry of Health of the Republic
of Uzbekistan

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

Technical Secretary: Natalia V. Golubeva

The founder of the journal
«Obshchaya Reanimatologiya» (General Reanimatology)

© «Emergency Medicine» Fund

The publisher of the journal
«Obshchaya Reanimatologiya» (General Reanimatology)

V. A. Negovsky Research Institute
of General Reanimatology, Federal Scientific Clinical Center
of Reanimatology and Rehabilitology, Moscow, Russia

Editorial Office address

25 Petrovka St., Build. 2, Moscow 107031.
Tel./fax: +7-495-650-25-20; +7-495-694-17-73;
+7-495-694-27-08; +7-495-694-65-05

E-mail: journal_or@mail.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

(refer to catalog of ООО «Книга-Сервис»).

Circulation — 3000 copies.

The periodicity is 6 numbers per year. The Journal Volume 13 № 2
is scheduled to be published April 2017.

Printed in printing house:

Ltd. «Advanced Solutions»

19, Leninsky Prospekt, Build. 1, Moscow 119071, Russia

E-mail: om@aov.ru

Peer-reviewed «General Reanimatology» Journal:

- It is indexed and abstracted in:
SCOPUS (Sinse 2015),
Russian Science Citation Index (RSCI)
Index Copernicus International PLC,
Ulrich's Periodicals Directory Abstract Journal,
Russian Institute for Scientific and Technical
Information (VINITI RAS),
- **It is included in the Supreme Certifying Commission
List of Russian periodical and research issues** in which
the publication of Postgraduate education works (PhD, DSc)
are recommended
- Two-year Impact Factor 1,374 (Russian Science Citation
Index)
- Manuscripts are published free-of-charge

| СОДЕРЖАНИЕ | CONTENTS |
|---|--|
| ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ | EXPERIMENTAL STUDIES |
| Морфологические изменения в сердце при отравлении клозапином (экспериментальное исследование) <i>О. Л. Романова, Д. В. Сундуков, А. М. Голубев, А. С. Бабкина, М. А. Голубев</i> | 6 Morphological Changes in the Heart with Clozapine Poisoning (Experimental Study) <i>Olga L. Romanova, Dmitry V. Sundukov, Arkady M. Golubev, Anastasiya S. Babkina, Mikhail A. Golubev</i> |
| КРИТИЧЕСКИЕ СОСТОЯНИЯ НОВОРОЖДЕННЫХ | CRITICAL STATES IN NEWBORNS |
| Влияние перинатальной гипоксии на морфологию эритроцитов у новорожденных <i>С. А. Перепелица, В. А. Сергунова, О. Е. Гудкова</i> | 14 The Effect of Perinatal Hypoxia on Red Blood Cell Morphology in Newborns <i>Svetlana A. Perepelitsa, Viktoria A. Sergunova, Olga E. Gudkova</i> |
| ТРАВМА И КРОВОПОТЕРЯ | INJURY, BLOOD LOSS |
| Влияние этилметилгидроксипиридина сукцината на динамику паттернов мозгового кровотока у пострадавших в остром периоде сочетанной черепно-мозговой травмы <i>Е. А. Абрамова, О. В. Военнов, Г. А. Бояринов, А. О. Трофимов</i> | 24 The Effect of Ethylmethylhydroxypyridine Succinate on the Dynamics of Cerebral Blood Flow Patterns in Patients with Acute Concomitant Traumatic Brain Injury <i>Ekaterina A. Abramova, Oleg V. Voennov, Gennady A. Boyarinov, Alexey O. Trofimov</i> |
| Влияние перфторана на наноструктуру мембран дискоцита и стоматоцита после острой кровопотери <i>В. В. Мороз, И. С. Новодержкина, А. В. Афанасьев, Ю. В. Заржецкий, И. А. Рыжков, Е. К. Козлова, А. М. Черныш</i> | 32 Effect of Perftoran on Membrane Nanostructure of Discocyte and Stomatocyte after Acute Blood Loss <i>Victor V. Moroz, Irina S. Novoderzhkina, Alexander V. Afanasyev, Yury V. Zarzhetsky, Ivan A. Ryzhkov, Elena K. Kozlova, Alexander M. Chernysh</i> |
| СЕПСИС | SEPSIS |
| Функциональная активность нейтрофилов при ожоговом сепсисе <i>И. В. Образцов, М. А. Годков, В. В. Кулабухов, Г. А. Владимирова, Д. Ю. Измайлов, Е. В. Проскурнина</i> | 40 Functional Activity of Neutrophils in Burn Sepsis <i>Igor V. Obraztsov, Mikhail A. Godkov, Vladimir V. Kulabukhov, Galina A. Vladimirova, Dmitry Yu. Izmailov, Elena V. Proskurnina</i> |
| Эффективность сочетанного применения антиоксиданта и глутамина при абдоминальном сепсисе <i>В. В. Назаретьян, В. Н. Лукач, А. В. Куликов</i> | 52 The Effectiveness of Combined Use of Antioxidant and Glutamine in Abdominal Sepsis <i>Viktoria V. Nazaretyan, Valery N. Lukach, Arkady V. Kulirov</i> |
| ЭТИКА В РЕАНИМАТОЛОГИИ | ETHICS IN INTENSIVE CARE |
| Клиническая этика запроса «не реанимировать» и других лимитирующих директив в работе врача анестезиолога-реаниматолога <i>Д. М. Бергер, В. Л. Зельман, Х. Мюир, Р. Амайя, К. И. Ершова</i> | 61 Clinical Ethics of the Do-Not-Resuscitate (DNR) Order and Other Advanced Directives in Anesthesia and ICU <i>Jack M. Berger, Vladimir Zelman, Rodolfo Amaya, Holly Muir, Ksenia Ershova</i> |
| СОБЫТИЯ | EVENTS |
| О 18-й Всероссийской конференции с международным участием «Жизнеобеспечение при критических состояниях» <i>А. Н. Кузовлев</i> | 73 On 18 th All-Russian Scientific Conference with International Participation «Life Support for Critical States» (in Rus) <i>Artem N. Kuzovlev</i> |
| Приглашение на XIII Всероссийскую конференцию с международным участием «Проблема инфекции при критических состояниях» | 75 Invitation to XIII All-Russian Scientific Conference with International Participation «The Problem of Infections in Critical States» (in Rus) |

Морфологические изменения в сердце при отравлении клозапином (экспериментальное исследование)

О. Л. Романова¹, Д. В. Сундуков¹, А. М. Голубев^{1,2}, А. С. Бабкина¹, М. А. Голубев³

¹ Российский университет дружбы народов, Москва
Россия, 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6

² НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского, ФНКЦ реаниматологии и реабилитологии
Россия, 10703, г. Москва, ул. Петровка, д. 25, стр. 2

³ ООО «Корпорация «Медицинские электронные данные»,
Россия, 107045, г. Москва, Сретенский тупик, д. 4

Morphological Changes in the Heart with Clozapine Poisoning (Experimental Study)

Olga L. Romanova¹, Dmitry V. Sundukov¹, Arkady M. Golubev^{1,2},
Anastasiya S. Babkina¹, Mikhail A. Golubev³

¹ Peoples' Friendship University of Russia,
6 Miklukho-Maclaya, Moscow 117198, Russia

² V. A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology,
Federal Research and Clinical Center of Intensive Care Medicine and Rehabilitation,
25 Petrovka Str., Build. 2, Moscow 107031, Russia

³ Corporation «Medical electronic data», LLC.,
4 Sretensky tupik, Moscow 107045, Russia

Цель исследования. Выявление гистоморфологических изменений в сердце при острых отравлениях клозапином и комбинированных отравлениях этанолом и клозапином через 3 и 24 часа после отравления.

Материалы и методы. Опыты поставили на беспородных крысах-самцах массой 290–350 г. Клозапин вводили в дозе 150 миллиграмм на килограмм массы животного под наркозом (хлоролаза). Через 3 и 24 часа животных вывели из эксперимента декапитацией. Через 3 часа после отравления исследовали гистологические срезы сердца 5-и крыс, получивших клозапин перорально в дозе 150 мг/кг, и 5 крыс, получивших этанол (2–2,5 мл 70 % этанола в зависимости от массы животных) и клозапин перорально в вышеуказанных дозах. Также исследовали гистологические срезы сердца 10-и крыс, получивших аналогичные препараты в вышеуказанных дозах и выведенных из опыта через 24 часа после введения препаратов. Сравнение проводили с гистологическими срезами сердца 5-и крыс, не получивших вышеуказанных веществ. Оценивали наличие следующих морфологических признаков: расстройства кровообращения (полнокровие, кровоизлияния), эозинофилия, фрагментация кардиомиоцитов, клеточная реакция, гомогенизация цитоплазмы. Оценку проводили с применением критерия Фишера. Наличие признака считали достоверными при его появлении в 4–5 случаях в одной группе и полном отсутствии в другой.

Результаты исследования. В контрольной группе животных при гистологическом исследовании сердца каких-либо расстройств кровообращения, эозинофилии, фрагментации кардиомиоцитов, гомогенизации цитоплазмы не обнаружили. Наиболее ранним изменением в сердце при воздействии клозапина являлись нарушения кровообращения, которые появлялись уже через 3 часа после введения препарата и усиливались к 24 часу. Эозинофилию миокарда, специфичная для отравлений клозапином, наблюдали во всех опытных группах. В группе, получавшей клозапин и этанол, через 3 часа наблюдали гомогенизацию цитоплазмы, что свидетельствует о гибели клеток. В группе, получавшей клозапин как монопрепарат, подобных изменений не наблюдали. Возможно, появление подобных изменений связано с влиянием этанола. В группе, получавшей клозапин и этанол, через 3 часа наблюдали расстройства кровообращения (полнокровие вен, венул, мелкие перикапиллярные кровоизлияния). К 24 часу эти расстройства усиливались. Наблюдали артериальное и венозное полнокровие, перикапиллярные и перикапиллярные кровоизлияния.

Заключение. Изменения, выявленные при гистологическом исследовании сердца у животных, получавших клозапин и комбинацию этанола и клозапина, в совокупности с результатами судебно-химического анализа могут быть использованы для диагностики соответствующих отравлений и для установления их давности.

Ключевые слова: морфологические изменения в сердце; криминальные отравления; клозапин; этанол

Адрес для корреспонденции:

Ольга Романова
E-mail: olgpharm@yandex.ru

Correspondence to:

Olga Romanova
E-mail: olgpharm@yandex.ru

Objective: to identify histomorphological changes in the heart for acute poisoning with clozapine and combined poisonings with ethanol and clozapine 3 and 24 hours after poisoning.

Materials and methods: the experiments were performed in mongrel male rats weighing 290–350 g. Clozapine was administered at a dose of 150 mg/kg animal weight under anesthesia with chloralase. After 3 hours and 24 hours the animals were sacrificed by decapitation. Histological sections of the heart of 5 rats that had received clozapine orally at a dose of 150 mg/kg and of 5 rats that had received ethanol and clozapine orally in the above doses 3 hours after the poisoning were examined. There was also a study of histological sections of the heart of rats ($n=10$) that had received similar preparations in the above doses and were withdrawn from the experiment 24 hours after the administration of the preparations. The comparison was performed by evaluating the histological sections of the heart of rats ($n=5$) that had not received the above substances. The presence of following morphological signs was evaluated: circulatory disorders (plethora, hemorrhages), eosinophilia, fragmentation of cardiomyocytes, cell reaction, and homogeneity of the cytoplasm. The evaluation was carried out using the Fisher criterion. The presence of a sign was considered reliable when it appeared in 4–5 cases in one group and was completely absent in another.

Results: in the control group of animals the histological examination of the heart showed no circulatory disorders, eosinophilia, fragmentation of cardiomyocytes, or homogeneity of the cytoplasm. The earliest change in the heart with the effect of clozapine was blood circulation disorders that appeared already 3 hours after the administration of the medicine and increased by 24 hours. Eosinophilia of the myocardium, which is specific for clozapine poisoning, was observed in all experimental groups. In the clozapine and ethanol group, homogenization of the cytoplasm was observed after 3 hours, indicating cell death. In the group receiving clozapine as a monopreparation, similar changes were not observed. Perhaps, the appearance of such changes is associated with the influence of ethanol. In the group affected by clozapine and ethanol there were circulatory disorders (plethora of veins and venules, small pericapillary hemorrhages) after 3 hours. By 24 hours these disorders intensified. Arterial and venous plethora, periarterial and pericapillary hemorrhages were observed.

Conclusion. The changes revealed by histological examination of the heart in animals receiving clozapine and a combination of ethanol and clozapine, together with the results of forensic analysis, can be used to diagnose relevant poisonings and to establish their prescription.

Key words: morphological changes in the heart; criminal poisoning; clozapine; ethanol

DOI:10.15360/1813-9779-2017-2-6-13

Введение

Отравления, как случайные, так и суицидальные, и криминальные, являются на сегодняшний день актуальной проблемой. При этом отравления лекарственными препаратами входят в тройку лидеров по числу отравлений наряду с отравлениями алкоголем и его суррогатами и отравлениями наркотическими веществами [1–4].

Достаточно часто встречаются отравления атипичным нейролептиком — клозапином. Клозапин (8-хлор-11-(4-метил-1-пиперазинил)-5Н-дибензо[*b,e*][1,4]дiazепин) по химическому строению представляет из себя трициклическое соединение; имеет сходство с производными 1,4-бензодиазепина [5–10].

Наибольшее число отравлений отравлений клозапином отмечено за период с 2000 по 2009 г., далее наблюдался небольшой спад в связи ужесточением правил отпуска данного препарата из аптек.

Отравления клозапином характеризуются тяжелым течением. Летальность при таких отравлениях высока и составляет, по данным различных авторов, 10–18% [11–13]. Традиционно почти все случаи, подозрительные на отравление клозапином и клозапином в сочетании с алкоголем, подлежат судебно-медицинскому исследованию. Диагностика отравлений клозапином является достаточно сложной судебно-медицинской

Introduction

Today the casual, suicidal or criminal poisoning constitutes an urgent issue. At the same time poisonings with drugs are among the top three in terms of the number of poisonings, along with poisoning with alcohol and its surrogates and poisoning with narcotic substances [1–4].

Poisonings with an atypical neuroleptic — clozapine — occur quite often too. Clozapine (8-chloro-11-(4-methyl-1-piperazinyl)-5H-dibenzo [*b, e*][1,4]diazepine) is a tricyclic compound in the chemical structure similar to 1,4-benzodiazepine derivatives [5–10].

The highest incidence of poisoning with clozapine was observed during the period from 2000 to 2009, followed by a slight decline associated with the tightening of the rules for dispensing this medicine from pharmacies.

Clozapine poisoning tends to be severe. Lethality with such poisonings is high and amounts, according to the data of different authors, 10–18% [11–13]. Traditionally, almost all cases indicating a possibility of poisoning with clozapine and clozapine combined with alcohol are subject to forensic investigation. The diagnosis of clozapine poisoning is a rather complex forensic task. It is normally carried out in a complex manner taking into account clinical, histological, and biochemical data and a quantitative determination

задачей и проводится обычно комплексно с учетом клинико-anamnestических, секционных, гистологических, биохимических данных и количественного определения содержания препарата в биологических средах организма [12–15].

Клозапин относится к так называемым функциональным ядам. Патологические изменения во внутренних органах при отравлении им преимущественно неспецифичны и представляют собой прежде всего дисциркуляторные расстройства и дистрофические изменения паренхиматозных органов, что наблюдается и при отравлениях другими препаратами, имеющими нейротропное действие. Отмечаются, например, отек мозга, очаговые кровоизлияния в слизистую оболочку желудка, отек легких, очаговые интраальвеолярные кровоизлияния, дистелектазы, дистрофические изменения почек и миокарда [12–15].

В литературе имеются сведения о так называемом клозапин-ассоциированном эозинофильном миокардите, что специфично для отравления клозапином. Впервые на это обратили внимание J. E. Meeker и K. Worm в 90-х годах прошлого века при исследовании трупов лиц, погибших от острого смертельного отравления клозапином [16]. S. J. Haas с соавт. отмечают, что миокардит может развиваться у относительно молодых пациентов вскоре после начала лечения клозапином и нередко бывает фатальным [17]. О случаях миокардита, связанного с применением клозапина сообщается и в других работах [18–23].

По данным НИИ им. Н. В. Склифосовского, при морфологическом исследовании у всех умерших от отравления клозапином были выявлены достаточно однотипные изменения печени (очаговый или диффузный стеатоз). Жировая дистрофия носила крупно- и мелкокапельный характер. Авторы предположили, что его развитие связано с употреблением токсичных доз психотропных препаратов [24].

При комбинированном отравлении клозапином и этиловым алкоголем были выявлены неспецифические морфологические изменения в нейронах головного мозга. Выявлялись признаки отека головного мозга и нарушения гемодинамики. Расстройства кровообращения характеризовались выраженным полнокровием капилляров и венул. Кроме полнокровия, отмечалась агрегация эритроцитов, формирование стазов и сладжей, выявлялось краевое стояние лейкоцитов. Повсеместно присутствовали отечные формы олигодендроцитов и астроцитов. Другим видом повреждений являлись гидропические изменения нейронов. К выявляемым повреждениям нервных клеток головного мозга относилось также сморщивание нейронов [25].

Сообщается о случаях развитии агранулоцитоза, предположительно связанного с применением клозапина [26].

of the drug content in the biological environment of the organism [12–15].

Clozapine refers to functional poisons. Pathological changes in internal organs during the poisoning are mostly non-specific and are primarily discirculatory disorders and dystrophic changes in parenchymatous organs, which is also observed in cases of poisoning with other drugs that have a neurotropic effect. There are, for example, cerebral edema, focal hemorrhages in the gastric mucosa, pulmonary edema, focal intra-alveolar hemorrhages, distelektases, and dystrophic changes in the kidneys and myocardium [11–15].

In the literature there is numerous data on clozapine-related eosinophilic myocarditis that is specific for clozapine poisoning. This complication was first noticed by J. E. Meeker and K. Worm in the 1990s in the study of the corpses of persons who had died from acute fatal clozapine poisoning [16]. S. J. Haas et al. noted that myocarditis could develop in relatively young patients soon after starting the treatment with clozapine and it is often fatal [17]. Cases of myocarditis associated with the use of clozapine were reported in other works [18–23].

According to N.V. Sklifosofsky Research Institute, a morphological study of all people who died of clozapine poisoning has shown fairly similar changes in the liver (focal or diffuse steatosis). There was large and small-droplet fat dystrophy. The authors suggested that the development was associated with the use of toxic doses of psychotropic drugs [24].

With combined poisoning with clozapine and ethyl alcohol, nonspecific morphological changes in neurons of the brain were revealed. There were signs of cerebral edema and hemodynamic disorders. Circulatory disorders were characterized by pronounced plethora of capillaries and venules. In addition to the plethora, there was an aggregation of erythrocytes, the formation of stasis and sludges; the marginal standing of leukocytes was revealed. Swelling forms of oligodendrocytes and astrocytes were generally present. Hydropic changes in neurons constituted another type of damage. Shrinkage of neurons was also among detectable lesions of brain nerve cells [25].

Agranulocytosis presumably associated with the use of clozapine has been reported [26].

Morphological criteria for acute fatal poisoning with clozapine should be considered in conjunction with results of forensic studies [27]. At this stage, objective and scientifically sound criteria for the forensic diagnosis of fatal poisoning with clozapine are required (according to the results of both morphological and forensic studies). This necessitates further research in this field.

The purpose of the study was to evaluate the histomorphological alterations in the heart caused

Морфологические критерии при острых смертельных отравлениях клозапином должны рассматриваться в комплексе с результатами судебно-химического исследования [27]. На данном этапе требуются объективные и научно обоснованные критерии судебно-медицинской диагностики смертельных отравлений клозапином (согласно результатам как морфологического, так и судебно-химического исследования). Это обуславливает необходимость проведения дальнейших исследований в данной области.

Цель исследования: Выявление морфологических изменений в сердце при острых отравлениях клозапином и комбинированных отравлениях этанолом и клозапином через 3 и 24 часа после отравления.

Материал и методы

В исследование включили 4 экспериментальных группы по 5 крыс (беспородные самцы) и 5 контрольных крыс, не получавших ни клозапина, ни этанола. Масса подопытных животных — 290–350 г. Крысы 1-й и 2-й групп получали клозапин в дозе 150 мг/кг и были выведены из опыта путем декапации под наркозом (хлоролаза) через 3 и 24 часа, соответственно. Крысы 3-й и 4-й групп получали смесь клозапина (в той же дозе) и этанола (2–2,5 мл 70 % этанола в зависимости от массы животных) и были декапитированы через 3 и 24 часа после начала эксперимента.

Достоверность появления того или иного гистологического признака оценивали с применением критерия Фишера. Наличие признака считали достоверными при его появлении в 4–5 случаях в одной группе и полном его отсутствии в другой.

Результаты и обсуждение

Через 3 часа после введения клозапина отмечали эозинофилию кардиомиоцитов. Также выявляли полнокровие сосудов (вен, венул), мелкие перикапиллярные кровоизлияния и отек ткани миокарда (рис. 1, *a*).

Капилляры были неравномерно полнокровны. В части кардиомиоцитов не было обнаружено ядер. При этом фрагментации кардиомиоцитов не отмечали.

Через 3 часа после введения клозапина как монопрепарата (при сравнении с контролем) достоверно наблюдали эозинофилию (5 случаев из 5), в контрольной группе данного изменения отмечено не было.

Через 24 часа после отравления в субэпикардальном и субэндокардиальном отделах сердца наблюдали эозинофилию кардиомиоцитов. В участках эозинофилии отмечалась фрагментация мышечных волокон (рис. 1, *b*). Регистрировали полнокровие вен и венул. Ядра части кардиомиоцитов были гипохромны.

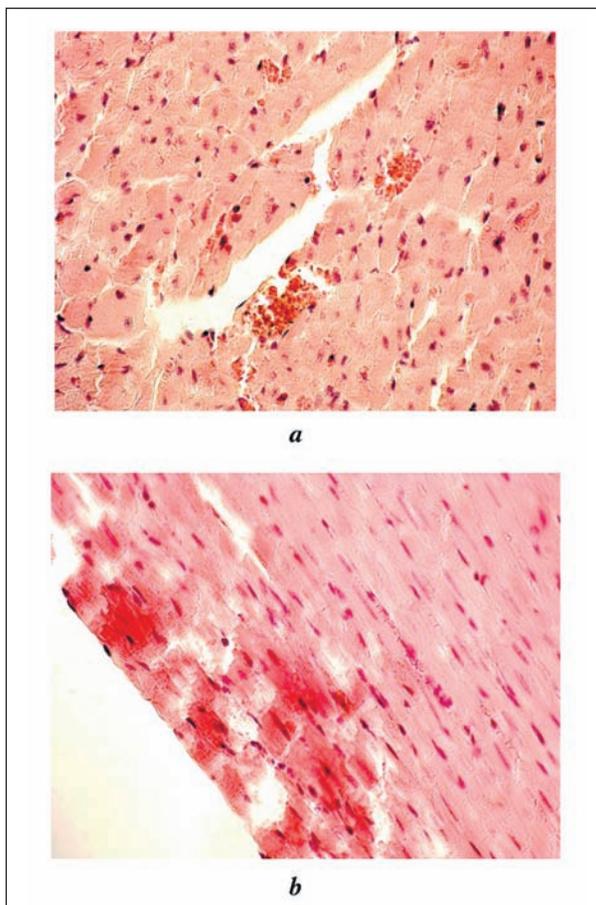


Рис. 1. Морфологические изменения в сердце при отравлении клозапином.

Fig. 1. Morphological changes in the heart with clozapine poisoning.

Note. Increase $\times 200$; staining with hematoxylin and eosin. *a* — 3 hours, pericapillary hemorrhage; *b* — 24 hours, eosinophilia and fragmentation of muscle fibers.

Примечание. *a* — перикапиллярные кровоизлияния через 3 часа после введения клозапина. Окрашивание гематоксилином и эозином. Ув. $\times 200$; *b* — эозинофилия и фрагментация мышечных волокон через 24 часа после введения клозапина. Окрашивание гематоксилином и эозином. Ув. $\times 200$.

by clozapine poisoning and by combination of clozapine with ethanol 3 and 24 hours after poisoning.

Materials and Methods

The study included 4 experimental groups, rats each (mongrel males) and 5 control rats that did not receive either clozapine or ethanol. The weight of the experimental animals was 290–350 g. The rats in the first and second groups received clozapine in a dose of 150 mg/kg and were withdrawn from the experiment by decapitation under anesthesia (chlorolase) at 3 and 24 hours, respectively. Rats of the third and fourth groups received a mixture of clozapine (in the same dose) and ethanol (2–2.5 ml of 70% ethanol as a function of animal weight) and were decapitated 3 and 24 hours after the start of the experiment.

The reliability of the occurrence of a particular histological trait was assessed using the Fisher criterion. The presence of the trait was considered reliable when it

Через 24 часа после введения клозапина достоверно (сравнение с контролем; оценка методом Фишера) подтверждено наличие следующих гистологических изменений:

- Эозинофилия (рис. 1, *b*);
- Фрагментация кардиомиоцитов (рис. 1, *b*);
- Венозное полнокровие;
- Артериальное полнокровие.

Все вышеуказанные гистологические изменения наблюдали в опытной группе (в 4 или 5 случаях) и не наблюдали в контрольной группе.

При исследовании гистологических срезов сердца через 3 часа после сочетанного введения клозапина и этанола наблюдали венозное полнокровие и эозинофилия кардиомиоцитов. Встречались случаи фрагментации мышечных волокон. Наблюдали 2 случая сладжа. Наблюдали артериальное полнокровие и гомогенизация цитоплазмы (5 случаев из 5). В контрольной группе ни одного из вышеуказанных признаков отмечено не было.

При исследовании гистологических срезов сердца через 3 часа после комбинированного введения клозапина и этанола достоверно (сравнение с контролем; оценка методом Фишера) подтверждены следующие признаки:

- Венозное полнокровие;
- Перикапиллярные кровоизлияния (рис. 2, *a*);
- Эозинофилия;
- Гомогенизация цитоплазмы.

Все вышеуказанные гистологические изменения наблюдали в опытной группе (в 4 или 5 случаях) и не наблюдали в контрольной группе.

Через сутки после комбинированного отравления клозапином и этанолом отмечали венозное полнокровие, эозинофилия кардиомиоцитов. Оба признака наблюдали во всех 5 случаях в опытной группе и не наблюдали в контрольной. Также встречались случаи фрагментации мышечных волокон. Наблюдали артериальное полнокровие, периартериальный отек (рис. 2, *b*).

Через сутки после комбинированного введения клозапина и этанола достоверно (сравнение с контролем; оценка методом Фишера) подтверждены:

- Артериальное полнокровие;
- Венозное полнокровие;
- Эозинофилия.

Все вышеуказанные гистологические изменения наблюдали в опытной группе (в 4 или 5 случаях) и не наблюдали в контрольной группе.

При сравнении группы 1 (клозапин, 3 часа) и группы 3 (клозапин и этанол, 3 часа) выявили достоверные различия по признаку гомогенизация цитоплазмы.

Гомогенизацию цитоплазмы наблюдали в группе 3, а в группе 1 она не была выявлена.

appeared in 4–5 cases in one group and was completely absent in another.

Results and Discussion

Three hours after the administration of clozapine eosinophilia of cardiomyocytes was observed. There were also plethora of veins and venules, small pericapillary hemorrhages and edema of myocardial tissue (Fig. 1, *a*).

The capillaries were unevenly full-blooded. In the part of cardiomyocytes no nuclei were found. At the same time, no fragmentation of cardiomyocytes was observed.

Three 3 hours after the administration of clozapine as a mono drug (when compared with the control), eosinophilia was authentically observed (5 cases out of 5); in the control group this change was not observed.

After 24 hours since the poisoning eosinophilia of cardiomyocytes was observed in the subepicardial and subendocardial areas of the heart. In the areas of eosinophilia there was fragmentation of muscle fibers (Fig. 1, *b*). Plethora of veins and venules was recorded. The nuclei of some cardiomyocytes were hypochromic.

24 hours after the administration of clozapine the following histological changes were reliably confirmed (compared with the control, Fisher's evaluation):

- Eosinophilia (Fig. 1, *b*);
- Fragmentation of cardiomyocytes (Fig. 1, *b*);
- Venous plethora;
- Arterial plethora.

All the above histological changes were observed in the experimental group (in 4 or 5 cases) and were not observed in the control group.

In the study of histological sections of the heart 3 hours after the combined administration of clozapine and ethanol venous plethora and eosinophilia of cardiomyocytes were observed. There were cases of fragmentation of muscle fibers. Two cases of sludge were observed. Arterial plethora and homogenization of the cytoplasm were observed (5 cases out of 5). None of the above signs were noted in the control group.

In the study of histological sections of the heart 3 hours after the combined administration of clozapine and ethanol the following signs were reliably confirmed (compared with the control, Fisher's evaluation):

- Venous plethora;
- Pericapillary hemorrhage (Fig. 2, *a*);
- Eosinophilia;
- Homogeneity of the cytoplasm.

All the above histological changes were observed in the experimental group (in 4 or 5 cases) and were not observed in the control group.

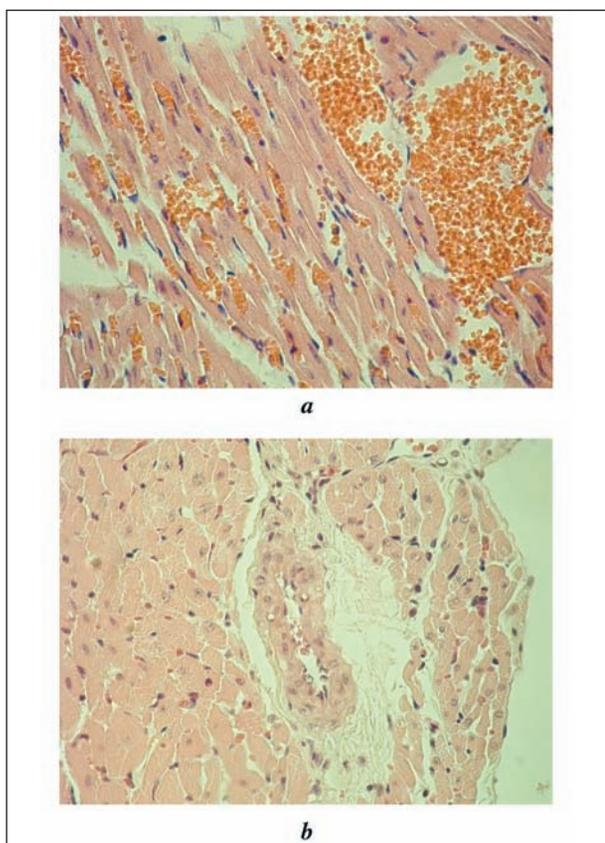


Рис. 2. Морфологические изменения в сердце при отравлении клозапином и этанолом.

Fig. 2. Morphological changes in the heart with clozapine and ethanol poisoning.

Note. Increase $\times 200$; staining with hematoxylin and eosin. *a* – 3 hours, pericapillary hemorrhage; *b* – 24 hours, periarterial edema.

Примечание. *a* – многочисленные кровоизлияния через 3 часа после введения клозапина и этанола. Окрасивание гематоксилином и эозином. Ув. $\times 200$; *b* – периаартериальный отек через 24 часа после введения клозапина и этанола. Окрасивание гематоксилином и эозином. Ув. $\times 200$.

При сравнении группы 1 (клозапин, 3 часа) и 2 (клозапин, 24 часа) наблюдали достоверные различия по признакам:

- Артериальное полнокровие;
- Периартериальные кровоизлияния.

Оба вышеуказанных признака наблюдали в группе 2 (клозапин, 24 часа) и не наблюдали в группе 1 (клозапин, 3 часа).

Достоверных различий между группами 3 (клозапин+этанол, 3 часа) и 4 (клозапин+этанол, 24 часа) не наблюдали; достоверных различий между группами 2 (клозапин, 24 часа) и 4 (клозапин+этанол, 24 часа) не наблюдали.

Наиболее ранним изменением в сердце при воздействии клозапином являлись нарушения кровообращения, которые появлялись уже через 3 часа после введения препарата и усиливались к 24 часу. Выявляемое полнокровие и кровоизлияния характерны для гипоксии.

Появление фрагментации кардиомиоцитов характерно для тяжелых нарушений ритма.

Venous plethora and eosinophilia of cardiomyocytes were observed a day after the combined poisoning with clozapine and ethanol. Both signs were observed in all 5 cases in the experimental group and were not observed in the control group. There have also been cases of fragmentation of muscle fibers. Arterial plethora and periarterial edema were revealed (Fig. 2, *b*).

One day after the combined administration of clozapine and ethanol the following traits were reliably confirmed (compared with the control, Fisher's evaluation):

- Arterial plethora;
- Venous plethora;
- Eosinophilia.

All the above histological changes were observed in the experimental group (in 4 or 5 cases) and were not observed in the control group.

A comparison of the Group 1 (clozapine, 3 hours) and the Group 3 (clozapine and ethanol, 3 hours) revealed significant differences in the homogeneity of the cytoplasm.

Homogeneity of the cytoplasm was observed in the Group 3, but not detected in the Group 1.

A comparison of the Group 1 (clozapine, 3 hours) and the Group 2 (clozapine, 24 hours) showed significant differences in the following traits:

- Arterial plethora;
- Periarterial hemorrhage.

Both of the above traits were observed in the Group 2 (clozapine, 24 hours) and were not observed in the Group 1 (clozapine, 3 hours).

There were no significant differences detected between the Group 3 (clozapine + ethanol, 3 hours) and the Group 4 (clozapine + ethanol, 24 hours); there were no significant differences between the Group 2 (clozapine, 24 hours) and the Group 4 (clozapine + ethanol, 24 hours).

The earliest change in the heart triggered by clozapine was blood circulation disorders that appeared already 3 hours after the administration of the medicine and increased by 24 hours. The identified plethora and hemorrhages are typical for hypoxia.

The appearance of fragmentation of cardiomyocytes is characteristic of severe rhythm disturbances. There are reports of the development of arrhythmias with clozapine exposure in the literature available [10, 11].

Myocardial eosinophilia, which is relatively specific for clozapine poisoning, was observed in all experimental groups. The results obtained are consistent with the literature data [17–23]. Hypereosinophilia with clozapine was observed in approximately two thirds of patients [23] presumably due to immunoglobulin-E-mediated reaction. Eosinophils in large numbers were deposited in the myocardium, were degranulated and released a large number of substances resulted in a toxic effect on membranes,

В доступной литературе существуют сообщения о развитии аритмий при воздействии клозапина [10, 11].

Эозинофилию миокарда, относительно специфичную для отравлений клозапином, наблюдали во всех опытных группах. Полученные результаты согласуются с литературными данными [17–23]. Гиперэозинофилия при применении клозапина наблюдается примерно у двух третей пациентов [23]. По механизму развития это иммуноглобулин-Е-опосредованная реакция. Эозинофилы в большом количестве откладываются в миокарде, подвергаются дегрануляции и выделяют большое количество веществ, которые оказывают токсическое действие на мембраны, ферменты, митохондрии кардиомиоцитов. К цитотоксическим веществам, выделяющимся при дегрануляции эозинофилов, относятся катионные белки, основной эозинофильный белок, нейротоксины и другие вещества, под влиянием которых развивается повреждение миокарда и эндокарда.

В группе, получавшей клозапин и этанол, через 3 часа наблюдали гомогенизацию цитоплазмы, что свидетельствует о гибели клеток. В группе, получавшей клозапин как монопрепарат, подобных изменений не наблюдали. Возможно, появление подобных изменений связано с влиянием этанола.

В группе, получавшей клозапин и этанол, через 3 часа наблюдали расстройства кровообращения (полнокровие вен, венул, мелкие перикапиллярные кровоизлияния), что вызвано воздействием циркуляторной гипоксии и повышенной агрегацией эритроцитов [7–10, 28]. К 24 часу эти расстройства усиливались. Наблюдали артериальное и венозное полнокровие, периартериальные и перикапиллярные кровоизлияния, что связано с усилением гипоксии.

Литература

1. Стопницкий А.А., Акалаев Р.Н. Интенсивная терапия больных с отравлением уксусной кислотой, осложненным развитием шока. *Общая реаниматология*. 2014; 10 (2): 18–22. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2014-2-18-22>
2. Батоцыренов Б.В., Ливанов Г.А., Андрианов А.Ю., Васильев С.А., Кузнецов О.А. Особенности клинического течения и коррекция метаболических расстройств у больных с тяжелыми отравлениями метадонном. *Общая реаниматология*. 2013; 9 (2): 18–22. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-2-18>
3. Ливанов Г.А., Батоцыренов Б.В., Васильев С.А., Андрианов А.Ю., Баранов Д.В., Неженцева И.В. Окислительный дистресс и его коррекция реамберинном у больных с острым отравлением смесью психотропных веществ. *Общая реаниматология*. 2013; 9 (5): 18–23. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-5-18>
4. Ливанов Г.А., Батоцыренов Б.В., Остапенко Ю.Н., Шестова Г.В., Рутковский Г.В., Малыгин А.Ю. Особенности ранней диагностики и лечения острых отравлений соединениями таллия. *Общая реаниматология*. 2013; 9 (3): 35–40. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-3-35>
5. Голубев А.М., Сундуков Д.В., Романова О.Л. Оценка морфологических изменений в легких при острых отравлениях клозапином, этиловым алкоголем и их сочетании. *Общая реаниматология*. 2015; 11 (4): 6–13. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2015-4-6-13>
6. Лозадзе А.Т., Ливанов Г.А., Батоцыренов Б.В., Коваленко А.Л., Лодягин А.Н., Глушков С.И., Баранов Д.В., Антонова А.М., Харитонова

enzymes and mitochondria of cardiomyocytes. Cytotoxic substances released during degranulation of eosinophils are known to include cationic proteins, the main eosinophilic protein, neurotoxins and other substances that contribute to the development of damage in the myocardium and endocardium.

In the clozapine and ethanol group homogeneity of the cytoplasm was observed after 3 hours that indicated cell death. In the group receiving clozapine as a monopreparation, similar changes were not observed. Therefore, the noticed alterations might be due to influence of ethanol.

In the group receiving clozapine and ethanol there were circulatory disorders after 3 hours (pleural veins, venules, small pericapillary hemorrhages) caused by circulatory hypoxia and the increased erythrocyte aggregation [7–10, 28]. By 24 hours these disorders intensified. We observed arterial and venous plethora, periarterial and pericapillary hemorrhages, which were associated with increased hypoxia.

Conclusion

The changes revealed by histological examination of the heart in animals receiving clozapine and a combination of ethanol and clozapine, along with the results of forensic analysis, can be used to diagnose the corresponding poisonings and to establish their prescription.

Заключение

Изменения, выявленные при гистологическом исследовании сердца у животных, получавших клозапин и комбинацию этанола и клозапина, в совокупности с результатами судебно-химического анализа могут быть использованы для диагностики соответствующих отравлений и для установления их давности.

References

1. Stopnitsky A.A., Akalaev R.N. Intensive therapy of patients with acetic acid poisoning complicated by shock. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2014; 10 (2): 18–22. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2014-2-18-22>. [In Russ., In Engl.]
2. Batotsyrenov B.V., Livanov G.A., Andrianov A.Yu., Vasilyev S.A., Kuznetsov O.A. The clinical course and correction of metabolic disturbances in patients with severe methadone poisoning. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2013; 9 (2): 18–22. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-2-18>. [In Russ., In Engl.]
3. Livanov G.A., Batotsyrenov B.V., Vasilyev S.A., Andrianov A.Yu., Baranov D.V., Nezhentseva I.V. Oxidative distress and its correction with reamberin in patients with acute poisoning by a mixture of psychotropic substances. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2013; 9 (5): 18–23. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-5-18>. [In Russ., In Engl.]
4. Livanov G.A., Batotsyrenov B.V., Ostapenko Yu.N., Shestova G.V., Rutkovsky G.V., Malugin A.Yu. Acute severe thallium poisoning: early diagnosis and treatment. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2013; 9 (3): 35–40. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-3-35>. [In Russ., In Engl.]
5. Golubev A.M., Sundukov D.V., Romanova O.L. Assessment of lung morphological changes in acute intoxications with clozapine, ethanol and their combination. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2015; 11 (4): 6–13. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2015-4-6-13>. [In Russ., In Engl.]

- Т.В. Острые отравления диацетилморфином (героином) (обзор). *Общая реаниматология*. 2016; 12 (6): 64–81. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2016-6-64-81>
7. Справочник Видаль. Лекарственные препараты в России. 21-е изд. М.: АстраФармСервис; 2014: 8.
 8. *Машковский М.Д.* Лекарственные средства. 16-е изд. М.: Новая волна; 2014: 73–74.
 9. *Covard D.M.* General pharmacology of clozapine. *Br. J. Psychiatry Suppl.* 1992; 17: 5–11. PMID: 1358127
 10. Clozaril (clozapine tablets). Product monograph. Dorval (QC): Novartis Pharmaceuticals Canada Inc; 2014.
 11. *Kervin R.W.* Clozapine: back to future for shizophrenia research. *Lancet.* 1995; 345 (8957): 1063–1064. [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(95\)90811-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(95)90811-0). PMID: 7715333
 12. *Слюндин Д.Г., Ливанов А.С., Анухин В.В., Бобринская И.Г., Гутова Е.В.* Криминальные отравления клозапином. *Анестезиология и реаниматология*. 2007; 4: 61–64. PMID: 17929492
 13. *Зимина Л.Н., Павленко Е.Ю., Ильяшенко К.К.* Морфологические аспекты острых отравлений лепонексом и финлепсином. *Анестезиология и реаниматология*. 2005; 6: 35–37. PMID: 16499104
 14. *Мурхазанов Р.А.* Клинические аспекты отравления клозапином. *Акту. вопросы внутр. болезней*. 2000; 24: 252.
 15. *Ермохина Т.В., Лужников Е.А., Ильяшенко К.К.* Гериатрические аспекты диагностики лечения отравлений психотропными веществами. *Анестезиология и реаниматология*. 2008; 6: 37–39. PMID: 19227292
 16. *Meeker J.E., Herrmann P.W., Som C.W., Reynolds P.C.* Clozapine tissue concentrations following an apparent suicidal overdose of Clozaril. *J. Anal. Toxicol.* 1992; 16 (1): 54–56. <http://dx.doi.org/10.1093/jat/16.1.54>. PMID: 1640699
 17. *Haas S.J., Hill R., Krum H., Liew D., Tonkin A., Demos L., Stephan K., McNeil J.* Clozapine-associated myocarditis: a review of 116 cases of suspected myocarditis associated with the use of clozapine in Australia during 1993–2003. *Drug Saf.* 2007; 30 (1): 45–57. <http://dx.doi.org/10.2165/00002018-200730010-00005>. PMID: 17194170
 18. *Lang U., Willbring M., von Golitschek R., Schmeisser A., Matschke K., Malte Tugtekin S.* Clozapine-induced myocarditis after long-term treatment: case presentation and clinical perspectives. *J. Psychopharmacol.* 2008; 22 (5): 576–580. <http://dx.doi.org/10.1177/0269881107082136>. PMID: 18308817
 19. *Winckel K., Siskind D., Hollingworth S., Wheeler A.* Clozapine-induced myocarditis: separating the wheat from the chaff. *Aust. N. Z. J. Psychiatry.* 2015; 49 (2): 188. <http://dx.doi.org/10.1177/0004867414554269>. PMID: 25296630
 20. *Chatterton R.* Eosinophilia after commencement of clozapine treatment. *Aust. N. Z. J. Psychiatry.* 1997; 31 (6): 874–876. <http://dx.doi.org/10.3109/00048679709065515>. PMID: 9483262
 21. *Kilian J.G., Kerr K., Lawrence C., Celermajer D.S.* Myocarditis and cardiomyopathy associated with clozapine. *Lancet.* 1999; 354 (9193): 1841–1845. [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(99\)10385-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(99)10385-4). PMID: 10584719
 22. *Merrill D.B., Ahmari S.E., Bradford J.M., Lieberman J.A.* Myocarditis during clozapine treatment. *Am. J. Psychiatry.* 2006; 163 (2): 204–208. <http://dx.doi.org/10.1176/appi.ajp.163.2.204>. PMID: 16449471
 23. *Ronaldson K.J., Fitzgerald P.B., Taylor A.J., Topliss D.J., McNeil J.J.* A new monitoring protocol for clozapine-induced myocarditis based on an analysis of 75 cases and 94 controls. *Aust. N. Z. J. Psychiatry.* 2011; 45 (6): 458–465. <http://dx.doi.org/10.3109/00048674.2011.572852>. PMID: 21524186
 24. *Зимина Л.Н., Михайлова Г.В., Баранова М.В., Павленко Е.Ю., Полозов М.А., Попов С.В., Розумный П.А., Ильяшенко К.К., Ермохина Т.В.* Морфологические аспекты острых отравлений азалептином. *Суд.-мед. экспертиза*. 2008; 51 (3): 8–10. PMID: 18589664
 25. *Баширова А.Р., Сундуков Д.В., Голубев А.М.* Морфофункциональные патологические изменения головного мозга при смертельных отравлениях азалептином и этиловым алкоголем. *Мед. экспертиза и право*. 2013; 4: 35–36.
 26. *Velayudhan R., Kakkan S.* Late onset clozapine induced agranulocytosis. *Indian J. Psychol. Med.* 2014; 36 (4): 425–427. <http://dx.doi.org/10.4103/0253-7176.140738>. PMID: 25336778
 27. *Matsuda K.T., Cho M.C., Lin K.M., Smith M.W., Young A.S., Adams J.A.* Clozapine dosage, serum levels, efficacy and side-effect profiles: a comparison of Korean-American and Caucasian patients. *Psychopharmacol. Bull.* 1998; 32 (2): 253–257. PMID: 8783895
 28. *Hägg S., Spigset O., Söderström T.G.* Association of venous thromboembolism and clozapine. *Lancet.* 2000; 355 (9210): 1155–1156. [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(00\)02066-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(00)02066-3). PMID: 10791380
 6. *Loladze A.T., Livanov G.A., Batotsyrenov B.V., Kovalenko A.L., Lodyagin A.N., Glushkov S.I., Baranov D.V., Antonova A.M., Kharitonova T.V.* Acute diacetylmorphine (heroin) intoxication (review). *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology.* 2016; 12 (6): 64–81. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2016-6-64-81>. [In Russ., In Engl.]
 7. VIDAL directory. Medicines in Russia. 21-st ed. Moscow: AstraFarmServis; 2014: 8. [In Russ.]
 8. *Mashkovsky M.D.* Medicinal products. 16-th ed. Moscow: Novaya Volna; 2014: 73–74. [In Russ.]
 9. *Covard D.M.* General pharmacology of clozapine. *Br. J. Psychiatry Suppl.* 1992; 17: 5–11. PMID: 1358127
 10. Clozaril (clozapine tablets). Product monograph. Dorval (QC): Novartis Pharmaceuticals Canada Inc; 2014.
 11. *Kervin R.W.* Clozapine: back to future for shizophrenia research. *Lancet.* 1995; 345 (8957): 1063–1064. [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(95\)90811-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(95)90811-0). PMID: 7715333
 12. *Slyundin D.G., Livanov A.S., Anuchin V.V., Bobrinskaya I.G., Gutova E.V.* Criminal clozapine intoxications. *Anesteziologiya i Reanimatologiya.* 2007; 4: 61–64. PMID: 17929492. [In Russ.]
 13. *Zimina L.N., Pavlenko E.Yu., Ilyashenko K.K.* Acute poisoning by leponex and finlepsin: morphological aspects. *Anesteziologiya i Reanimatologiya.* 2005; 6: 35–37. PMID: 16499104. [In Russ.]
 14. *Murkhazanov R.A.* Clinical aspects of clozapine intoxication. *Aktualnye Voprosy Vnutrennikh Boleznei.* 2000; 24: 252. [In Russ.]
 15. *Ermokhina T.V., Luzhnikov E.A., Ilyashenko K.K.* Geriatric aspects of diagnosis and treatment of psychotropic agent poisonings. *Anesteziologiya i Reanimatologiya.* 2008; 6: 37–39. PMID: 19227292. [In Russ.]
 16. *Meeker J.E., Herrmann P.W., Som C.W., Reynolds P.C.* Clozapine tissue concentrations following an apparent suicidal overdose of Clozaril. *J. Anal. Toxicol.* 1992; 16 (1): 54–56. <http://dx.doi.org/10.1093/jat/16.1.54>. PMID: 1640699
 17. *Haas S.J., Hill R., Krum H., Liew D., Tonkin A., Demos L., Stephan K., McNeil J.* Clozapine-associated myocarditis: a review of 116 cases of suspected myocarditis associated with the use of clozapine in Australia during 1993–2003. *Drug Saf.* 2007; 30 (1): 45–57. <http://dx.doi.org/10.2165/00002018-200730010-00005>. PMID: 17194170
 18. *Lang U., Willbring M., von Golitschek R., Schmeisser A., Matschke K., Malte Tugtekin S.* Clozapine-induced myocarditis after long-term treatment: case presentation and clinical perspectives. *J. Psychopharmacol.* 2008; 22 (5): 576–580. <http://dx.doi.org/10.1177/0269881107082136>. PMID: 18308817
 19. *Winckel K., Siskind D., Hollingworth S., Wheeler A.* Clozapine-induced myocarditis: separating the wheat from the chaff. *Aust. N. Z. J. Psychiatry.* 2015; 49 (2): 188. <http://dx.doi.org/10.1177/0004867414554269>. PMID: 25296630
 20. *Chatterton R.* Eosinophilia after commencement of clozapine treatment. *Aust. N. Z. J. Psychiatry.* 1997; 31 (6): 874–876. <http://dx.doi.org/10.3109/00048679709065515>. PMID: 9483262
 21. *Kilian J.G., Kerr K., Lawrence C., Celermajer D.S.* Myocarditis and cardiomyopathy associated with clozapine. *Lancet.* 1999; 354 (9193): 1841–1845. [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(99\)10385-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(99)10385-4). PMID: 10584719
 22. *Merrill D.B., Ahmari S.E., Bradford J.M., Lieberman J.A.* Myocarditis during clozapine treatment. *Am. J. Psychiatry.* 2006; 163 (2): 204–208. <http://dx.doi.org/10.1176/appi.ajp.163.2.204>. PMID: 16449471
 23. *Ronaldson K.J., Fitzgerald P.B., Taylor A.J., Topliss D.J., McNeil J.J.* A new monitoring protocol for clozapine-induced myocarditis based on an analysis of 75 cases and 94 controls. *Aust. N. Z. J. Psychiatry.* 2011; 45 (6): 458–465. <http://dx.doi.org/10.3109/00048674.2011.572852>. PMID: 21524186
 24. *Zimina L.N., Mikhailova G.V., Baranova M.V., Pavlenko E.Yu., Polozov M.A., Popov S.V., Rozumnyi P.A., Ilyashenko K.K., Ermokhina T.V.* Morphological aspects of acute poisoning with azaletin. *Sudebno-Meditsinskaya Ekspertiza.* 2008; 51 (3): 8–10. PMID: 18589664. [In Russ.]
 25. *Bashirova A.R., Sundukov D.V., Golubev A.M.* Morphofunctional pathological changes in the brain in case of fatal poisoning with azaletin and ethyl alcohol. *Meditsinskaya Ekspertiza i Pravo.* 2013; 4: 35–36. [In Russ.]
 26. *Velayudhan R., Kakkan S.* Late onset clozapine induced agranulocytosis. *Indian J. Psychol. Med.* 2014; 36 (4): 425–427. <http://dx.doi.org/10.4103/0253-7176.140738>. PMID: 25336778
 27. *Matsuda K.T., Cho M.C., Lin K.M., Smith M.W., Young A.S., Adams J.A.* Clozapine dosage, serum levels, efficacy and side-effect profiles: a comparison of Korean-American and Caucasian patients. *Psychopharmacol. Bull.* 1998; 32 (2): 253–257. PMID: 8783895
 28. *Hägg S., Spigset O., Söderström T.G.* Association of venous thromboembolism and clozapine. *Lancet.* 2000; 355 (9210): 1155–1156. [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(00\)02066-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(00)02066-3). PMID: 10791380

Поступила 15.12.16

Received 15.12.16

Влияние перинатальной гипоксии на морфологию эритроцитов у новорожденных

С. А. Перепелица^{1,2,3}, В. А. Сергунова¹, О. Е. Гудкова¹

¹ НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского, ФНКЦ реаниматологии и реабилитологии
Россия, 10703, г. Москва, ул. Петровка, д. 25, стр. 2

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

³ Родильный дом Калининградской области №1,
Россия, 236016, г. Калининград, Клиническая ул., д. 81

The Effect of Perinatal Hypoxia on Red Blood Cell Morphology in Newborns

Svetlana A. Perepelitsa^{1,2,3}, Viktoria A. Sergunova¹, Olga E. Gudkova¹

¹ V. A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology,
Federal Research and Clinical Center of Intensive Care Medicine and Rehabilitation,
25 Petrovka Str., Build. 2, Moscow 107031, Russia

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

³ Kaliningrad District Maternity House No. 1,
81 Klinicheskaya Str., Kaliningrad 236016, Russia

Цель работы. Выявление особенностей морфологии эритроцитов у новорожденных, перенесших перинатальную гипоксию, методом атомной силовой микроскопии.

Материал и методы. Изучили состояние мембран эритроцитов у 10 новорожденных, перенесших перинатальную гипоксию. Все новорожденные родились с низкой оценкой по шкале Апгар, при рождении им провели реанимационные мероприятия: интубацию трахеи, перевод на искусственную вентиляцию легких (ИВЛ). Из родильного зала новорожденных группы исследования переводили в палату реанимации, где их подключали к аппарату ИВЛ. Для получения изображения нормальных эритроцитов в поле атомного силового микроскопа (АСМ) выделили группу сравнения из 14 доношенных новорожденных с благоприятным течением беременности и нормальными срочными родами.

Результаты. В остаточной пуповинной крови новорожденных, перенесших перинатальную гипоксию, дискоциты и планоциты составляли 36% от общего количества эритроцитов, отмечалось сниженное содержание нормальных форм эритроцитов, что свидетельствовало о неблагоприятном воздействии гипоксии на мембрану эритроцитов новорожденных. Для детей, перенесших перинатальную гипоксию, был характерен пойкилоцитоз, визуализировались переходные формы эритроцитов: стоматоциты и эхиноциты. Стоматоцитоз и эхиноцитоз были характерны для 80% новорожденных. Стоматоцитоз сохранялся у доношенных новорожденных, перенесших гипоксию, осложнившуюся неонатальной аспирацией меконием. Анализ наноструктуры мембран эритроцитов показал, что при рождении у новорожденных с перинатальной гипоксией наибольшим изменениям была подвержена высота первого порядка (h_1): ее величина в 4,2 раза превышала аналогичный показатель здоровых новорожденных. Высота второго порядка (h_2) превышала аналогичный показатель в 2 раза, т.е. спектринный матрикс также изменялся под влиянием гипоксии. Величина третьего порядка (h_3) также была достоверно выше у новорожденных, перенесших перинатальную гипоксию, по сравнению со здоровыми новорожденными. Перинатальная гипоксия вызывала антенатальное полное повреждение наноструктуры мембран эритроцитов.

Заключение. Перинатальная гипоксия вызывает изменение морфологии эритроцитов и нарушение наноструктуры мембран. Выявленные изменения свидетельствуют о влиянии степени гипоксии на все исследованные компоненты наноструктуры мембраны эритроцита: фосфолипидный бислой, белковые компоненты мембраны, спектринный матрикс. Изменение высот и пространственных периодов поверхностей мембран h_1 и h_3 эритроцитов, связанное с гипоксией, по-видимому, направлено на компенсаторное увеличение поверхности мембраны эритроцита, способствующее увеличению площади газообмена. Данные изменения, вероятно, являются приспособительной реакцией, направленной на сохранение функциональной способности эритроцита при гипоксии. Течение раннего периода адаптации (постгипоксический период) характеризовалось нестабильностью всех исследованных компонентов наноструктуры мембран эритроцитов, большой вариабельностью морфологических форм. Последствия перинатального воздействия гипоксии на мембрану эритроцитов сохранялись в течение определенного времени, и выходили за рамки раннего неонатального периода.

Ключевые слова: перинатальная гипоксия; мембрана эритроцитов; наноструктура мембран; новорожденные

Адрес для корреспонденции:

Светлана Перепелица
E-mail: sveta_perepeliza@mail.ru

Correspondence to:

Svetlana Perepelitsa
E-mail: sveta_perepeliza@mail.ru

Aim. To study the red blood cell (RBC) morphology in newborn infants with a history of perinatal hypoxia using the atomic-force microscopy.

Material and methods. The state of RBC membranes of 10 newborns with a history of perinatal hypoxia was studied. All infants were born with low Apgar scoring; the following resuscitative measures were carried out at birth: tracheal intubation, mechanical ventilation (MV). The study group newborns were transferred from the delivery room to the ICU, where MV was started. To obtain images of normal red blood cells in the field of the atomic force microscope (AFM), 14 full-term newborns delivered after a favorable course of pregnancy and normal term labor were enrolled in a reference group.

Results. Discocytes and planocytes comprised 36% of the total red blood cell count in the residual umbilical cord blood of newborns with a history of perinatal hypoxia; there was a decreased amount of normal RBC forms, thus demonstrating an unfavorable effect of hypoxia on newborn's RBC membrane. Poikilocytosis was typical for infants exposed to perinatal hypoxia; transitional forms of RBCs (stomatocytes and echinocytes) were visualized. Stomatocytosis and echinocytosis were typical for 80% of newborns. Stomatocytosis persisted in full-term newborns exposed to hypoxia complicated with aspiration of neonatal meconium. The analysis of RBC membrane nanostructure demonstrated that the first-order height (h_1) experienced the greatest alterations at birth in newborns with perinatal hypoxia; it was 4.2 times as much as the similar parameter in healthy newborns. Estimations of second-order height (h_2) parameter values demonstrated a two-fold increase showing that the spectrin matrix also changed under the effect of hypoxia. The third order value (h_3) was significantly higher in newborns with perinatal hypoxia, than that in healthy infants. Therefore, perinatal hypoxia causes antenatal complete damage of nanostructures of RBC membranes.

Conclusion. Perinatal hypoxia alters RBC morphology and impairs the nanostructure of membranes. These changes confirmed the effect of the hypoxia degree on all nanostructures of RBC membranes: phospholipid bilayer, protein elements of the membrane, spectrin matrix. Changes in heights and spatial periods of the red blood cell membrane surfaces h_1 and h_3 associated with hypoxia apparently are aimed at a compensatory increase in the red blood cell membrane surface contributing to the increase of the gas exchange area. These changes may represent adaptive responses to hypoxia aimed to preserve the functional capabilities of red blood cells. The course of an early adaptation period (post-hypoxic period) is characterized by the instability of all nanostructures of red blood cell membranes and a greater variability of morphological forms. Effects of perinatal hypoxia on the red blood cell membrane persist for some time and go beyond the early neonatal period.

Key words: perinatal hypoxia; RBC membrane; nanostructure of membranes; newborns

DOI:10.15360/1813-9779-2017-2-14-23

Введение

Перинатальная гипоксия (ПГ) остается актуальной проблемой перинатологии, что обусловлено рядом факторов, отягощающих течение беременности и родов. Усилия специалистов многих специальностей направлены на профилактику, раннюю диагностику и лечение этого состояния. При развитии перинатальной асфиксии крайне важна ранняя диагностика возможных повреждений органов и систем новорожденного ребенка. Использование стандартных постнатальных методов контроля для диагностики повреждений не всегда позволяет выявлять их в ранние сроки заболевания, в связи, с чем необходимо углубленное изучение причин и последствий перинатальной асфиксии у новорожденных [1–3].

Эритроциты являются важнейшими клетками, которые, с одной стороны, осуществляют транспорт кислорода, с другой — подвергаются изменениям при воздействии гипоксии. Существуют физиологические отличия эритроцитов новорожденного ребенка. Понимание различий между эритроцитами новорожденных и взрослых очень важно в оценке перинатальных повреждений клеток. Эти различия включают изменения в размере и формах эритроцитов, составе глобина и клеточ-

Introduction

Perinatal hypoxia (PH) remains an urgent problem of perinatology due to a number of factors which complicate the course of pregnancy and labor. Numerous studies are directed at prevention, early diagnosis and treatment of hypoxia of neonates. If perinatal asphyxia develops, early diagnosis of possible damage of newborn's organs and systems is urgently needed. Despite standard postnatal monitoring methods, however, injuries may not always be diagnosed during the early stages of the disease, and therefore, thorough investigation of causes and consequences of perinatal asphyxia in newborns is required [1–3].

Red blood cells (RBC) are the most important cells that, on the one hand, perform the oxygen transport, and on the other hand, they are subject to changes when exposed to hypoxia. There are physiological differences in RBCs morphology of a newborn infant. Understanding the differences between RBC of newborn infants and adults is very important in assessing the perinatal cell damage. These differences include changes in the size and shapes of RBC, globin composition, and cellular metabolism. A normal RBC membrane is composed of lipids and proteins that interact to preserve RBC physiological

ного метаболизма. В норме мембрана эритроцита состоит из липидов и белков, которые взаимодействуют так, чтобы сохранить эритроциту физиологическую деформируемость и гибкость, обеспечивающие циркуляцию крови. Количественные или качественные дефекты в мембранных белках, которые возникают при воздействии неблагоприятных условий на мембрану эритроцита, приводят к уменьшению деформируемости мембраны и неустойчивости, последующему разрушению клеток [4]. Способность эритроцитов к деформации мембран обусловлена состоянием самих мембран [5]. Прогрессирующие изменения форм эритроцитов сопровождаются нарушениями цитоскелета и плазматической мембраны, снижением внутриклеточной концентрации АТФ [6–8], а также изменением функциональных свойств эритроцитов: снижением транспортной функции, повышенной деформируемостью мембран [9].

Мембрана эритроцитов особенно чувствительна к оксидативному стрессу. Информация о том, как запускается оксидативный стресс, и о механизмах его воздействия на эритроциты может дать ответ на вопросы о причинах анемии недоношенных и о механизме повреждения эритроцитов при гипоксии. Последние гипотезы о механизме окислительного повреждения красных клеток, и доказательства связей между эритроцитами, оксидативным стрессом и гипоксией предполагают, что повреждение эритроцитов у новорожденных индуцируется тяжелой гипоксией и ацидозом в перинатальный период [10].

В качестве подтверждения асфиксии при рождении предложено исследование количества образованных ядер эритроцитов (NRBC) в остаточной пуповинной крови (ОПК). Комбинация NRBC и гипоксически-ишемическая энцефалопатия обладает высокой предсказательной силой для определения прогноза асфиксии у новорожденных, т.е. дисбаланс NRBC является прогностическим биомаркером перенесенной асфиксии новорожденного [11].

Неблагоприятное течение беременности, осложненное внутриутробной гипоксией плода, влияет на морфологическую структуру эритроцитов, вызывает функциональные изменения наноструктуры мембран, что проявляется у недоношенных новорожденных выраженным пойкилоцитозом, усиленным фликкерингом мембраны эритроцитов и изменениями спектринного матрикса. Выявленные изменения свидетельствуют о влиянии степени гипоксии на наноструктуру мембран эритроцитов. Течение раннего неонатального периода характеризуется постнатальной перестройкой кровообращения, сохранением пойкилоцитоза. Макроцитоз и планоцитоз отражают компенсаторное состояние эритропоэза, являются физиологическим состоянием эритроци-

deformability and flexibility and ensure the blood circulation. Quantitative or qualitative defects in membrane proteins that occur when the RBC membrane is exposed to adverse environment result in reduction of the membrane deformability and instability followed by the destruction of cells [4]. The ability of RBC to deform is due to the state of the membranes themselves [5]. Progressing changes in RBC shapes are accompanied by impairment of the cytoskeleton and plasma membrane, decreased intracellular ATP concentration [6–8], as well as changes in the functional characteristics of RBC: reduced transport function and increased membrane deformability [9].

The RBC membrane is particularly sensitive to the oxidative stress. Information on how the oxidative stress and mechanisms of its effect on RBC are triggered will answer a questions about the causes of anemia of premature newborns and the mechanism of RBC damage in hypoxia. The latest concepts on the mechanism of oxidative damage of RBC and evidence of links between RBC, oxidative stress and hypoxia suggest that the RBC damage in newborns is induced by severe hypoxia and acidosis in the perinatal period [10].

Tests for the nucleated RBC (NRBC) count in the residual umbilical cord blood (RUCB) are suggested to confirm perinatal asphyxia. The combination of NRBC and hypoxic-ischemic encephalopathy has a high predictive potential for determining the prognosis of asphyxia in newborns, i.e. the NRBC imbalance is a prognostic biomarker of neonatal asphyxia [11].

The adverse course of pregnancy complicated with intrauterine fetal hypoxia affect the morphological structure of RBC, causes functional changes in membrane nanostructures, which manifest themselves in premature newborns as severe poikilocytosis, pronounced flickering of RBC membranes and changes in the spectrin matrix. These changes confirmed the effect of the hypoxia degree on the nanostructure of RBC membranes. The course of the early neonatal period is characterized by postnatal rearrangement of the blood circulation, active process on RBC membranes, and persistence of poikilocytosis. Macrocytosis and planocytosis reflect the compensatory state of erythropoiesis and represent the physiological state of RBC for premature newborns [12]. In the case of intrauterine hypoxia, the permeability of newborns' red blood cell membranes is increased. Studies of the diffusion of water molecules in RBC demonstrated that the time of proton exchange of «membrane» water with intra- and extracellular water increased in newborns with a history of intrauterine hypoxia [13].

The greatest changes in the red blood cell membrane structure were found in residual umbilical cord blood (RUCB) of premature newborns with respira-

тов для недоношенных детей [12]. При внутриутробной гипоксии повышена проницаемость мембран эритроцитов новорожденных. При изучении диффузии молекул воды в эритроцитах, установлено, что время обмена протонов «мембранной» воды с внутри- и внеклеточной водой повышено у новорожденных, перенесших внутриутробную гипоксию [13].

Наибольшие изменения структуры мембран эритроцитов выявлены в остаточной пуповинной крови ОПК недоношенных новорожденных с респираторным дистресс-синдромом (РДСН). Для пациентов этой группы характерен внутриутробный пойкилоцитоз, обусловленный воздействием неблагоприятных факторов, что подтверждается наличием множественных корреляционных связей. При анализе наноструктуры мембран эритроцитов выявлено, что наиболее чувствительной является величина первого порядка, свидетельствующая о внутриутробном нарушении микроструктуры мембран [14]. Во время неблагоприятно протекающей многоплодной беременности происходит антенатальное повреждение наноструктуры мембран эритроцитов новорожденных. Течение раннего периода адаптации у детей характеризуется сменой морфологических форм эритроцитов, что обусловлено активными процессами трансформации поверхности мембраны эритроцитов [15].

Цель работы — выявление особенностей морфологии эритроцитов у новорожденных, перенесших перинатальную гипоксию, методом атомной силовой микроскопии.

Материал и методы

В группу исследования состояния мембран эритроцитов включили 10 новорожденных, перенесших перинатальную гипоксию (группа 1). Все новорожденные родились с низкой оценкой по шкале Апгар, при рождении им провели реанимационные мероприятия: интубацию трахеи, перевод на искусственную вентиляцию легких (ИВЛ). При рождении у новорожденных выявили метаболический лактат — ацидоз различной степени тяжести, что свидетельствовало о перенесенной перинатальной гипоксии. Из родильного зала новорожденных группы исследования перевели в палату реанимации, где детей подключали к аппарату ИВЛ, которую проводили в режиме контролируемой вентиляции. Течение раннего неонатального периода у новорожденных осложнилось развитием полиорганной недостаточности, в первую очередь, дыхательной недостаточностью, нарушениями центральной гемодинамики, в связи с чем, проводили комплексное интенсивное лечение.

Для получения нормальных эритроцитов выделили группу сравнения из 14 доношенных новорожденных с благоприятным течением беременности и нормальными срочными родами (группа 2). Средний гестационный возраст детей составил $39,4 \pm 0,5$ недель, масса тела при рождении — $3131,7 \pm 588,8$ грамм, оценка по шкале Апгар

tory distress syndrome (RDS). Intrauterine poikilocytosis caused by adverse factors is typical for patients of this group, as evidenced by the presence of multiple correlations. The analysis of RBC membrane nanostructure demonstrated that the first-order value indicating the intrauterine impairment of membrane microstructure is the most sensitive one [14]. Antenatal impairment of newborns' RBC membranes occur during a multiple pregnancy with an adverse course. The course of the early adaptation period in infants is characterized by the change of morphological forms of RBC, which is caused by an active process on the RBC membrane [15].

The aim of this study is to assess the morphology of RBC in newborns with perinatal hypoxia using the atomic-force microscopy.

Materials and Methods

The state of RBC membranes of 10 newborns with perinatal hypoxia was studied (group 1). All infants were born with low Apgar scoring; the following resuscitative measures were carried out at birth: tracheal intubation, mechanical ventilation (MV). At birth, different degrees of metabolic lactate-acidosis were diagnosed at birth thus confirming the perinatal hypoxia. The study group newborns were transferred from the delivery room to the ICU, where MV in the controlled ventilation mode was started. The course of the early neonatal period was complicated with the multiple organ failure, first of all, with respiratory compromise and central hemodynamic disorders, therefore, a complex intensive therapy was performed.

To obtain images of normal red blood cells in the field of the atomic force microscope (AFM), 14 full-term newborns delivered after a favorable course of pregnancy and normal term labor were enrolled in a reference group (group 2). The median gestational age of infants was 39.4 ± 0.5 weeks, the birthweight was 3131.7 ± 588.8 g, Apgar score at 1 minute of life was 8 ± 0.4 . The main clinical characteristics of the newborns are presented in table 1. No significant difference in the birthweight and gestational age was found. The Apgar scoring of the study newborns was significantly lower than that of healthy infants ($P < 0.01$). Lethal outcomes were registered in the study group alone.

All newborns received professional care in accordance with the procedure for rendering medical care in neonatology [16].

The following methods were used in the study:

Clinical assessment of the infant's birth status, including Apgar scoring (AS) at the 1st minute after the birth.

Catheterization of v. umbilicalis using a thermoplastic catheter was performed for the infusion therapy and lab tests.

Newborns' red blood cells were studied using the atomic force microscope (AFM). There were the following study objects: residual umbilical cord blood (RUCB) of premature newborns, central venous blood sampled 12 hours after birth and venous blood of newborns sampled on Day 7 after birth. RUCB was sampled immediately after cutting the umbilical cord. The blood is sampled to special 0.25 ml test tubes with the EDTA preservative added; the blood was mixed with the preservative; it was left for 30

Critical States in Newborns

Основные клинические характеристики новорожденных ($M \pm \sigma$).
Main clinical characteristics of newborn infants ($M \pm \sigma$).

| Parameters | Values of parameters in groups | |
|---|--------------------------------|--------------|
| | 1 (n=10) | 2 (n=14) |
| Gestational age, weeks | 36.3±3.1 | 39.4±0.5 |
| Body weight, g | 2907±687.5 | 3131.7±588.8 |
| Apgar score at the 1 st minute | 4(2;7)* | 8(8;9) |
| The number of children on MV | 10 (100%) | — |

Note. * — $P < 0.01$ — significance of differences between groups.

Примечание. Parameters — показатели; Values of parameters in groups — значения показателей в группах; Gestational age, weeks — срок гестации, недель; Body weight, g — масса тела, гр; Apgar score at the 1st minute — шкала Апгар на 1-й мин., балл; The number of children on MV — количество детей на ИВЛ. * — $p < 0.01$ — достоверность различий между группами.

на 1-й минуте жизни $-8, \pm 0,4$ балла. Основные клинические характеристики новорожденных представлены в табл. 1. Достоверных отличий по массе тела при рождении, гестационному возрасту не выявили. У исследуемых новорожденных оценка по шкале Апгар достоверно ниже, по сравнению со здоровыми детьми ($p < 0,01$). Только в группе исследования были летальные исходы.

Всем новорожденным оказали квалифицированную помощь в соответствии с порядком оказания медицинской помощи по профилю «неонатология» [16].

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

Для проведения инфузионной терапии и лабораторных исследований выполняли катетеризацию v. Umbilicalis термопластичным катетером.

Исследование эритроцитов новорожденных проводили в поле АСМ. Объектом исследования явились: остаточная пуповинная кровь (ОПК) недоношенных новорожденных, центральная венозная кровь через 12 часов после рождения и венозная кровь новорожденных 7-х суток жизни. ОПК забирали сразу после пересечения пуповины. Забор осуществляли в специальные пробирки объемом 0,25 мл с добавлением консерванта ЭДТА, кровь перемешивали с консервантом, отстаивали в течение 30 минут, затем готовили монослой эритроцитов для дальнейшей обработки в поле АСМ: 20 мкл крови наносили на предметное стекло и приготавливали монослой эритроцитов с помощью центрифуги Diff Spin 2 (США).

Изображение эритроцитов получали с помощью атомного силового микроскопа

«NTEGRA prima» (Россия) в полуконтактном режиме. В качестве зондов использовали кантилеверы NSG01-A. Число точек сканирования 512 и 1024, поля сканирования 100×100 мкм, 20×20 мкм. Статистическую обработку данных проводили с помощью стандартной программы Origin 6.1, которая входит в состав Microsoft Office (USA), специально предназначенной для обработки результатов научных исследований. Эта программа позволяет построить гистограммы, определить среднее значение, величину среднеквадратического отклонения и получить интервальную оценку, оценку достоверности полученных результатов, оценку достоверности различий. Достоверность различий оценивали с помощью однофакторного дисперсионного анализа (One-way ANOVA).

Полученные результаты обработаны методами дескриптивной и непараметрической статистики с исполь-

мин, and then an RBC monolayer was prepared for further processing in the AFM field: 20 μ l of blood was placed onto a slide, and an RBC monolayer was prepared using a Diff Spin 2 centrifuge (USA).

An image of red blood cells was obtained using an NTEGRA Prima atomic force microscope (Russia) in a tapping mode. NSG01-A cantilevers were used as probes. The number of scanning points was 512 and 1024, the scanning fields were 100×100 μ m, 20×20 μ m. Data were statistically processed using a standard Origin 6.1 software, which is a part of the Microsoft Office software (USA) specially designed for processing of scientific research results. This software allows to make histograms, determine the mean and the standard deviation, and obtain an interval estimate, assess the significance of findings and the significance of differences. The significance of differences was assessed using single-factor analysis of variance (one-way ANOVA).

The obtained results were processed by methods of descriptive and non-parametric statistics using the Statistica 6.0 software package. The differences were considered significant when the level of statistical significance was $P < 0.01$.

Results and Discussion

Our previous studies have shown that 85% of flat RBC (planocytes) and 15% of transformed RBC circulate in the RUCB of newborn infants. This study demonstrated that the newborns had red blood cells whose characteristic did not comply with the accepted classification, i.e. there are intermediate forms of red blood cells associated with the peculiarities of intrauterine poikilocytosis. Since a high RBC count (intrauterine physiological erythrocytosis) and a high hemoglobin level (including fetal hemoglobin) are typical for newborns, planocytes in full-term newborns are a transient form. No dependence of the clinical state of newborns on the shape of red blood cells was found in this group of infants [14, 15].

The morphological forms of red blood cells in the RUCB of newborns with a severe PH are presented in Fig. 1. Discocytes and planocytes comprised 36% of the total RBC count, i.e. intrauterine poikilocytosis, reduced number of normal forms of RBC, was found, thus demonstrating an adverse effect of intrauterine hypoxia on the membrane of

зованием пакета программ «Statistica 6.0». Отличия считали достоверными при уровне статистической значимости $p < 0,01$.

Результаты и обсуждение

В наших предыдущих исследованиях показано, что в ОПК доношенных новорожденных циркулируют 85% эритроцитов плоской формы (паноциты) и 15% трансформированных эритроцитов. Проведенное исследование выявило наличие у новорожденных эритроцитов, которые по своим характеристикам не входят в общепринятую классификацию, т.е. определяются промежуточные формы эритроцитов, связанные с особенностями внутриутробного пойкилоцитоза. Учитывая, что для новорожденных характерно повышенное количество эритроцитов (внутриутробный физиологический эритроцитоз) и уровень гемоглобина, включающий фетальный гемоглобин, возможно, паноциты у доношенных новорожденных являются транзитной формой. В этой группе детей не выявлено зависимости клинического состояния новорожденных от формы эритроцитов [14, 15].

Морфологический состав эритроцитов в ОПК новорожденных, перенесших тяжелую ПГ представлен на рис. 1. Дискоциты и паноциты составляют 36% от общего количества эритроцитов, т.е. отмечается внутриутробный пойкилоцитоз, сниженное содержание нормальных форм эритроцитов, что свидетельствует о неблагоприятном воздействии внутриутробной гипоксии на мембрану эритроцитов. Стоматоцитоз и эхиноцитоз характерны для 80% новорожденных, родившихся с низкой оценкой по шкале Апгар. Так как при рождении новорожденные еще не получали никакого лечения, выявленный пойкилоцитоз являлся следствием ПГ, которая оказывала негативное влияние на мембрану эритроцитов, выраженность процесса зависела от длительности гипоксии.

Через 12 часов после рождения, на фоне проводимого лечения и ИВЛ, клеточный состав эритроцитов изменялся, увеличивался паноцитоз, снижался стоматоцитоз, т.е. под воздействием лечения и стабилизации кислородного статуса, морфологический состав эритроцитов стремился к нормализации (рис. 2).

К концу раннего неонатального периода (7-е сутки жизни) количество паноцитов оставалось стабильным, происходило дальнейшее уменьшение эхиноцитов, но у большинства новорожденных сохранялся стоматоцитоз, т.е. не происходило стабилизации мембран и нормализации морфологического состава эритроцитов (рис. 2). Стоматоцитоз сохранялся у доношенных новорожденных, перенесших ПГ, осложнившуюся неонатальной аспирацией меконием, сохраняющи-

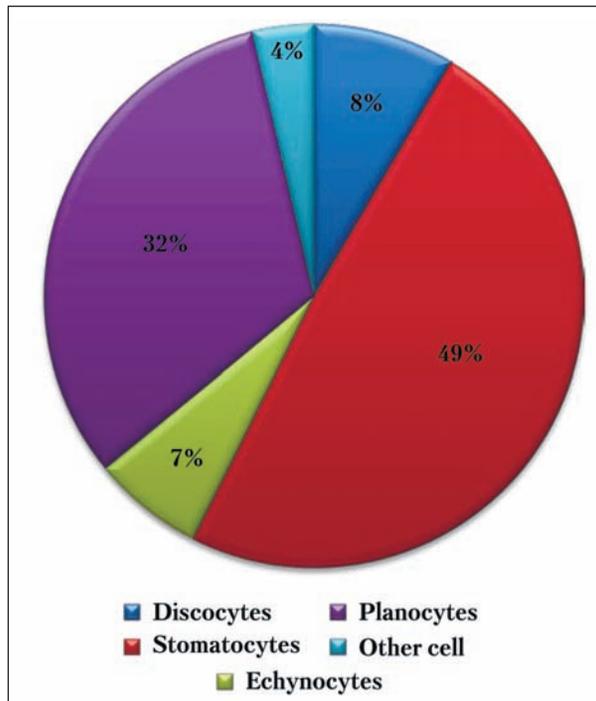


Рис. 1. Морфологические формы эритроцитов в остаточной пуповинной крови новорожденных, перенесших гипоксию.

Fig. 1. Morphological forms of red blood cells in the residual umbilical cord blood of newborns with hypoxia.

Примечание. Для рис. 1, 2: Discocytes — дискоциты; Stomatocytes — стоматоциты; Echinocytes — эхиноциты; Planocytes — паноциты; Other cell types — другие клетки.

RBC. Stomatocytosis and echinocytosis are typical for 80% of infants born with a low Apgar score. Since the newborns have not received any treatment yet, the detected poikilocytosis is a consequence of PH, which negatively affects the RBC membrane, and the severity of the process depends on the duration of hypoxia.

The cell composition of red blood cells changes 12 hours after birth due to the ongoing treatment and MV; planocytosis increases, stomatocytosis decreases, i.e. under the effect of the treatment and stabilization of the oxygen status, the morphological composition of red blood cells tends to normalization (Fig. 2).

By the end of the early neonatal period (Day 7 of life), the number of planocytes remained stable; further reduction in the echinocyte count takes place, but stomatocytosis persisted in most newborns, i.e. there was no membrane stabilization and normalization of red blood cell morphology (Fig. 2). Stomatocytosis persists in full-term newborns with PH complicated with neonatal meconium aspiration; the persistent changes in the red blood cell morphology demonstrate the severity of hypoxia (Fig. 3).

A study of heights and spatial periods of red blood cell membrane surfaces allow to obtain an individual quantitative estimation of the parameter for

Critical States in Newborns

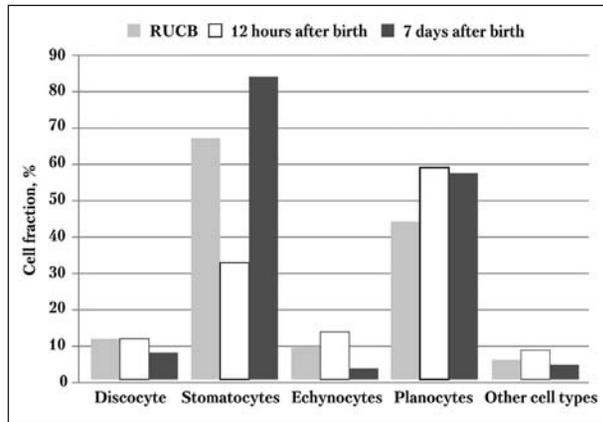


Рис. 2. Клеточный состав эритроцитов у новорожденных, перенесших гипоксию.

Fig. 2. Cellular composition of red blood cells in newborns with hypoxia.

Note. For Fig. 2, 4: RUCB — the residual umbilical cord blood.

Примечание. Cell fraction — клеточная фракция. Для рис. 2, 4: RUCB — остаточная пуповинная кровь; 12 hours after birth — 12 часов после рождения; days — суток.

еся изменения морфологии эритроцитов свидетельствовали о тяжести перенесенной гипоксии (рис. 3).

Изучение высот и пространственных периодов поверхности мембраны эритроцитов позволяет получить индивидуальную количественную оценку параметра для каждого новорожденного, перенесшего ПГ [17, 18]. При анализе наноструктуры мембраны эритроцитов здоровых новорожденных получены индивидуальные количественные характеристики высот и периодов порядков. Высота 1-го порядка (h_1) составляла $1,2 \pm 0,3$ нм, 2-го порядка (h_2) — $0,8 \pm 0,3$ нм, 3-го порядка (h_3) — $0,2 \pm 0,04$ нм, что принято в исследовании за исходные величины [14, 15].

Анализ наноструктуры мембран эритроцитов показал (рис. 4), что при рождении у новорожденных с ПГ наибольшим изменениям была подвержена высота первого порядка (h_1), отражающего мембранный фликеринг. Уже при рождении ее величина достоверно превышала аналогичный показатель у здоровых новорожденных ($p < 0,01$). Высота второго порядка (h_2) у детей с ПГ достоверно превышала этот показатель у здоровых новорожденных в 2 и более раза ($p < 0,01$), т.е. спектринный матрикс также изменялся под влиянием гипоксии. У 50% детей изменения спектринного матрикса сочетались с явлением фликеринга мембраны эритроцитов. Величина третьего порядка (h_3) была достоверно выше у новорожденных, перенесших ПГ, по сравнению со здоровыми новорожденными ($p < 0,01$), т.е. при рождении структурное состояние белков было не стабильным ($p > 0,05$). Перинатальная гипоксия вызывала антенатальное полное повреждение наноструктуры мембран эритроцитов.

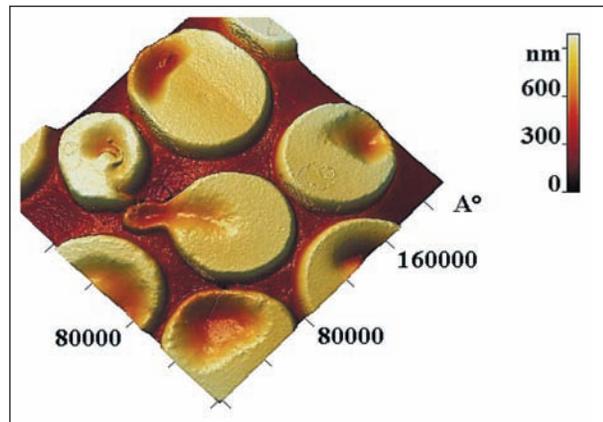


Рис. 3. Дакриоцит со стоматоцитами у новорожденного, перенесшего гипоксию. Изображение в поле АСМ, формат 3 D поле 100×100 мкм.

Fig. 3. Dacyrocyte with stomatocytes in a newborn with hypoxia. An image in the field of AFM, 3 D format, field 100×100 μm .

each newborn with PH [17, 18]. The analysis of the RBC membrane nanostructure in healthy infants permitted to obtain individual quantitative characteristics of heights and order periods. The 1-order height (h_1) was 1.2 ± 0.3 nm, the 2-order height (h_2) was 0.8 ± 0.3 nm, the 3-order height (h_3) was 0.2 ± 0.04 nm, and these values were taken as a baseline value in the study [14, 15].

The analysis of the red blood cell nanostructure has shown (Fig. 4) that most changes occur in the first-order height (h_1) at birth of newborns with PH, reflecting the membrane flickering: even at birth, its value significantly exceeded the same parameter of healthy infants ($P < 0.01$). The second-order height (h_2) in infants with PH was significantly higher ($P < 0.01$) than that of healthy newborns by more than twofold, i.e. the spectrin matrix had also changed under the effect of hypoxia. In 50% of children, changes of the spectrin matrix were combined with flickering of RBC membranes. The third-order value (h_3) was significantly higher in newborns with PH than that in healthy newborns ($P < 0,01$), i.e. the structural state of proteins at birth was instable ($P > 0.05$). Perinatal hypoxia causes an antenatal complete damage of the RBC membrane nanostructure.

The course of the early neonatal period was characterized by instability of RBC membranes, which became apparent in the form of persistent changes in the heights (membrane flickering); the spectrin matrix and the structural state of proteins were not stabilized.

Perinatal hypoxia triggers the identified changes in morphology and nanostructure of RBC membranes. Changes in the RBC morphology differ in newborn infants. For example, in infants with RDS, an unfavorable course of pregnancy complicated with intrauterine hypoxia affects the morphologi-

Течение раннего неонатального периода характеризовалось нестабильностью мембран эритроцитов, которое проявлялись сохраняющимися изменениями высот: мембранным фликкерингом, нестабильностью спектринного матрикса и структурного состояния белков.

Пусковым моментом выявленных изменений морфологии и наноструктуры мембран эритроцитов являлась перинатальная гипоксия. Изменения морфологии эритроцитов у новорожденных детей отличались. Так, у детей с РДСН неблагоприятное течение беременности, осложненное внутриутробной гипоксией, влияло на морфологическую структуру эритроцитов, вызывало функциональные изменения наноструктуры мембран. Это проявлялось у недоношенных новорожденных выраженным пойкилоцитозом, наибольшим изменениям была подвержена величина h_1 . Течение РДСН характеризовалось высокой интенсивностью этого процесса у каждого третьего ребенка вплоть до 7-х суток жизни. Спектринный матрикс мембран эритроцитов был изменен внутриутробно, но в дальнейшем величина h_2 постепенно снизилась. Структурное состояние белков (h_3) у недоношенных новорожденных с РДСН было стабильным [14].

У недоношенных новорожденных при неблагоприятно протекающей многоплодной беременности также происходило антенатальное повреждение наноструктуры мембран эритроцитов. Течение раннего периода адаптации характеризовалось сменой морфологических форм эритроцитов: планоцитоз сменялся стоматоцитозом, а также определялись другие формы, появление которых обусловлено процессами трансформации поверхности мембраны эритроцитов. Мембранный фликкеринг был наиболее выражен у второго ребенка из двойни, не зависимо от хориальности плаценты, второго и третьего ребенка из тройни, причем величина показателя увеличивалась от первого к третьему. Коллизия близнецов сопровождалась мембранным фликкерингом высокой интенсивности у обоих детей и высоким стоматоцитозом [15].

Уже внутриутробно происходило нарушение наноструктуры мембран на всех уровнях. Выявленные изменения свидетельствуют о влиянии степени гипоксии на все наноструктуры мембраны эритроцита: фосфолипидный бислой, белковые компоненты мембраны, спектринный матрикс. Изменение высот поверхности мембраны эритроцитов h_1 и h_3 , связанное с гипоксией, по-видимому, направлено на увеличение поверхности мембраны эритроцита, способствующее увеличению площади газообмена. Данные изменения, по-видимому, являются приспособительной реакцией, направленной на сохранение функциональной способности эритроцита при гипоксии. Гипо-

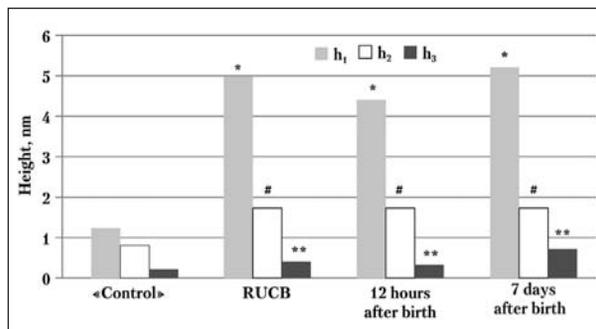


Рис. 4. Гистограммы высот h_1 , h_2 , h_3 поверхности мембраны эритроцитов в различные периоды исследования.

Fig. 4 Histograms of heights h_1 , h_2 , h_3 of red blood cell membranes during various periods of the study.

Note. *, #, ** – $P < 0.01$ vs. «Control» – RUCB group 2.

Примечание. «Control» – остаточная пуповинная кровь группы 2. Height, nm – высота, нм. *, #, ** – $p < 0,01$, достоверность отличий, по сравнению с контролем (остаточная пуповинная кровь группы 2).

cal structure of RBC, causes functional changes in the membrane nanostructure which manifest themselves as severe poikilocytosis in premature newborns. The h_1 value underwent the greatest changes; the course of RDS was characterized by a high intensity of this process in every third child up to Day 7 of life. The spectrin matrix of RBC membranes changed in utero, but then the h_2 value decreased gradually. The structural state of proteins (h_3) in premature newborns with RDS was stable [14]. Antenatal impairment of RBC membrane nanostructure occurs in premature newborns during a multiple pregnancy with an adverse course. The course of the early adaptation period is characterized by changes of RBC morphological forms: planocytosis is replaced by stomatocytosis and other forms resulting from an active process on the RBC membrane. The membrane flickering is most pronounced in the second twin irrespective of the placental chorionicity and in the second and third triplets; at that, the value is increased from the first to the third one. Twins collision is accompanied by a high intensity membrane flickering in both children and high stomatocytosis [15].

Impairment of membrane nanostructure at all levels occur already in utero. These changes confirmed the effect of the hypoxia degree on all nanostructures of RBC membranes: phospholipid bilayer, protein elements of the membrane, spectrin matrix. Changes in heights and spatial periods of the RBC membrane surfaces h_1 and h_3 associated with hypoxia apparently are aimed at a compensatory increase in the RBC membrane surface contributing to the increase of the gas exchange area. These changes may represent an adaptive response to hypoxia aimed to preserve the functional ability of a RBC. Hypoxia negatively affects the membrane of RBC, and the severity of the process depends on the severity and duration of hypoxemia. The course of and early adap-

ксия оказывала негативное влияние на мембрану эритроцитов. Выраженность процесса зависела от тяжести и длительности гипоксемии. Течение раннего периода адаптации (постгипоксический период) характеризовалось нестабильностью всех исследованных элементов наноструктуры мембраны эритроцитов, большой вариабельностью морфологических форм. Последствие перинатального воздействия гипоксии на мембрану эритроцитов сохранялось в течение определенного времени и выходило за рамки раннего неонатального периода.

Новорожденные очень чувствительны к гипоксии и оксидативному стрессу, которые оказывают негативное влияние на пациентов в критическом состоянии, вызывая повреждение органов и систем [11]. Для более глубокого понимания патогенеза перинатальной гипоксии и прогнозирования течения постгипоксического периода особое внимание уделяется изучению мембран эритроцитов [10, 12]. У новорожденных с полиорганной недостаточностью снижено количество дискоцитов, увеличено количество эритроцитов с измененной формой. У новорожденных с полиорганной недостаточностью (ПОН) наиболее часто встречающимися аномалиями формы эритроцитов являются эхиноциты, овалциты, сфероциты, шистоциты. Появление в периферической крови эритроцитов с измененной формой может быть обусловлено различными факторами, в том числе воздействием на эритроцитарную мембрану оксидативного стресса [19]. Для новорожденных от матерей с тяжелыми формами гестоза, характерна тенденция к низким показателям текучести эритроцитарных мембран, отсутствие адаптивной динамики биофизического состояния мембран в раннем неонатальном периоде, что сочетается с более тяжелым клиническим течением данного периода [20].

Заключение

При воздействии ПГ нарушение наноструктуры мембран происходит уже внутриутробно. Уровень повреждения зависит от тяжести и длительности гипоксии. Выявленные изменения свидетельствуют о влиянии степени гипоксии на все наноструктуры мембраны эритроцита: фосфолипидный бислой, белковые компоненты мембраны, спектринный матрикс. Изменение высот и пространственных периодов поверхностей мембран эритроцитов h_1 и h_3 , связанных с гипоксией, по-видимому, направлено на компенсаторное увеличение поверхности мембраны эритроцита, способствующее увеличению площади газообмена. Данные изменения, вероятно, являются приспособительной реакцией в ответ на гипоксию, направленной на сохранение функциональной способности эритроцита.

период (post-hypoxic period) is characterized by the instability of all nanostructures of RBC membranes and a greater variability of morphological forms. Effects of perinatal hypoxia on red blood cell membrane persist for some time and go beyond the early neonatal period.

Newborns are very sensitive to hypoxia and oxidative stress, which have a negative impact on critical illness patients, causing damage of organs and systems [11]. Special attention is paid to studies of RBC membranes for a better understanding of the pathogenesis of the perinatal hypoxia and prognosis during the course of the post-hypoxic period [10, 12]. In infants with a multiple organ failure (MOF), the number of discocytes reduced and the number of RBC with modified shapes increased. In infants with MOF, the echinocytes, ovalocytes, spherocytes, and schistocytes are the most common forms of RBC shape abnormalities. The presence of RBC with modified shapes in the peripheral blood may be explained by different factors, including the effect of the oxidative stress on the RBC membrane [19]. A tendency to lowering the fluidity of RBC membrane, lacking the adaptive dynamics of the biophysical patterns of membranes in early neonatal period is typical for infants born from mothers who experienced severe forms of pre-eclampsia and eclampsia; this feature is associated with a more severe clinical course of this form of pathology of pregnancy [20].

Conclusion

Therefore, hypoxia results in impairment of the membrane nanostructure. The degree of the alterations depends on the severity and duration of hypoxia. These changes confirmed the effect of the hypoxia degree on all nanostructures of RBC membranes: phospholipid bilayer, protein elements of the membrane, spectrin matrix. Changes in heights and spatial periods of the red blood cell membrane surfaces h_1 and h_3 associated with hypoxia apparently is aimed at a compensatory increase in the RBC membrane surface contributing to the increase of the gas exchange area. These changes may represent an adaptive response to hypoxia aimed to preserve the functional ability of an RBC.

The course of early adaptation period (post-hypoxic period) is characterized by the instability of all nanostructures of RBC membranes and a greater variability of morphological forms. Effects of perinatal hypoxia on RBC membrane persist for some time and go beyond the early neonatal period that should be considered in clinics.

Течение раннего периода адаптации (постгипоксический период) характеризуется нестабильностью всех наноструктур мембран эритроцитов,

большой вариабельностью морфологических форм. Последствия перинатального воздействия гипоксии на мембрану эритроцитов сохраняются

в течение определенного времени, и выходят за рамки раннего неонатального периода, что необходимо учитывать в практической работе.

Литература

1. Muraoka M., Takagi K., Morita Y., Nagano H., Henmi N., Hasegawa H. Is the neonatal creatine phosphokinase level a reliable marker for fetal hypoxia? *J. Obstet. Gynaecol. Res.* 2017; 43 (1): 114–121. <http://dx.doi.org/10.1111/jog.13176>. PMID: 27862683
2. El Bana S.M., Maher S.E., Gaber A.F., Aly S.S. Serum and urinary malondialdehyde (MDA), uric acid, and protein as markers of perinatal asphyxia. *Electron. Physician.* 2016; 8 (7): 2614–2619. <http://dx.doi.org/10.19082/2614>. PMID: 27648187
3. Перепелица С.А., Голубев А.М., Мороз В.В., Алексеева С.В. Причины острой интранатальной и постнатальной гипоксии у новорожденных. *Общая реаниматология.* 2012; (8) 6: 17–22. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2012-6-17>
4. Steiner L.A., Gallagher P.G. Erythrocyte disorders in the perinatal period. *Semin. Perinatol.* 2007; 31 (4): 254–261. <http://dx.doi.org/10.1053/j.semperi.2007.05.003>. PMID: 17825683
5. Oliveira S., Saldanha C. An overview about erythrocyte membrane. *Clin. Hemorheol. Microcirc.* 2010; 44 (1): 63–74. <http://dx.doi.org/10.3233/CH-2010-1253>. PMID: 20134094
6. Сергунова В.А., Козлова Е.К., Мяжкова Е.А., Черныш А.М. Измерение упруго-эластических свойств мембраны нативных эритроцитов *in vitro*. *Общая реаниматология.* 2015; 11 (3): 39–44. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2015-3-39-44>
7. Карташова Н.М., Кидалов В.Н., Наумова Э.М., Цогоев А.С. К вопросу о физиологической значимости изменения формы, ультраструктуры и флуоресценции эритроцитов периферической крови при их трансформации в стоматоциты. *Вестн. новых мед. технологий.* 2005; 12 (1): 8–11.
8. Кидалов В.Н., Сясин Н.И., Хадартцев А.А. К вопросу о физиологической значимости изменений формы, ультраструктуры и флуоресценции эритроцитов периферической крови, трансформирующихся в эхиноциты. *Вестн. новых мед. технологий.* 2005; 12 (2): 6–9.
9. Мороз В.В., Голубев А.М., Афанасьев А.В., Кузовлев А.Н., Сергунова В.А., Гудкова О.Е., Черныш А.М. Строение и функция эритроцита в норме и при критических состояниях. *Общая реаниматология.* 2012; 8 (1): 52–60. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2012-1-52>
10. Perrone S., Tataranno M.L., Stazzoni G., Del Vecchio A., Buonocore G. Oxidative injury in neonatal erythrocytes. *J. Matern. Fetal. Neonatal. Med.* 2012; 25 (Suppl 5): 104–108. <http://dx.doi.org/10.3109/14767058.2012.715471>. PMID: 23025782
11. Boskabadi H., Zakerhamidi M., Sadeghian M.H., Avani A., Ghayour-Mobarhan M., Ferns G.A. Nucleated red blood cells count as a prognostic biomarker in predicting the complications of asphyxia in neonates. *J. Matern. Fetal. Neonatal. Med.* 2016; 24: 1–6. <http://dx.doi.org/10.1080/14767058.2016.1256988>. PMID: 27809621
12. Перепелица С.А., Сергунова В.А., Алексеева С.В., Гудкова О.Е. Морфология эритроцитов при изоиммунизации новорожденных по резус-фактору и аво-системе. *Общая реаниматология.* 2015; 11 (2): 25–34. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2015-2-25-34>
13. Софронов В.В., Тугаева Н.О., Анисимова Т.Е., Сигбатуллин Т.А., Мишагина Е.А., Зиятдинова Г.К., Анисимов А.В., Любин С.А. Изменения проницаемости мембран эритроцитов у новорожденных, перенесших внутриутробную гипоксию. *Казанский мед. журнал.* 2010; 91 (1): 62–64.
14. Перепелица С.А., Сергунова В.А., Гудкова О.Е., Алексеева С.В. Nano-структура мембран эритроцитов недоношенных новорожденных с респираторным дистресс-синдромом. *Общая реаниматология.* 2013; 9 (6): 11–23. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-6-11>
15. Перепелица С.А., Сергунова В.А., Гудкова О.Е., Алексеева С.В. Особенности мембран эритроцитов недоношенных новорожденных при многоплодной беременности. *Общая реаниматология.* 2014; 10 (1): 12–18. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2014-1-12-18>
16. Володин Н.Н. (ред.). Неонатология. Национальное руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2008: 749.
17. Kozlova E.K., Chernysh A.M., Moroz V.V., Kuzovlev A.N. Analysis of nanostructure of red blood cells membranes by space Fourier transform of AFM images. *Micron.* 2013; 44: 218–227. <http://dx.doi.org/10.1016/j.micron.2012.06.012>. PMID: 22854216
18. Kozlova E., Chernysh A., Moroz V., Gudkova O., Sergunova V., Kuzovlev A. Transformation of membrane nanosurface of red blood cells under hemin action. *Sci. Rep.* 2014; 4: 6033. <http://dx.doi.org/10.1038/srep06033>. PMID: 25112597
19. Серебрякова Е.Н., Волосников Д.К., Симакова Н.В. Морфология эритроцитов и показатели перекисного окисления липидов в плазме у новорожденных с синдромом полиорганной недостаточности. *Педиатрия.* 2012; 91 (1): 25–31.
20. Манчук В.Т., Шубина М.В., Даваа Я.Х., Терещенко С.Ю. Состояние эритроцитарных мембран у новорожденных от матерей с гестозами. *Рос. вестн. перинатол. и педиатрии.* 2014; 59 (5): 45–46.

Поступила 19.02.17

References

1. Muraoka M., Takagi K., Morita Y., Nagano H., Henmi N., Hasegawa H. Is the neonatal creatine phosphokinase level a reliable marker for fetal hypoxia? *J. Obstet. Gynaecol. Res.* 2017; 43 (1): 114–121. <http://dx.doi.org/10.1111/jog.13176>. PMID: 27862683
2. El Bana S.M., Maher S.E., Gaber A.F., Aly S.S. Serum and urinary malondialdehyde (MDA), uric acid, and protein as markers of perinatal asphyxia. *Electron. Physician.* 2016; 8 (7): 2614–2619. <http://dx.doi.org/10.19082/2614>. PMID: 27648187
3. Perepelitsa S.A., Golubev A.M., Moroz V.V., Alekseyeva S.V. Causes of acute intranatal and postnatal hypoxia in neonatal infants. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatologiya.* 2012; 8 (6): 17–22. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2012-6-17>. [In Russ., In Engl.]
4. Steiner L.A., Gallagher P.G. Erythrocyte disorders in the perinatal period. *Semin. Perinatol.* 2007; 31 (4): 254–261. <http://dx.doi.org/10.1053/j.semperi.2007.05.003>. PMID: 17825683
5. Oliveira S., Saldanha C. An overview about erythrocyte membrane. *Clin. Hemorheol. Microcirc.* 2010; 44 (1): 63–74. <http://dx.doi.org/10.3233/CH-2010-1253>. PMID: 20134094
6. Sergunova V.A., Kozlova E.K., Myagkova E.A., Chernysh A.M. *In vitro* measurement of the elastic properties of the native red blood cell membrane. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatologiya.* 2015; 11 (3): 39–44. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2015-3-39-44>
7. Kartashova N.M., Kidalov V.N., Naumova E.M., Tsogoev A.S. On the question concerning the physiological significance of changes of the form, ultrastructure and fluorescence of erythrocytes of peripheral blood during their transformation into stomatocytes. *Vestnik Novykh Meditsinskikh Tekhnologii.* 2005; 12 (1): 8–11. [In Russ.]
8. Kidalov V.N., Syasin N.I., Khadartsev A.A. On the question concerning the physiological significance of changes of the form, ultrastructure and fluorescence of erythrocytes of peripheral blood during their transformation into echinocytes. *Vestnik Novykh Meditsinskikh Tekhnologii.* 2005; 12 (2): 6–9. [In Russ.]
9. Moroz V.V., Golubev A.M., Afanasyev A.V., Kuzovlev A.N., Sergunova V.A., Gudkova O.E., Chernysh A.M. The structure and function of a red blood cell in health and critical conditions. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatologiya.* 2012; 8 (1): 52–60. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2012-1-52>. [In Russ., In Engl.]
10. Perrone S., Tataranno M.L., Stazzoni G., Del Vecchio A., Buonocore G. Oxidative injury in neonatal erythrocytes. *J. Matern. Fetal. Neonatal. Med.* 2012; 25 (Suppl 5): 104–108. <http://dx.doi.org/10.3109/14767058.2012.715471>. PMID: 23025782
11. Boskabadi H., Zakerhamidi M., Sadeghian M.H., Avani A., Ghayour-Mobarhan M., Ferns G.A. Nucleated red blood cells count as a prognostic biomarker in predicting the complications of asphyxia in neonates. *J. Matern. Fetal. Neonatal. Med.* 2016; 24: 1–6. <http://dx.doi.org/10.1080/14767058.2016.1256988>. PMID: 27809621
12. Perepelitsa S.A., Sergunova V.A., Alekseyeva S.V., Gudkova O.E. Erythrocyte morphology in neonatal rhesus factor and abo isoimmunization. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatologiya.* 2015; 11 (2): 25–34. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2015-2-25-34>. [In Russ., In Engl.]
13. Sofronov V.V., Tugaeva N.O., Anisimova T.E., Sigbatullin T.A., Mishagina E.A., Ziyatdinova G.K., Anisimov A.V., Lyubin S.A. Changes in the permeability of erythrocyte membranes in neonates which underwent intrauterine hypoxia. *Kazansky Meditsinsky Zhurnal.* 2010; 91 (1): 62–64. [In Russ.]
14. Perepelitsa S.A., Sergunova V.A., Gudkova O.E., Alekseyeva S.V. Nanostructure of red blood cell membranes in premature neonates with respiratory distress syndrome. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatologiya.* 2013; 9 (6): 11–23. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-6-11>. [In Russ., In Engl.]
15. Perepelitsa S.A., Sergunova V.A., Gudkova O.E., Alekseyeva S.V. The specific features of red blood cell membranes in premature neonates due to multiple pregnancy. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatologiya.* 2014; 10 (1): 12–18. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2014-1-12-18>. [In Russ., In Engl.]
16. Volodin N.N. (red.). Neonatology. National guide. Moscow: GEOTAR-Media; 2008: 749. [In Russ.]
17. Kozlova E.K., Chernysh A.M., Moroz V.V., Kuzovlev A.N. Analysis of nanostructure of red blood cells membranes by space Fourier transform of AFM images. *Micron.* 2013; 44: 218–227. <http://dx.doi.org/10.1016/j.micron.2012.06.012>. PMID: 22854216
18. Kozlova E., Chernysh A., Moroz V., Gudkova O., Sergunova V., Kuzovlev A. Transformation of membrane nanosurface of red blood cells under hemin action. *Sci. Rep.* 2014; 4: 6033. <http://dx.doi.org/10.1038/srep06033>. PMID: 25112597
19. Serebryakova E.N., Volosnikov D.K., Simakova N.V. Morphology of erythrocytes and indices of lipid peroxidation in plasma in newborns with multi-organ insufficiency syndrome. *Pediatrya.* 2012; 91 (1): 25–31. [In Russ.]
20. Manchuk V.T., Shubina M.V., Davaa Ya.Kh., Tereshchenko S.Yu. The state of erythrocyte membranes in newborn infants born to mothers with gestosis. *Rossiyskiy Vestnik Perinatologii i Peditrii.* 2014; 59 (5): 45–46. [In Russ.]

Received 19.02.17

Влияние этилметилгидроксипиридина сукцината на динамику паттернов мозгового кровотока у пострадавших в остром периоде сочетанной черепно-мозговой травмы

Е. А. Абрамова¹, О. В. Военнов², Г. А. Бояринов², А. О. Трофимов^{1,2}

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

² Нижегородская государственная медицинская академия Минздрава России, Россия, 603950, ГСП-470, г. Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, д. 10/1

The Effect of Ethylmethylhydroxypyridine Succinate on the Dynamics of Cerebral Blood Flow Patterns in Patients with Acute Concomitant Traumatic Brain Injury

Ekaterina A. Abramova¹, Oleg V. Voennov², Gennady A. Boyarinov², Alexey O. Trofimov^{1,2}

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

² Nizhny Novgorod State Medical Academy, Ministry of Health of Russia, 10/1 Minin and Pozharsky Sq., Nizhny Novgorod GSP-470, 603950, Russia

Цель исследования: изучить влияние инфузии этилметилгидроксипиридина сукцината (ЭМГПС) на динамику паттернов мозгового кровотока у пострадавших в остром периоде тяжелой сочетанной черепно-мозговой травмы.

Материалы и методы исследования. Обследовали 2 группы больных по 25 человек в каждой с тяжелой сочетанной ЧМТ. Средний возраст составил 41,5 (29; 51) лет. Больным в 1-й группе (контрольной) проводили стандартную интенсивную терапию, а во 2-й группе (исследуемой) дополнительно к стандартному лечению проводили инфузию ЭМГПС в дозе 100 мг/час через инфузомат на протяжении 10 суток. Методикой транскраниальной доплерографии (ТДГ) изучали показатели церебральной макроциркуляции (ПЦМ): систолическую скорость кровотока (V_{max}), диастолическую скорость кровотока (V_{min}), пульсационный индекс (PI) и индекс сопротивления (RI).

Результаты исследования. В обеих группах наиболее частым видом нарушения мозгового кровотока (МК) при первичном исследовании был паттерн затрудненной перфузии: 15 и 16 случаев в 1-й и 2-й группах, соответственно. В 1-й группе в 4, а во 2-й в 3 случаях отмечали наличие мягкого ангиоспазма, а в 2 случаях в каждой группе отмечали признаки грубого ангиоспазма. У 2 больных в каждой группе отмечали паттерны гипоперфузии и гиперперфузии. У пациентов в 1-й группе на 3-е сутки исследования нормализация ПЦМ наблюдалась в 6, на 5-е сутки — в 8, на 7-е сутки — в 12, на 10 сутки — в 18 случаев, в то время, как у пациентов во 2-й группе на 3-е сутки нормализация ПЦМ наблюдалась в 12, на 5-е сутки — в 15, на 7-е сутки — в 16, на 10-е сутки — в 20 случаях.

Заключение. Чаще всего при первичном обследовании выявлялись паттерны затрудненной перфузии и ангиоспазма, которые трансформировались в паттерн нормоперфузии через стадию гиперперфузии (реактивной гиперемии). Инфузия ЭМГПС в дозе 100 мг в час способствует нормализации параметров ПЦМ уже к 3–5 суткам.

Ключевые слова: черепно-мозговая травма; церебральная макроциркуляция; паттерны мозгового кровотока; этилметилгидроксипиридина сукцинат

The purpose of the investigation was to study the effect of the ethylmethylhydroxypyridine succinate (EMHPS) infusion on the dynamics of cerebral blood flow patterns in patients during the acute phase of severe concomitant traumatic brain injury.

Materials and methods. The study involved two groups of patients, each of 25 persons aged 41.5 (29; 51) years on average, with a severe concomitant traumatic brain injury. The patients of the 1st (control) group were cured with a standard intensive care while in the 2nd (study) group the EMHPS infusion was added to the said standard treatment in a dose of 100 mg per hour through an infusion pump within 10 days. By transcranial dopplerography (TDG) testing the following cerebral macrocirculation parameters (CMP) were studied: systolic blood flow velocity (V_{max}), diastolic blood flow velocity (V_{min}), pulsation index (PI) and resistance index (RI).

Адрес для корреспонденции:

Олег Военнов
E-mail: ovoennov@yandex.ru

Correspondence to:

Oleg Voennov
E-mail: ovoennov@yandex.ru

Results. The most frequent type of the cerebral blood flow (CBF) disorder noted in the both groups during the initial examination was a hindered perfusion pattern noticed in 15 and 16 patients from 1st and 2nd groups, respectively. Mild vasospasm was recorded in four patients in the 1st group and in three cases in the 2nd group. Signs of gross vasospasm were noted in two patients from each group. In two patients of each group patterns of hypoperfusion and hyperperfusion were noted. In the patients of the 1st group the CMP normalization was observed in six cases on the third day, in eight cases on the fifth day, in 12 cases on the seventh day, in 18 cases on the 10th day, while in the patients of the 2nd group the CMP normalization was observed on the 3rd day in 12 cases, on the 5th day in 15 cases, on the 7th day in 16 cases and on the 10th day in 20 cases.

Conclusion. The most common patterns identified during the initial examination included hindered perfusion and vasospasm, which were transformed into a normoperfusion pattern through the hyperperfusion stage (reactive hyperemia). The EMHPS infusion in a dose of 100 mg per hour usually aids to normalize parameters within 3–5 days.

Key words: *traumatic brain injury; cerebral macrocirculation; cerebral blood flow patterns; ethylmethylhydroxypyridine succinate*

DOI:10.15360/1813-9779-2017-2-24-31

Введение

Изучение механизмов защиты головного мозга при его повреждениях различного генеза является актуальной проблемой реаниматологии [1, 2]. Актуальность вопросов, связанных с лечением пострадавших с черепно-мозговой травмой (ЧМТ) неоспорима [3, 4]. Одним из важнейших направлений интенсивной терапии пострадавших с ЧМТ является профилактика вторичного ишемического повреждения головного мозга [5, 6]. Мишенью для лечебного воздействия с целью профилактики и лечения является «penumbra» — ишемическая полутень, или зона обратимых нарушений функций мозга вокруг его первичного повреждения [7, 8].

При нормализации кровотока в этой зоне восстанавливается церебральный метаболизм с восстановлением утраченных церебральных функций. В противном случае происходит дальнейшее снижение мозгового кровотока, и возникают необратимые морфологические изменения мозговой ткани с развитием инфаркта мозга [9, 10].

Транскраниальная доплерография (ТДГ) является общепризнанной методикой оценки мозговой гемодинамики путем ультразвуковой локации магистральных артерий мозга. С помощью этой методики возможна оценка «церебральной макроциркуляции», под которой подразумевается кровоток в магистральных сосудах мозга. Определение линейной скорости кровотока (ЛСК) по магистральным артериям, пульсационного индекса и индекса сопротивления позволяет оценить нарушения сосудистого тонуса церебральных артерий. Наряду с нормоперфузией выделяют несколько типов нарушения церебральной перфузии: гипоперфузия, гиперперфузия, ангиоспазм, затрудненная перфузия [12–14].

Динамика паттернов мозгового кровотока у пострадавших с ЧМТ под влиянием инфузий ЭМГПС в зависимости от исходного паттерна мозгового кровотока не изучена [14–17].

В этой связи изучение влияния инфузий ЭМГПС в дозе 100 мг/час в течение 10 суток у по-

Introduction

Studies of the mechanisms of brain damage protection of various genesis remains to be an urgent problem of reanimatology [1, 2]. The urgency of the issues related to the treatment of patients with traumatic brain injury (TBI) is beyond doubt [3, 4]. One of the most important aspects in the intensive care of TBI patients is the prevention of secondary ischemic brain injury [5, 6]. The target for therapeutic preventive and curative actions is the ischemic penumbra or the area of reversible disorders of brain functions around a primary cerebral damage [7, 8].

If the blood flow is normalized in this area, the cerebral metabolism and lost cerebral functions should be restored. Otherwise, further reduction of the cerebral blood flow occurs and irreversible morphological changes in brain tissue happen followed by the development of cerebral infarction [9, 10].

Transcranial Doppler (TDG) examination is a generally recognized method to assess cerebral hemodynamics by ultrasonic location of the main cerebral arteries. By using this method it is possible to assess the «cerebral macrocirculation», that implies the blood flow in major cerebral vessels. The determination of the linear blood flow rate (LBFR) in the main arteries, the pulsation index and resistance index enables the assessment of disorders in the vascular tone of cerebral arteries. Along with normoperfusion the following types of cerebral perfusion disorders are singled out: hypoperfusion, hyperperfusion, vasospasm, hindered perfusion [12–14].

The dynamics of cerebral blood flow patterns in TBI patients under effect of the EMHPS infusion depending on the initial cerebral blood flow pattern has not been studied yet [14–17].

In this connection, the study of the effect of EMHPS infusions at a dose of 100 mg per hour within 10 days on patterns of the linear blood flow rate in concomitant TBI patients is of practical interest.

The Purpose of the Study was to assess the efficiency of long-term EMHPS infusions on the

страдавших с сочетанной ЧМТ на показатели линейной скорости кровотока представляет практический интерес.

Цель исследования — изучить влияние инфузии этилетилгидроксипиридинасукцината (ЭМГПС) на динамику паттернов мозгового кровотока у пострадавших в остром периоде тяжелой сочетанной ЧМТ.

Материал и методы

1.1. Методика формирования контингента больных. В исследование было включено 50 больных с тяжелой сочетанной ЧМТ с повреждениями головы, длинных трубчатых костей, органов брюшной полости. Больные были госпитализированы в стационар с места дорожно-транспортного происшествия (ДТП) или переведены из центральных районных больниц (ЦРБ) Нижегородской области. Давность с момента травмы не более 3 суток. При поступлении в стационар и отделение реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) Нижегородского регионального травматологического центра (НРТЦ) больные обследовались согласно стандартам, и проводилась стандартная интенсивная терапия с целью стабилизации состояния больных. После выведения пациентов из травматического или геморрагического шока пациенты были разделены на 2 группы.

Больным 1-й группы (контрольная, 25 человек) проводили стандартное лечение, включающее в себя обезболивание и седацию, респираторную и циркуляторную поддержку по показаниям, антибактериальную терапию, инфузионно-трансфузионную терапию с целью коррекции водно-электролитного баланса, кислородной емкости крови, онкотического давления и профилактики синдрома ДВС, энтеральное и парентеральное питание, профилактику стресс-язв, коррекцию внутричерепного давления (ВЧД).

Больным 2-й группы (исследуемая, 25 человек) дополнительно к стандартному лечению начинали инфузию ЭМГПС в дозе 100 мг/час через инфузомат.

На 3, 5, 7, 10-е сутки оценивали динамику показателей мозгового кровотока методом транскраниальной доплерографии (ТДГ).

1.2. Клиническая характеристика больных. В исследование включили 50 пациентов в возрасте от 21 года до 60 лет. Средний возраст составил 41,5 (29; 51) лет. Из них — 19 женщин и 31 мужчин.

Критерии включения в исследование: возраст от 21 до 60 лет, ЧМТ средней и тяжелой степени (депрессия сознания 4–13 баллов по шкале ком Глазго — ШКГ), сочетанной с внечерепными повреждениями длинных трубчатых костей и/или органов грудной и брюшной полости, необходимость в проведении лечения в отделении реанимации, согласие пациента или его законных представителей на назначение ЭМГПС.

Критерии исключения: наличие терминального состояния (менее 4 баллов по ШКГ), одновременное использование других нейротропных препаратов, влияющих на тонус сосудов головного мозга, сахарный диабет, индивидуальная непереносимость препарата, необходимость в проведении экстренного нейрохирургического вмешательства.

dynamics of cerebral blood flow patterns in patients with severe concomitant TBI.

Materials and Methods

1.1. Patient Population Formation Methods. The study involved 50 patients with severe concomitant traumatic brain injury combined with head, long bones and abdominal organs injuries. The said patients were admitted to the Inpatient Department directly from road traffic accident (RTA) sites or transferred from central district hospitals (CDH) of the Nizhny Novgorod region. The time from their injury did not exceed 3 days. At the admission to the Inpatient Department and the Resuscitation and Intensive Care Unit (RICU) of the Nizhny Novgorod Regional Traumatology Center (NRTTS) the patients were examined under the standard procedure and the general intensive care was carried out to stabilize their condition. Upon the resuscitation of patients from a traumatic or hemorrhagic shock they were divided into 2 groups.

The patients of the 1st (control) group of 25 persons were under standard treatment including analgesia and sedation, respiratory and circulatory support as per indications, antibiotics, infusion-transfusion therapy to correct the water and electrolyte balance, arterial oxygen content, oncotic pressure and the prevention of disseminated intravascular coagulation syndrome, the enteral and parenteral nutrition, the prevention of stress ulcers and the correction of intracranial pressure (ICP).

For patients of the 2nd (study) group of 25 persons an EMHPS infusion was added to the said standard treatment in a dose of 100 mg per hour through an infusion pump.

The dynamics of the cerebral blood flow patterns were assessed on the 3rd, 5th, 7th, 10th days by using transcranial dopplerography (TDG) method.

1.2. The Clinical Description of Patients. The study involved 50 patients aged 21 to 60 years. The average age was 41.5 (29; 51) years. There were 19 female and 31 male patients.

The entry criteria were as follows: age between 21 and 60 years, a moderate and severe TBI combined with extracranial damage of long bones and/or thoracic and abdominal organs (with the consciousness depression to be 4–13 points according to the Glasgow Coma Scale — GCS), the need of treatment in the resuscitation unit, the consent of a patient or such a patient's legal representatives for a EMHPS prescription.

The criteria for exclusion were as follows: the terminal condition (lower 4 points of the GCS), the simultaneous use of other neurotropic agents affecting the cerebral vascular tone, diabetes mellitus, intolerance to the drug, the need for urgent neurosurgery intervention.

In the group 1 (control) on admission the severe condition was stated in 18 patients whereas 17 patients were classified as very grave. In the studied group 2 the grave condition was diagnosed in 16 patients and the very grave condition was stated in 9 patients. Patients at a very grave condition experienced consciousness depression, the clinical evidence of traumatic and hemorrhagic shock and possesses indications for the mechanical pulmonary ventilation (APV). On admission, the patients in both groups were comparable by age, gender and severity of the disease (Table 1).

1.3. Transcranial Doppler Sonography Procedure. Transcranial Doppler sonography was performed by using a

Таблица 1. Характеристика больных в группах.
Table 1. Characteristics of Patients in Groups.

| Indexes | Number of patients in groups | |
|---|------------------------------|-----------------|
| | 1 st | 2 nd |
| Male | 15 | 16 |
| Female | 10 | 9 |
| Grave condition | 18 | 19 |
| Very grave condition | 7 | 6 |
| Isolated TBI | 5 | 5 |
| Concomitant TBI with skeletal trauma | 3 | 2 |
| Concomitant TBI with skeletal trauma and thoracic and/or abdominal injury | 17 | 18 |
| Consciousness level of 11–13 GCS points | 14 | 15 |
| Consciousness level of 8–10 GCS points | 8 | 8 |
| Consciousness level of 4–7 GCS points | 3 | 2 |
| Condition severity acc. to APACHE-2, Me (P ₂₅ ; P ₇₅). | 22 (18; 24) | 23 (19; 25) |

Примечание. Indexes – показатели (также для табл. 2); Male – мужчин; Female – женщин; Grave condition – тяжелое состояние; Very grave condition – крайне-тяжелое состояние; Isolated TBI – изолированная ЧМТ; Concomitant TBI with skeletal trauma – сочетанная ЧМТ только со скелетной травмой; Concomitant TBI with skeletal trauma and thoracic and/or abdominal injury – сочетанная ЧМТ со скелетной травмой и повреждением органов грудной клетки и/или живота; Consciousness level of ... GCS points – уровень сознания ... баллов по ШКГ; Condition severity acc. to – тяжесть состояния по шкале.

Для табл. 1, 2 и рис.: Number of patients in groups – число больных в группах.

Среди больных контрольной (1-й) группы при поступлении в стационар у 18 пациентов состояние расценивалось как тяжелое, у 17 пациентов крайне-тяжелое. Среди пациентов исследуемой (2-й) группы тяжелое состояние было у 16 больных, крайне-тяжелое – у 9 больных. У пациентов в крайне-тяжелом состоянии отмечали депрессию сознания, клинику травматического или геморрагического шока, показания для проведения искусственной вентиляции легких (ИВЛ). По возрасту, половому составу, тяжести состояния при поступлении в стационар пациенты обеих групп были сопоставимы между собой (табл. 1).

1.3. Методика проведения транскраниальной доплерографии. Транскраниальную доплерографию выполняли отечественной ультразвуковой диагностической системой «Сономед 300В» производства фирмы «Спектрмед» (г. Москва) датчиком 2 мГц. Использовали общепринятую методику R. Aaslid et al. [14] зондирования СМА и других сосудов виллизиева круга через височное «окно». Изучали систолическую скорость кровотока (V_{max}), диастолическую скорость кровотока (V_{min}), PI и RI. При анализе ЛСК за норму брали следующие показатели: V_{max} 80–100 см/сек, V_{min} 30–50 см/сек, PI 0,7–1,0, RI 0,5 [13].

1.4. Регистрция и статистическая обработка результатов. Статистическую обработку материала осуществляли с помощью программы «Excel» после проверки гипотезы на нормальность распределения в выборках по общепринятым формулам (Лакина Г.Ф., 1990, Шимко П.Д., Власов М.П., 2003) [19, 20]. Средние значения представлены в виде $M \pm \sigma$ или Me (P₂₅; P₇₅). Достоверность представленных данных непараметрических показателей определяли критерием Фишера. Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

При первичном проведении доплерографического исследования МК были выявлены патологические отклонения параметров доплерограммы у всех больных в обеих группах. Распределения

domestic ultrasonic diagnostic system Sonomed 300V (Spectromed, Moscow) with a 2 MHz sensor. The standard method of R. Aaslid et al. [14] was used to probe the medial cerebral artery (MCA) and other vessels of the circle of Willis through the temporal «window». The systolic blood flow velocity (V_{max}), diastolic blood flow velocity (V_{min}), PI and RI were studied. When analyzing the LBFDR the following parameters were considered as the norm: V_{max} of 80–100 cm/s, V_{min} 30–50 cm/s, PI 0.7–1.0 and RI 0.5 [13].

1.4. Recording and Statistical Processing of Findings. The statistical analysis of the material was carried out by using Excel program after the hypothesis testing for normality of the distribution in samples by the standard formulas (Lakin G.F., 1990, Shimko P.D., Vlasov M.P., 2003) [19, 20]. Mean values were presented as $M \pm \sigma$ or Me (P₂₅; P₇₅). A difference between groups was considered as significant at $P \leq 0.05$ (Fisher test).

Results and Discussion

During the primary CBF Doppler test some abnormalities of Dopplerogram parameters were found in all patients of both groups. The distribution of patients according to the initial BF pattern in patients is presented in Table 2.

The most frequent type of the CBF disorder noted in the both groups during the primary examination was a hindered perfusion pattern: in 15 and 16 cases, in the 1st and 2nd groups, respectively. In these patients, a decrease in V_{min} was recorded, the average value thereof in the 1st group was 27.2 ± 1.2 cm/s, while in the 2nd group it was 28.8 ± 0.9 cm/s. The V_{max} values were within the normal range, and the pulsation index came to 0.94 ± 0.02 units in the 1st group and to 0.93 ± 0.02 units in the 2nd group.

A vasospasm pattern ranked the second to be recorded: it was in 6 patients of the 1st group and in 7 patients of the 2nd group. Mild vasospasm was recorded in four cases in the 1st group and in three

Таблица 2. Распределение больных в группах в зависимости от исходного паттерна мозгового кровотока.
Table 2. Distribution of Patients in the Groups Based on the Initial Blood Flow Pattern.

| Indexes | Number of patients in groups | |
|----------------------------|------------------------------|------------------------|
| | 1 st (n=25) | 2 nd (n=25) |
| Initial BF pattern | | |
| Hindered perfusion pattern | 15 | 16 |
| Mild vasospasm pattern | 4 | 3 |
| Gross vasospasm pattern | 2 | 2 |
| Ниперфузия pattern | 2 | 2 |
| Ниперфузия pattern | 2 | 2 |

Примечание. Initial BF pattern — исходный паттерн МК; Hindered perfusion pattern — паттерн затрудненной перфузии; Mild vasospasm pattern — паттерн мягкого ангиоспазма; Gross vasospasm pattern — паттерн грубого ангиоспазма; Ниперфузия pattern — паттерн гипоперфузии; Ниперфузия pattern — паттерн гиперперфузии.

больных в зависимости от исходного паттерна МК в группах представлены в табл. 2.

В обеих группах наиболее частым видом нарушения МК при первичном исследовании был паттерн затрудненной перфузии: у 15 и 16 пациентов, соответственно в 1-й и 2-й группах. У этих больных регистрировали снижение V_{\min} , среднее значение которого в 1-й группе составляло $27,2 \pm 1,2$ см/с, а во 2-й группе $28,8 \pm 0,9$ см/с. Значения V_{\max} были в пределах нормальных значений, а пульсационный индекс составлял в 1-й группе $0,94 \pm 0,02$ ед, а во 2-й группе $0,93 \pm 0,02$ ед.

Вторым по частоте регистрировали паттерн ангиоспазма — у 6 пациентов в 1-й группе и у 7 во 2-й группе. В 1-й группе в 4 случаях, а во 2-й в 3 случаях отмечали наличие мягкого ангиоспазма, для которого было характерно увеличение V_{\max} в среднем до $141,3 \pm 2,4$ см/с в 1-й группе и до $146,7 \pm 4,6$ см/с во 2-й группе. Значения пульсационного индекса составляли $0,95 \pm 0,02$ ед в 1-й группе и $0,93 \pm 0,02$ ед во 2-й группе. В 2 случаях в каждой группе отмечали признаки грубого ангиоспазма, для которого было характерно увеличение V_{\max} в среднем до $176,3 \pm 3,4$ см/с в 1-й группе и до $181,7 \pm 5,1$ см/с во 2-й группе. Значения пульсационного индекса составляли $1,21 \pm 0,01$ ед в 1-й группе и $1,23 \pm 0,01$ ед во 2-й группе. У 2 больных в каждой группе отмечали гипоперфузию — снижение V_{\max} менее 50 см/с и V_{\min} менее 20 см/с. Данный паттерн МК отмечали у больных с артериальной гипотензией. Также в 2 случаях в каждой группе отмечали гиперперфузию — повышение V_{\max} до $117,8 \pm 3,7$ и $123,1 \pm 4,1$ см/с, повышение V_{\min} до $59,9 \pm 2,7$ и $63,3 \pm 3,1$ см/с, пульсационный индекс составлял $0,74 \pm 0,03$ и $0,72 \pm 0,02$, соответственно в 1-й и 2-й группах. Данный паттерн ассоциируют с разрешением ангиоспазма и затрудненной перфузии.

В динамике регресса нарушений линейных показателей МК были выявлены следующие особенности.

У больных с паттерном гипоперфузии (низкая систолическая скорость, низкая диастолическая скорость) при артериальной гипотензии быстро развивался паттерн затрудненной перфузии (с преобладанием низкой диастолической скорости).

cases in the 2nd group; it was characterized by the increasing V_{\max} on the average up to 141.3 ± 2.4 cm/s in the 1st group and up to 146.7 ± 4.6 cm/s in the 2nd group. The pulsation index values were 0.95 ± 0.02 units in the 1st group and 0.93 ± 0.02 units in the 2nd group. In 2 cases in each group there were signs of gross vasospasm with the V_{\max} increase up to 176.3 ± 3.4 cm/s on the average in the 1st group and up to 181.7 ± 5.1 cm/s in the 2nd group. The pulsation index values were 1.21 ± 0.01 units in the 1st group and 1.23 ± 0.01 units in the 2nd group. In 2 patients in each group hypoperfusion was noted with V_{\max} decreasing lower 50 cm/s and V_{\min} lower 20 cm/s. This CBF pattern was recorded in patients with arterial hypotension. In two cases in each group hyperperfusion was also noted with the increasing V_{\max} up to 117.8 ± 3.7 and 123.1 ± 4.1 cm/s, the increasing V_{\min} up to 59.9 ± 2.7 and 63.3 ± 3.1 cm/s, the pulsation index was 0.74 ± 0.03 and 0.72 ± 0.02 , in the 1st and 2nd groups, respectively. This pattern is associated with the resolution of vasospasm and hindered perfusion.

We have found the following peculiarities in the dynamics of regression changes in the linear BF parameters.

In patients with a hypoperfusion pattern (low systolic velocity, low diastolic velocity) under arterial hypotension a pattern of hindered perfusion rapidly developed (with low diastolic velocity prevailing).

Upon the reduction of signs of cerebral edema such a hindered perfusion pattern was transformed to a reactive hyperemia pattern with facilitated perfusion with a moderate increase of the vascular tone. V_{\max} thereat increased up to 100–120 cm/s, V_{\min} up to 60–70 cm/s, the pulsation index values were 0.55–0.7 units. Further normalization of cerebral macrocirculation indices occurred up to normative values (V_{\max} 80–100 cm/s, V_{\min} 50–60 cm/s, PI 0.7–1.0 units, RI 0.5 units).

In case of the cerebral edema progression the said hindered perfusion pattern was transformed to a severe hypoperfusion pattern with the critical reduction in linear velocities with growing shunting phenomena upon the CBF reduction (V_{\max} less

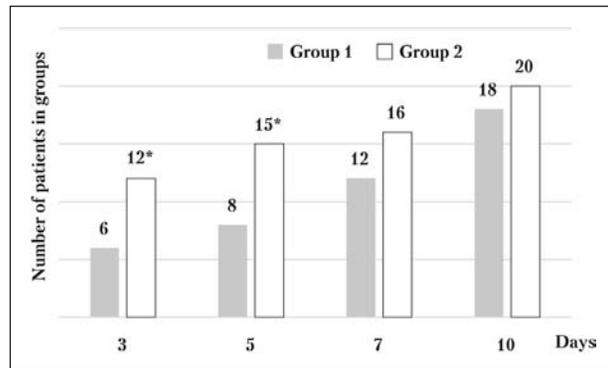
Паттерн затрудненной перфузии после уменьшения явлений отека головного мозга трансформировался в паттерн реактивной гиперемии с облегченной перфузией с умеренным повышением сосудистого тонуса. При этом V_{\max} возрасла до 100–120 см/с, V_{\min} — до 60–70 см/с, значения пульсационного индекса составляли 0,55–0,7 ед. Далее происходила нормализация показателей церебральной макроциркуляции до нормативных величин (V_{\max} 80–100 см/с, V_{\min} 50–60 см/с, PI 0,7–1,0 ед, RI 0,5 ед).

В случае прогрессирования отека головного мозга паттерн затрудненной перфузии трансформировался в паттерн выраженной гипоперфузии с критическим снижением линейных скоростей, с нарастанием явлений шунтирования на фоне редукции МК (V_{\max} менее 40 см/с, V_{\min} менее 20 см/с, PI 0,6–0,8, RI 0,7–0,8 ед).

Разрешение ангиоспазма (высокая систолическая и диастолическая скорости и значения PI) также происходило через стадию реактивной гиперемии на фоне облегчения перфузии со снижением сосудистого тонуса и показателей ЛСК. Прогрессирование ангиоспазма, напротив, приводило к развитию редукции МК. В этом случае несмотря на высокие значения показателей ЛСК (V_{\max} более 200 см/с, V_{\min} более 60 см/с, PI более 1 ед) значения RI всегда были очень высокими (выше 0,7 ед).

У пациентов в 1-й группе на 3-и сутки исследования нормализацию линейных показателей МК наблюдали в 6, на 5-е сутки — в 8, на 7-е сутки — в 12, на 10 сутки — в 18 случаев, в то время, как у пациентов во 2-й группе на 3-е сутки нормализовался мозговой кровоток в 12, на 5-е сутки — в 15, на 7-е сутки — в 16, на 10-е сутки — в 20 случаев (рисунок).

Паттерны затрудненной перфузии и ангиоспазма были наиболее частыми у обследованных больных. Паттерн затрудненной перфузии ассоциируют с развитием отека головного мозга (ГМ) и повышением внутричерепного давления (ВЧД), что приводит к замедлению церебрального кровотока в большей степени в диастолу, вследствие компрессии сосудистого русла. Паттерн ангиоспазма, по-видимому, является признаком травматического субарахноидального кровоизлияния (тСАК), обуславливающего спазм артериол. Чем более был выражен ангиоспазм, тем более было выражено угнетение сознания, обусловленное не только первичным повреждением — ушибом ГМ, но и вторичными повреждениями — ишемией ГМ. Таким образом, ЧМТ при развитии отека ГМ сопровождается развитием затрудненной перфузии, а в случае травматического субарахноидального кровоизлияния — ангиоспазмом и вторичной ишемией, обусловленной вазоконстрикцией, индуцированной сосудистыми и гемическими факторами.



Сроки нормализации параметров церебральной макроциркуляции в группах.

Time of cerebral macrocirculation parameter normalization in the groups.

Note. * — value is significantly different from the value in the control group at this stage of the study ($P < 0.05$).

Примечание. Group — группа, Days — дни. * — значение достоверно отличается от значения в группе сравнения на данном этапе исследования ($p < 0,05$).

than 40 cm/s, V_{\min} less than 20 cm/s, PI 0.6–0.8, RI 0.7–0.8 units).

The vasospasm resolution (high systolic and diastolic velocity and PI values) also occurred through the reactive hyperemia stage upon the perfusion facilitation with the decreasing vascular tone and LBFR indices. On the contrary, the vasospasm progression caused the development of the CBF reduction. In this case, despite the high values of the LBFR parameters (V_{\max} above 200 cm/s, V_{\min} above 60 cm/s, PI over 1 unit) the RI values were always very high (higher than 0.7 units).

The normalization of the CBF linear parameters was observed in the patients of the 1st group in six cases on the third day, in eight cases on the fifth day, in 12 cases on the seventh day, in 18 cases on the 10th day, while in the patients of the 2nd group the CMP was normalized on the 3rd day in 12 cases, on the 5th day in 15 cases, on the 7th day in 16 cases and on the 10th day in 20 cases (Fig.).

The most frequent patterns identified in the examined patients were hindered perfusion and vasospasm. The hindered perfusion pattern is associated with the development of cerebral edema (CE) and increased intracranial pressure (ICP) resulting in slower cerebral blood flow to a greater extent in diastole because of the vascular bed compression. The vasospasm pattern is apparently a sign of traumatic subarachnoid hemorrhage (iSAH) causing arteriolar spasm. The more pronounced was vasospasm, the more severe was the consciousness depression caused not only by the initial injury such as the brain contusion but also by secondary damages such as cerebral ischemia. Thus, in case of the cerebral edema development a TBI is accompanied with hindered perfusion and in case of traumatic subarachnoid hemorrhage with vasospasm and sec-

В остром периоде ЧМТ отмечалась трансформация одних паттернов в другие. У всех выживших больных в обеих группах патологические паттерны МК трансформировались через стадию реактивной гиперемии до нормальных значений показателей ЛСК. Следовательно, трансформация исходного патологического паттерна (гипоперфузия, затрудненная перфузия, ангиоспазм) в паттерн гиперперфузии является универсальным вне зависимости от исходного паттерна и прогностически благоприятным, что согласуется с общепринятыми представлениями о значении церебрального перфузионного давления для прогноза у пациентов с ЧМТ.

У пациентов во 2-й группе в половине случаев нормализация показателей развивалась уже к 3-м суткам, в то время, как у больных 1-й группы нормализация показателей у половины больных развивалась лишь к 7-м суткам. Следовательно, постоянная инфузия ЭМГПС позволяет быстрее нормализовать МК у большего количества пациентов вне зависимости от исходного паттерна МК. Механизм этого действия, вероятно, связан с вазомодулирующим эффектом ЭМГПС на сосудистую стенку, что позволяет либо устранять избыточный тонус сосудов при ангиоспазме, либо увеличивать низкий тонус при гипоперфузии и затрудненной перфузии. Также, возможно, имеет важное значение позитивный инотропный эффект ЭМГПС. Все это в совокупности с непосредственно цитопротективным субстратным действием ЭМГПС приводит к улучшению состояния перфузии зоны «полутени».

Выводы

1. При первичном обследовании пострадавших с сочетанной ЧМТ выявлялись паттерны затрудненной перфузии в 62% и ангиоспазма в 22% случаев, что свидетельствовало о развитии отека и ишемии головного мозга.

2. Паттерны МК в остром периоде ЧМТ могут трансформироваться один в другой. Главным лечебным механизмом трансформации патологического паттерна с высоким сосудистым тонусом (ангиоспазм) является снижение сосудистого тонуса с развитием умеренной гиперперфузии, а с низким сосудистым тонусом (гипоперфузия, затрудненная перфузия) — повышение сосудистого тонуса с развитием умеренной гиперперфузии.

3. Постоянная длительная инфузия ЭМГПС в дозе 100 мг в час на протяжении 10 суток способствует нормализации параметров линейной скорости мозгового кровотока.

Литература

1. *Сергеев А.В., Степанов С.С., Акулинин В.А., Мыцки А.В.* Естественные механизмы защиты головного мозга человека при хронической ишемии. *Общая реаниматология*. 2015; 11 (1): 22–32. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2015-1-22-32>
2. *Бояринов Г.А., Бояринова Л.В., Дерюгина А.В., Соловьева О.Д., Зайцев Р.Р., Военнов О.В., Мошина Е.В., Шумилова А.В.* Роль вторич-

ондари ischemia caused by vasoconstriction induced by hemic and vascular factors.

In the acute TBI phase the transformation of one pattern to another was noted. In all surviving patients in both groups CBF pathological patterns were transformed through a reactive hyperemia stage to normal values of LBFR indices. Hence, the transformation of the initial pathological pattern (hypoperfusion, hindered perfusion, vasospasm) to the hyperperfusion pattern is universal irrespective of the initial pattern and is forecasted as favorable. It is consistent with the general notions on the importance of the cerebral perfusion pressure for the prediction in TBI patients.

The parameter normalization in a half of the patients of the 2nd group has already developed by the 3rd day, while the parameter normalization in a half of the patients of the 1st group has only developed by the 7th day. Hence, the continuous EMHPS infusion enables a faster normalization of the CBF in more patients regardless of the initial CBF pattern. The mechanism of this action is apparently associated with the EMHPS vasomodulating effect on the vascular wall. It enables either the elimination of any excess vascular tone in case of vasospasm or the increase in the low tone in cases of hypoperfusion and hindered perfusion. The positive inotropic effect of EMHPS may also be quite important. All that together with the directly cytoprotective substrate action of EMHPS shall result in the improvement of the penumbra area perfusion.

Conclusion

1. During the initial examination of TBI patients the patterns of hindered perfusion were identified in 62% and vasospasm in 22% of cases proving the development of edema and cerebral ischemia.

2. CBF patterns in the acute TBI phase may be transformed one into another. The main therapeutic mechanisms include: (a) transformation of the pathological pattern with a high vascular tone (vasospasm) to reduced vascular tone accompanied by development of moderate hyperperfusion and (b) changing the low vascular tone (hypoperfusion, hindered perfusion) to increased vascular tone associated with the development of moderate hyperperfusion.

3. The continuous EMHPS infusion at a dose of 100 mg per hour during 10 days shall favour the normalization of parameters of linear cerebral blood flow velocity.

References

1. *Sergeev A.V., Stepanov S.S., Akulinin V.A., Mytsik A.V.* Natural defense mechanisms of the human brain against chronic ischemia. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2015; 11 (1): 22–32. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2015-1-22-32>. [In Russ., In Engl.]
2. *Boyarinov G.A., Boyarinoва L.V., Deryugina A.V., Solov'eva O.D., Zaytsev R.R., Voyennov O.V., Moshina E.V., Shumilova A.V.* Role of sec-

- ных факторов повреждения мозга в активации сосудистотромбоцитарного гемостаза при черепно-мозговой травме. *Общая реаниматология*. 2016; 12 (5): 42–51. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2016-5-42-51>
3. *Potapov A.A., Kononov A.N., Korniyenko V.N., Kravchuk A.D., Likhтерman L.B., Pronin I.N., Zakharova I.E., Gavrilova A.G., Okhlopkov V.A., Eoniyani S.A., Zaitsev O.S., Yakovlev S.B., Gorykov N.M., Oshorov A.B., Shurkhay V.A.* Целевая научно-техническая программа — стратегический путь решения социальных и медицинских проблем, связанных с черепно-мозговой травмой. *Рос. мед. вестн.* 2010; 15 (3): 92–96.
 4. *Мидори И.М., Берснев В.П., Рябуха Н.П.* Синдром сдавления головного мозга при черепно-мозговой травме. *Вестн. хирургии им. И.И. Грекова*. 2012; 171 (6): 66–68. PMID: 23488267
 5. *Рябов Г. А.* Синдромы критических состояний. М.: Медицина; 1994: 386.
 6. *Мороз В.В., Чурляев Ю.А.* Вторичные повреждения головного мозга при тяжелой черепно-мозговой травме. М.; 2006: 403.
 7. *Шмаков А.Н., Данченко С.В.* Исследования «золотого часа» при тяжелой черепно-мозговой травме. *Мед. алфавит*. 2011; 1 (3): 38–40.
 8. *Талыпов А.Э., Петриков С.С., Пурас Ю.В., Солодов А.А., Титова Ю.В.* Современные методы лечения ушибов головного мозга. *Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика*. 2011; 1: 8–15. <https://doi.org/10.14412/2074-2711-2011-127>
 9. *Косовских А.А., Чурляев Ю.А., Кан С.Л., Лызлова А.Н., Кирсанов Т.В., Вартанян А.Р.* Центральная гемодинамика и микроциркуляция при критических состояниях. *Общая реаниматология*. 2013; 9 (1): 18. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-1-18>
 10. *Одинак М.М., Вознюк И.А., Янишевский С.Н.* Ишемия мозга. Нейропротективная терапия. Дифференцированный подход. СПб.: ВМА; 2002: 77.
 11. *Глазман Л.Ю., Потопов А.А., Томас Д.* Полушарный мозговой кровоток при различных видах травмы головного мозга. *Вопр. нейрохирургии им. Н.Н.Бурденко*. 1988; 4: 39–43. PMID: 3218429
 12. *Гайдар Б.В., Семерья В.М., Вайнштейн Г.Б.* О взаимосвязи уровня кровотока и реактивности мозговых сосудов с функциональным состоянием ткани мозга. *Физиол. журн. СССР им. И.М.Сеченова*. 1986; 72 (5): 603–611. PMID: 3721004
 13. *Aaslid R., Markwalder T.M., Normes H.* Noninvasive transcranial Doppler ultrasound recoding of flow velocities in basal cerebral arteries. *J. Neurosurg.* 1982; 57 (6): 769–774. <http://dx.doi.org/10.3171/jns.1982.57.6.0769>. PMID: 7143059
 14. *Оковитый С.В.* Клиническая фармакология антиоксидантов. *ФАРМиндекс- Практик*. 2003; 5: 85–111.
 15. *Скоромец А.А., Дьяконова М.М.* Нейропротекция острой и хронической недостаточности мозгового кровообращения. СПб.: Наука; 2007: 200.
 16. *Суслина З.А., Максимова М.Ю., Федорова Т.Н.* Оксидантный стресс и основные направления нейропротекции при нарушениях мозгового кровообращения. *Неврологический журнал*. 2007; 12 (4): 3–7.
 17. *Marklund N., Bakshi A., Castelbuono D.J., Conte V., McIntosh T.K.* Evaluation of pharmacological treatment strategies in traumatic brain injury. *Curr. Pharm. Des.* 2006; 12 (13): 1645–1680. <http://dx.doi.org/10.2174/138161206776843340>. PMID: 16729876
 18. *Шимко П.Д., Власов М.П.* Статистика. М.: Феникс; 2003: 448.
 19. *Лакина Г.Ф.* Биометрия. М.: Высшая школа; 1990: 352.
 20. *Potapov A.A., Kononov A.N., Korniyenko V.N., Kravchuk A.D., Likhтерman L.B., Pronin I.N., Zakharova N.Ye., Gavrilov A.G., Okhlopkov V.A., Yeolchiyani S.A., Zaytsev O.S., Yakovlev S.B., Gorkov K.M., Oshorov A.V., Shurkhay V.A.* The target scientific and technical program — strategic way of solution of social and medical problems related to craniocerebral trauma. *Rossiiskie Meditsinskie Vesti*. 2010; 15 (3): 92–96. [In Russ.]
 21. *Midori I.M., Bersnev V.P., Ryabukha N.P.* Syndrome of brain compression in craniocerebral trauma. *Vestnik Khirurgii Imeni I.I.Grekova*. 2012; 171 (6): 66–68. PMID: 23488267. [In Russ.]
 22. *Ryabov G.A.* Syndromes of critical states. Moscow: Meditsina Publishers; 1994: 386. [In Russ.]
 23. *Moroz V.V., Churlyayev Yu.A.* Secondary brain damage in severe traumatic brain injury. Moscow; 2006: 403. [In Russ.]
 24. *Shmakov A.N., Danchenko S.V.* Investigation into 'golden hour' in severe craniocerebral injury. *Meditsinsky Alfavit*. 2011; 1 (3): 38–40. [In Russ.]
 25. *Talypov A.E., Petrikov S.S., Puras Yu.V., Solodov A.A., Titova Yu.V.* Current treatments for brain contusions. *Neurologiya, Neiropsikhiatriya, Psikhosomatika*. 2011; 1: 8–15. <https://doi.org/10.14412/2074-2711-2011-127> [In Russ.]
 26. *Kosovskikh A.A., Churlyayev Yu.A., Kan S.L., Lyzlov A.N., Kirsanov T.V., Vartanyan A.R.* Central hemodynamics and microcirculation in critical conditions. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2013; 9 (1): 18. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-1-18>. [In Russ., In Engl.]
 27. *Odinak M.M., Voznyuk I.A., Yanishchevsky S.N.* Ischemia of the brain. Neuroprotective therapy. Differentiated approach. Sankt-Peterburg: VMA; 2002: 77. [In Russ.]
 28. *Glazman L.Yu., Potapov A.A., Tomas D.* Hemispheric cerebral blood flow in various types of brain injuries. *Voprosy Neurokhirurgii Imeni N.N.Burdenko*. 1988; 4: 39–43. PMID: 3218429. [In Russ.]
 29. *Gaidar B.V., Semernya V.M., Vainshtein G.B.* Relation of the level of blood flow and reactivity of cerebral vessels to the functional state of brain tissue. *Fiziologicheskyy Zhurnal SSSR Imeni I.M.Sechenova*. 1986; 72 (5): 603–611. PMID: 3721004. [In Russ.]
 30. *Aaslid R., Markwalder T.M., Normes H.* Noninvasive transcranial Doppler ultrasound recoding of flow velocities in basal cerebral arteries. *J. Neurosurg.* 1982; 57 (6): 769–774. <http://dx.doi.org/10.3171/jns.1982.57.6.0769>. PMID: 7143059
 31. *Okovityi S.V.* Clinical pharmacology of antioxidants. *FARMиндекс-Praktik*. 2003; 5: 85–111. [In Russ.]
 32. *Skoromets A.A., Dyakonova M.M.* Neuroprotection of acute and chronic cerebrovascular insufficiency. Sankt-Peterburg: Nauka; 2007: 200. [In Russ.]
 33. *Suslina Z.A., Maksimova M.Yu., Fedorova T.N.* Oxidative stress and the main directions of neuroprotection in cerebral circulatory disorders. *Neurologicheskyy Zhurnal*. 2007; 12 (4): 3–7. [In Russ.]
 34. *Marklund N., Bakshi A., Castelbuono D.J., Conte V., McIntosh T.K.* Evaluation of pharmacological treatment strategies in traumatic brain injury. *Curr. Pharm. Des.* 2006; 12 (13): 1645–1680. <http://dx.doi.org/10.2174/138161206776843340>. PMID: 16729876
 35. *Shimko P.D., Vlasov M.P.* Statistics. Moscow: Feniks; 2003: 448. [In Russ.]
 36. *Lakina G.F.* Biometrics. Moscow: Vysshaya Shkola; 1990: 352. [In Russ.]

Поступила 07.06.16

Received 07.06.16

Влияние перфторана на наноструктуру мембран дискоцита и стоматоцита после острой кровопотери

В. В. Мороз¹, И. С. Новодержкина¹, А. В. Афанасьев¹,
Ю. В. Заржецкий¹, И. А. Рыжков¹, Е. К. Козлова^{1,2}, А. М. Черныш^{1,2}

¹ НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского, ФНКЦ реаниматологии и реабилитологии
Россия, 10703, г. Москва, ул. Петровка, д. 25, стр. 2

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

Effect of Perftoran on Membrane Nanostructure of Discocyte and Stomatocyte after Acute Blood Loss

Victor V. Moroz¹, Irina S. Novoderzhkina¹, Alexander V. Afanasyev¹, Yury V. Zarzhetsky¹,
Ivan A. Ryzhkov¹, Elena K. Kozlova^{1,2}, Alexander M. Chernysh^{1,2}

¹ V. A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology,
Federal Research and Clinical Center of Intensive Care Medicine and Rehabilitation,
² I. M. Sechenov First Moscow State Medical University, Ministry of Health of Russia,
8 Trubetskaya Str., Build. 2, Moscow 119991, Russia

Цель работы: оценить влияние перфторана на наноструктуру мембран дискоцитов и стоматоцитов после острой кровопотери.

Материалы и методы. Работа выполнена на белых крысах-самцах. Нембутал в дозе 25 мг/кг вводили внутривентриально. Моделью служила острая кровопотеря с последующей гипотензией в течение 60 мин при удержании АД на уровне 40 мм рт. ст. с последующей реинфузией выпущенной крови. Пробы крови из хвостовой артерии брали до кровопотери и через 2 часа после реинфузии. Перфторан (ПФ) в дозе 3 мл/кг массы тела вводили интравенно, сразу после возмещения кровопотери. Контролем служили животные без введения ПФ. С помощью атомного силового микроскопа «Femtoscan» исследовали структуру мембран эритроцита в диапазонах с разными пространственными периодами. Выделение диапазонов выполняли с помощью спектральных окон Фурье-преобразований. Для каждого спектрального окна по выделенным профилям поверхности мембраны рассчитывались периоды (T) и высоты (h) шероховатостей поверхности эритроцита.

Результаты. Дискоциты и стоматоциты в исходном состоянии имеют различные структурные характеристики клеточной мембраны эритроцита в пространственном диапазоне 600–1200 нм в виде большего периода колебаний у стоматоцитов по сравнению с дискоцитами. Гиповолемия и последующая реинфузия аутокрови оказывают воздействие на данный показатель, увеличивая период пространственных колебаний как у дискоцитов, так и у стоматоцитов по сравнению с исходным состоянием. Введение ПФ приводит к существенному уменьшению периода пространственных колебаний клеточной мембраны как у дискоцитов, так и у стоматоцитов по сравнению с эритроцитами животных, перенесших гиповолемию и реинфузию без введения ПФ, а также по сравнению с величинами этого показателя в исходном состоянии.

Заключение. Величина периода колебаний в пространственном диапазоне 600–1200 нм, отражающего состояние липидного бислоя клеточной мембраны эритроцита, не связана с трансформацией дискоцита в стоматоцит. Высказано предположение о том, что уменьшение периода колебаний в данном пространственном диапазоне при воздействии ПФ сопряжено с увеличением способности эритроцита к деформированию.

Ключевые слова: гиповолемия; реперфузионный период; перфторан; стоматоцит; дискоцит; наноструктура мембран эритроцитов

The purpose of the study: to evaluate the effect of Perftoran (PF) on the membrane nanostructure of discocytes and stomatocytes after acute blood loss.

Materials and methods. The study was performed in white male rats. Nembutal was administered intraperitoneally at a dose of 25 mg/kg. The study model was as follows: acute blood loss followed by hypotension for 60 min with the BP maintained at the level of 40 mm Hg with subsequent reinfusion of lost blood. Blood samples were collected from the tail artery before the blood loss and 2 hours after reinfusion. PF was administered intraarterially at a dose 3 ml/kg of body mass immediately after the blood loss replacement. Animals who did not receive

Адрес для корреспонденции:

Ирина Новодержкина
E-mail: novodergkina@yandex.ru

Correspondence to:

Irina Novodergkina
E-mail: novodergkina@yandex.ru

Perftoran served as a reference group. The RBC membrane structure was studied using the Femtoscan atomic force microscope at ranges with different spatial periods. The ranges were selected using the Fourier transform and spectral windowing. Periods (T) and heights (h) of RBC surface corrugation were calculated for each spectral window according to the isolated profiles of the membrane surface.

Results. At a baseline; discocytes and stomatocytes exhibited different structural characteristics of RBC membrane at a spatial range of 600–1200 nm in the form of a higher period of vibration of stomatocytes vs. discocytes. Hypovolemia and subsequent reinfusion of autologous blood affected studied parameters by increasing the period of spatial oscillation both in discocytes and stomatocytes as compared to the initial state. Administration of PF significantly decreased the period of spatial oscillation of the cell membrane both in discocytes and stomatocytes as compared to animal RBCs who underwent hypovolemia and reinfusion without PF administration and baseline parameters.

Conclusion. The period of vibration within the range of 600-1200 nm reflecting the state of the bilayer of RBC membrane is not related to the discocyte transformation into the stomatocyte. Data suggest that the PF-induced shortage in vibration within this range was associated with the increased ability of a RBC to deform.

Key words: hypovolemia; reperfusion period; perftoran; stomatocyte; discocyte; nanostructure of RBC membrane

DOI:10.15360/1813-9779-2017-2-32-39

Введение

Известно, что одним из важных патогенетических факторов нарушения микроциркуляции при острой кровопотери является изменение клеток красной крови, то есть микрореологии [1, 2]. Для осуществления обмена на уровне капилляра необходима деформация этих клеток, которая определяется состоянием их мембран. Из многочисленных работ также известно, что перфторан способствует улучшению обмена между капилляром и тканью [3–5].

Цель исследования: оценить влияние перфторана на наноструктуру мембран дискоцитов и стоматоцитов после острой кровопотере.

Материал и методы

Работа выполнена на 20 наркотизированных белых крысах-самцах массой 250–350 гр. Нембутал в дозе 25 мг/кг вводили внутривенно. Моделью терминального состояния служила острая кровопотеря с последующей гипотензией в течение 60 минут при удержании АД на уровне 40 мм рт. ст. Эксфузию крови проводили из хвостовой артерии с предварительной гепаринизацией в дозе 50 МЕ/кг. После периода гипотензии осуществляли реинфузию выпущенной кровью. Пробы крови из хвостовой артерии брали до кровопотери и через 2 часа после реинфузии. Перфторан (ПФ) в дозе 3 мл/кг массой тела вводили внутривенно, сразу после возмещения кровопотери. Контролем служили животные без введения ПФ.

Морфологический анализ эритроцитов проводили в сухих мазках, в монослое, без окрашивания, с использованием светового микроскопа Olimpus-BX-50. Цитометрическое исследование проводили при помощи программы ImageScope при увеличении 1000 (100×10). Подсчитывали 1000 клеток на мазок и на основании классификации Bessis M. [6] рассчитывали процентное содержание дискоцитов и стоматоцитов. Обычный вид стоматоцита — форма спущенного мяча с одним или несколькими углублениями (стомами). В зависимости от положения в сухом мазке они могут выглядеть как округлые клетки с большим щелевид-

Introduction

It is known that red blood cells (RBC) change is an important factor in the pathogenesis of micro-circulatory disturbances in acute blood loss [1, 2]. The RBC deformation is required for capillary exchange, and it is determined by the state of the membranes. Numerous studies have shown that Perftoran contributes to improving the transcapillary exchange between blood and tissue [3–5].

The purpose of the study: to evaluate the effect of Perftoran on the membrane nanostructure of discocytes and stomatocytes after acute blood loss.

Materials and Methods

Experiments were carried out on 20 narcotized male white rats weighing 250 g to 350 g. Nembutal was administered by intraperitoneal injection at a dose of 25 mg/kg. As a model of a critical state, we used acute blood loss followed by hypotension within 60 minutes while keeping the blood pressure at 40 mmHg. Blood was sampled from the tail artery after pretreatment with heparin at a dose of 50 IU/kg. The collected blood was reinfused after the period of hypotension. Blood samples were withdrawn from the tail artery before blood loss and 2 hours after the reinfusion. Perftoran (PF) was administered intraarterially at a dose of 3 ml/kg body weight immediately after blood reinfusion. Animals without PF administration served as a reference group.

A morphological analysis of RBCs in monolayer dried unstained blood smear slides was performed using the Olympus BX50 (Japan) light microscope. Cytometry was carried out using the ImageScope software at a 1000 magnification (10×100); 1000 cells were counted per smear. Using the classification of Bessis M. [6], the percentage of discocytes and stomatocytes was calculated. Stomatocyte generally has a shape of deflated ball with one or more recesses (stoma). Depending on the position in a dry smear it may appear as a rounded cell with a large slit-like pellor (top view), or as a «helmet» cell [7].

The images of fragments of RBC membrane surface were obtained using an atomic force microscope (AFM) (NTEGRA Prima, NT-MDT, Russia) and Femtoscan software. Three orders of surfaces were determined: the struc-

Injury, Blood Loss

ным пэллором (вид сверху), либо как «шлемовидные» клетки [7].

Изображение фрагментов структуры поверхности мембраны эритроцитов получали с помощью атомного силового микроскопа (АСМ) (NTEGRA Prima, NT-MDT, Россия) и программного обеспечения «Femtoscan». Были выделены поверхности трех порядков: структуры с пространственными периодами 600–1200 нм соответствовали 1-му порядку, с периодами 250–350 нм — 2-му порядку и с периодами 50–250 нм — 3-му порядку. Выделение поверхностей 1, 2 и 3 порядков выполняли с помощью спектральных окон Фурье-преобразований [8]. Выбор диапазонов определялся известными в литературе данными о размере колебаний липидного бислоя клеточной мембраны эритроцита (фликкера) — 1-й порядок, о конфигурации спектрина — 2-й порядок и протеиновых узлов соединения — 3-й порядок [9–11]. Для статистического анализа использовали усредненные значения периода и высоты колебаний по трем участкам поверхности одного эритроцита.

Статистическую обработку данных проводили в программе Statistica 7.0. Для оценки достоверности различий между группами использовали критерий U Вилкоксона-Манна-Уитни. Различия считались достоверными при уровне значимости $p < 0,05$. Анализируемые величины представлены в виде: Me (25%; 75%).

Результаты и обсуждение

В исходном состоянии процентное содержание стоматоцитов в крови составило 4,0% (2; 4). У крыс контрольной группы к 2 часам реперфузионного периода произошло увеличение процентного содержания в крови стоматоцитов до 22,5% (20; 28) ($p < 0,01$). Такие же изменения, но более выраженные, наблюдали у животных с введением ПФ. В этой группе процентное содержание стоматоцитов в крови составило 90,0% (75; 92) ($p < 0,01$ при сравнении с исходом и контролем) (рис. 1, 2).

В исходном состоянии структурные различия поверхности дискоцитов и стоматоцитов по исследуемым параметрам характеризовались меньшей величиной T1 у дискоцитов по сравнению со стоматоцитами (табл.). Такое же различие между дискоцитами и стоматоцитами наблюдали у крыс контрольной группы через 2 часа восстановительного периода. Вместе с тем, как дискоциты, так и стоматоциты животных группы контроля через 2 часа после реперфузии характеризовались увеличением значения T1 по сравнению с исходом. Таким образом, 60-минутная гипотензия с последующей реперфузией в течение 2 часов восстановительного периода приводила к увеличению процентного содержания стоматоцитов и к изменению структурной поверхности клеточной мембраны эритроцитов в виде возрастания T1 как у дискоцитов, так и у стоматоцитов.

В группе с введением ПФ, в отличие от контрольной группы и исходного состояния, к 2 часам реперфузионного периода между дискоцитами и

турами с пространственным периодом 600–1200 нм соответствовали поверхности 1st порядка (T1), периодом 250–350 нм соответствовали поверхности 2nd порядка (T2), и периодом 50–250 нм — поверхности 3rd порядка (T3). Выбор поверхностей 1st, 2nd и 3rd порядков осуществляли с помощью соответствующих спектральных окон Фурье-преобразования [8]. Выбор поверхностей 1st, 2nd и 3rd порядков определялся известными в литературе данными о размере колебаний липидного бислоя клеточной мембраны эритроцита (фликкера) — 1-й порядок, о конфигурации спектрина — 2-й порядок и протеиновых узлов соединения — 3-й порядок [9–11]. Для статистического анализа использовали усредненные значения периода и высоты колебаний по трем участкам поверхности одного эритроцита.

Статистическую обработку данных проводили в программе Statistica 7.0. Для оценки достоверности различий между группами использовали критерий U Вилкоксона-Манна-Уитни. Различия считались достоверными при уровне значимости $p < 0,05$. Анализируемые величины представлены в виде: Me (25%; 75%).

Results and Discussion

At a baseline, the percentage of stomatocytes in the blood was 4.0% (2; 4). In reference group the percentage of stomatocytes in the blood increased to 22.5% (20; 28) ($P < 0,01$) 2 hours after reperfusion. Similar and even more pronounced changes were observed in the animals of the PF group. In this group, the percentage of stomatocytes in the blood was 90.0% (75; 92) ($P < 0,01$) as compared to baseline or reference group (Fig. 1, 2).

At a baseline, the structural differences in discocytes and stomatocytes membrane surface parameters were characterized by lower value of T1 in discocytes compared to stomatocytes (Table). The same difference between discocytes and stomatocytes were observed in the reference group rats 2 hours after reperfusion. At the same time, both discocytes and stomatocytes in animals of the reference group were characterized by increased value of T1 2 hours after reperfusion vs. the baseline. Thus, a 60-minute hypotension followed by reperfusion during the 2 hours of recovery period resulted in an increase in the percentage of stomatocytes and changes in the structure of the RBC membrane surface in the form of T1 rise both in discocytes and stomatocytes.

Unlike the reference group and baseline values, in the PF group there were no differences between discocytes and stomatocytes for all investigated parameters two hours after reperfusion (Fig. 3, 4). The comparison of the reference group with the PF group showed that T1 values both in the discocytes and stomatocytes of the reference group rats were greater than those in the corresponding forms of RBCs in the PF group. At the same time, the h1 and h2 values in the stomatocytes of reference group rats were higher than those in the stomatocytes of the PF group (Table), indicating an increase in corrugation of stomatocytes 2 hours after reperfusion. It should

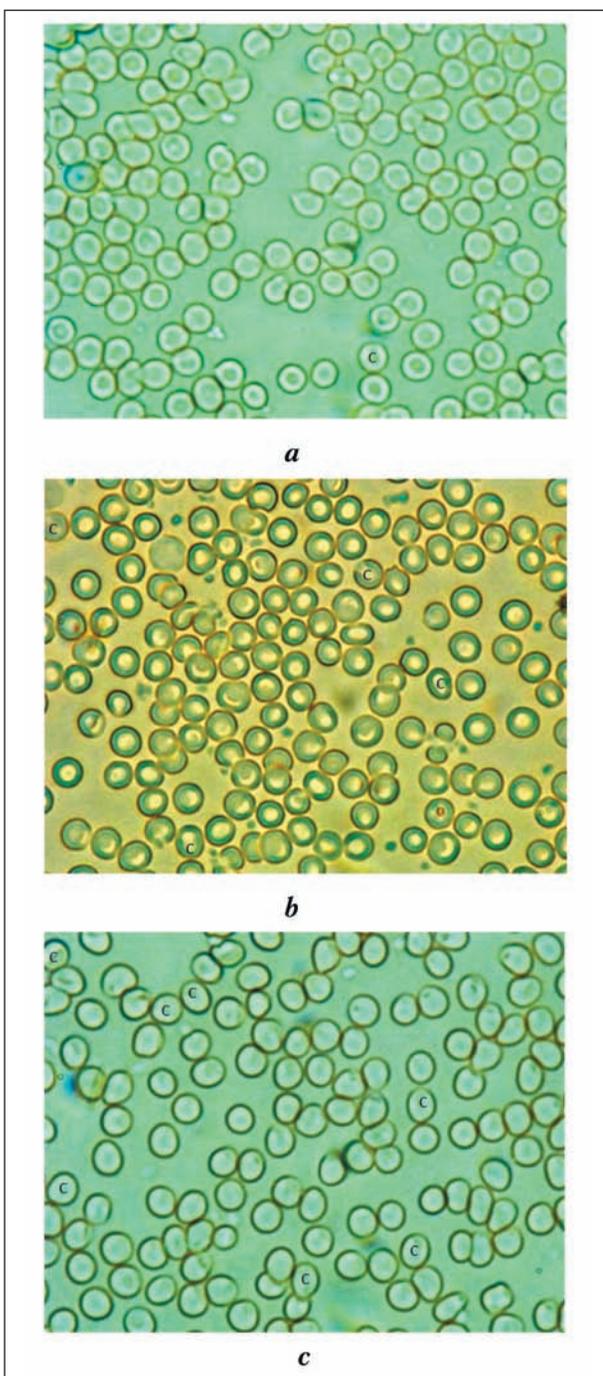


Рис. 1. Морфологические изменения эритроцитов на фоне перфторана и без него.

Fig. 1. Morphological changes in red blood cells on the background of perfloran administration and without it.

Notes. *a* – Baseline; *b* – 2 hours after reperfusion; *c* – 2 hours after reperfusion with perfloran administration; C – stomatocyte.

Примечание. *a* – исход; *b* – через 2 часа после реперфузии; *c* – через 2 часа после реперфузии и введения перфторана; C – стоматоцит.

стоматоцитами отсутствовали различия по всем исследуемым показателям (рис. 3, 4). Сравнение группы контроля и группы с введением ПФ показало, что значения T1 как у дискоцитов, так и у стоматоцитов крыс группы контроля больше, чем у

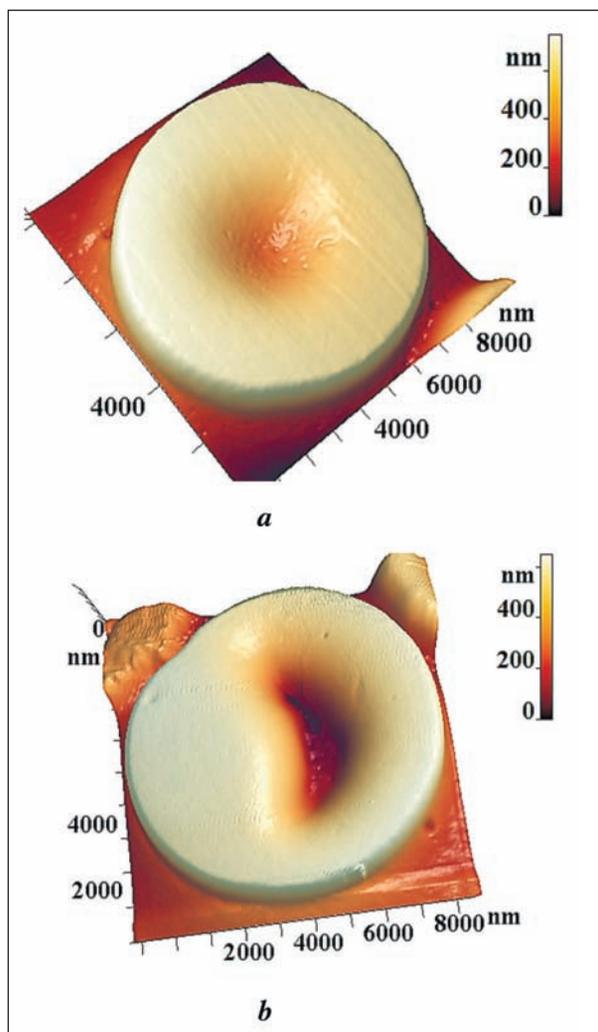


Рис. 2. Изображения дискоцита (*a*) и стоматоцита (*b*) в поле АСМ в формате 3D.

Fig. 2. Images of discocyte (*a*) and stomatocyte (*b*) in the field of atomic force microscope in 3D.

also be noted that the values of T2 in discocytes and T1 in stomatocytes of the animals after PF administration were lower than the corresponding values in rats at baseline. The results demonstrate the effect of PF on the membrane structure of RBCs exposed to hypoxia and subsequent reperfusion.

Thus, the results of this work showed: *a*) at a baseline, the value of T1 in discocytes is less than that in stomatocytes; *b*) hypoxic and subsequent reperfusion exposure leads to alteration of RBC membrane surface in the form of T1 increasing both in discocytes and stomatocytes compared to the baseline; *c*) PF administration in the early reperfusion period has an effect on RBC membrane surface reducing the value of T1 in stomatocytes and discocytes as compared to the data acquired from the baseline and the discocytes of a reference group. However, hypovolemia and subsequent reperfusion lead to an increase in the percentage of stomatocytes in the blood.

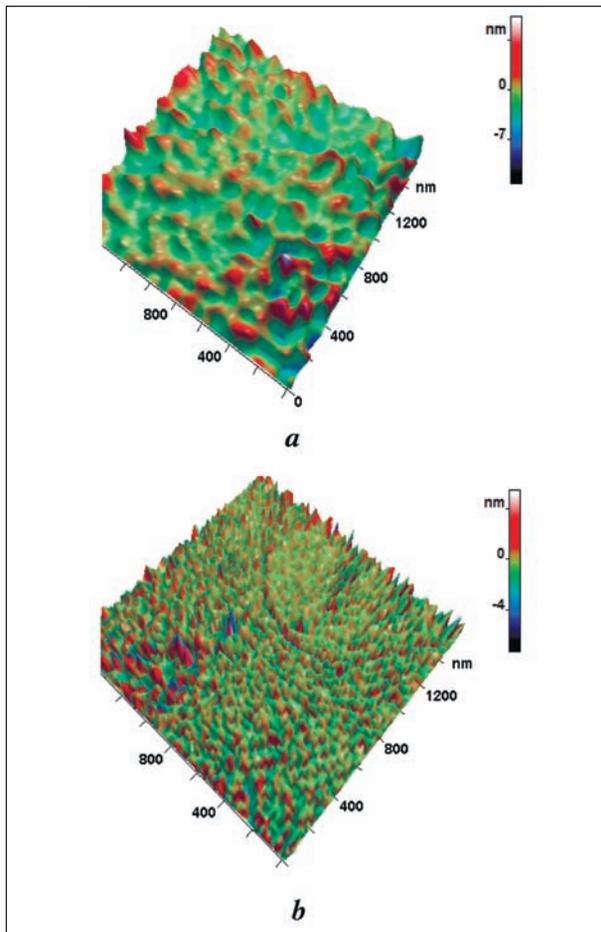


Рис. 3. Наноструктура мембраны дискоцита через 60 минут гипотензии, до введения перфторана.

Fig. 3. Membrane nanostructure of discocyte 60 minutes after hypotension, before perfortan administration.

Note. *a* – the surface of 2nd order; *b* – the surface of 3rd order.

Примечание. *a* – второй порядок; *b* – третий порядок.

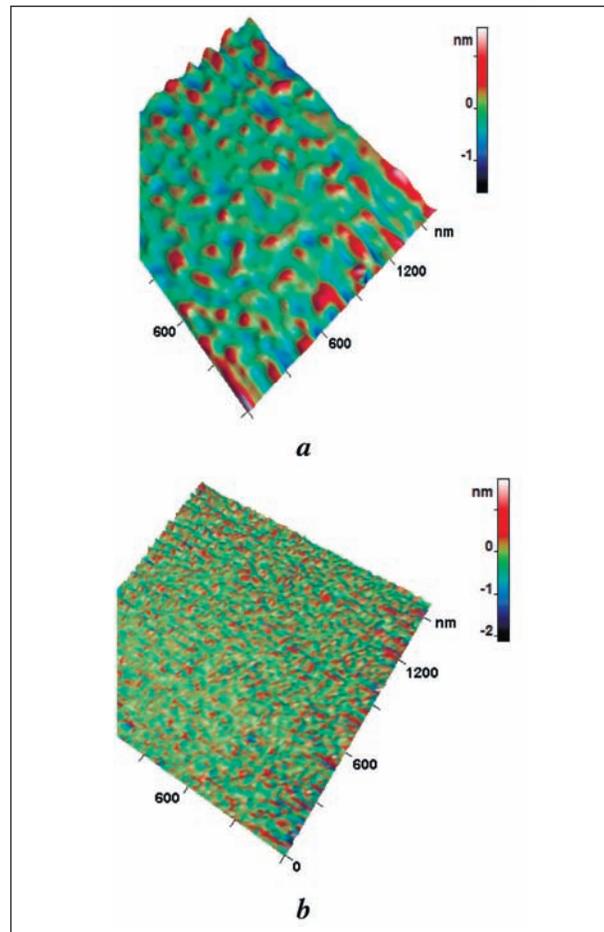


Рис. 4. Наноструктура мембраны дискоцита через 2 часа после реперфузии и введения перфторана.

Fig. 4. Membrane nanostructure of discocyte 2 hours after reperfusion and perfortan administration.

Note. *a* – the surface of 2nd order; *b* – the surface of 3rd order.

Примечание. *a* – второй порядок; *b* – третий порядок.

соответствующих форм эритроцитов животных с введением ПФ. При этом величины h_1 и h_2 стоматоцитов, свидетельствующие об увеличении шероховатости стоматоцитов к 2 часам реперфузионного периода, у крыс контрольной группы выше, чем у крыс с введением ПФ (табл.). Следует также отметить, что значения T2 дискоцитов и T1 стоматоцитов животных после введения ПФ оказались меньше, чем соответствующие величины у крыс в исходном состоянии. Результаты свидетельствуют о влиянии ПФ на структуру поверхности эритроцитов, подверженных гипоксическому и последующему реперфузионному воздействию.

Итак, результаты настоящей работы показали, что: а) в исходном состоянии у дискоцитов величина T1 меньше, чем у стоматоцитов; б) гипоксическое и последующее реперфузионное воздействие приводит к изменению поверхности клеточной мембраны эритроцитов в виде увеличения периода 1-го порядка как у дискоцитов, так и у стоматоцитов по сравнению с исходным со-

It is noteworthy, that stomatocyte membranes in the reference group and the PF group were characterized by opposite changes of T1 vs. the baseline (Table). These results, as well as the lack of differences between discocytes and stomatocytes for all investigated parameters in the PF group, allow to conclude that the parameters of RBC membrane surface investigated in the present study are not associated with changes in RBC shape, i.e. with the transformation of discocyte into stomatocyte.

On the other hand, the differences between discocytes and stomatocytes in T1 values, which characterize the state of lipid bilayer, allow to suggest that changes in the lipid bilayer occur during the transformation of discocyte into stomatocyte and RBC exposure to hypovolemia and reperfusion.

We can assume that PF effect on the membrane lipid bilayer is associated with increased NO oxidation [12, 13], that reduces the rate of NO transport into a RBC [14, 15] and the process of transformation of Fe^{2+} into Fe^{3+} [16, 17]. It is confirmed by a

**Периоды (Т, нм) и высоты (h, нм) шероховатостей клеточной мембраны эритроцита [Ме (25%; 75%)].
Periods (T, nm) and heights (h, nm) of RBC membrane corrugations [Me (25%; 75%)].**

| Stage of experiment | RBC forms | T1 | T2 | T3 | h1 | h2 | h3 |
|---|--------------|----------------------|---------------------|--------------|-------------------|-------------------|--------------|
| Baseline | Discocytes | 774.0 | 266.0 | 55.0 | 2.8 | 1.7 | 0.2 |
| | <i>n</i> =7 | (751.0; 840.0) | (257.0; 304) | (41.0; 74.0) | (2.0; 4.1) | (0.9; 2.2) | (0.1; 0.4) |
| | Stomatocytes | 894.5 [#] | 259.0 | 44.0 | 5.8 | 1.0 | 0.3 |
| | <i>n</i> =6 | (817.0; 964.0) | (236.0; 276) | (40.0; 52.0) | (1.8; 8.3) | (0.7; 2.2) | (0.1; 0.7) |
| 2 hours after reinfusion, reference group | Discocytes | 904.5 [*] | 250.0 | 50.0 | 7.9 | 1.4 | 0.55 |
| | <i>n</i> =4 | (855.0; 989.0) | (228.0; 267.0) | (48.0; 52.0) | (4.8; 8.2) | (1.1; 2.6) | (0.15; 1.45) |
| | Stomatocytes | 1011.5 ^{##} | 256.0 | 50.5 | 8.2 | 1.6 | 0.25 |
| | <i>n</i> =8 | (966.5; 1043.0) | (250.0; 264.0) | (44.0; 63.5) | (6.8; 12.5) | (1.1; 2.0) | (0.2; 0.3) |
| 2 hours after reinfusion, PF group | Discocytes | 764.0 ^{##} | 240.0 ^{##} | 49.0 | 1.6 | 1.1 | 0.4 |
| | <i>n</i> =5 | (752.0; 782.0) | (235.0; 253.0) | (41.0; 49.0) | (1.4; 2.1) | (0.6; 2.0) | (0.4; 0.5) |
| | Stomatocytes | 797.0 ^{##} | 250.0 | 49.0 | 2.1 ^{##} | 1.0 ^{##} | 0.3 |
| | <i>n</i> =7 | (742.0; 836.0) | (235.0; 282.0) | (39.0; 62.0) | (1.4; 3.7) | (0.6; 1.5) | (0.2; 0.5) |

Note. T1, T2, T3 – the periods of 1st, 2nd and 3rd orders, respectively; h1, h2, h3 – the heights of 1st, 2nd and 3rd orders, respectively; *n* – number of animals; * – *P*<0.05 vs. the corresponding value at the baseline; ## – *P*<0.05 vs. the corresponding value in the reference group; # – *P*<0.05 vs. the value of T1 of discocytes in the same group.

Примечание. Stage of experiment – этап наблюдения; Baseline – исходное состояние; 2 hours after reinfusion, reference group – 2 часа после реинфузии, контрольная группа; PF group – группа с введением перфторана; RBC forms – форма эритроцитов; Discocytes – дискоциты; Stomatocytes – стоматоциты. T1, T2, T3 – периоды 1, 2 и 3 порядка соответственно; h1, h2, h3 – высоты 1, 2 и 3 порядка соответственно; *n* – число животных; * – *p*<0,05 по сравнению с соответствующим показателем в исходном состоянии; ## – *p*<0,05 по сравнению с соответствующим показателем в контрольной группе; # – *p*<0,05 по сравнению с показателем T1 дискоцитов в той же группе.

стоянием; в) применение ПФ в раннем реперфузионном периоде оказывает воздействие на поверхность клеточной мембраны эритроцита, уменьшая значения T1 у дискоцитов и стоматоцитов как по сравнению с исходом, так и по сравнению с дискоцитами животных контрольной группы. При этом гиповолемия и последующая реперфузия приводят к увеличению процентного содержания стоматоцитов в крови.

Обращает на себя внимание то, что поверхность стоматоцитов в группе контроля и в группе с введением ПФ характеризовалась разнонаправленностью изменений T1 относительно исходного состояния (табл.). Эти результаты, а также отсутствие различий между дискоцитами и стоматоцитами по всем исследуемым параметрам в группе с введением ПФ, позволяют сделать заключение о том, что регистрируемые в настоящем исследовании показатели состояния поверхности клеточной мембраны эритроцита не связаны с изменением формы эритроцита: трансформацией дискоцита в стоматоцит.

С другой стороны, различия между дискоцитами и стоматоцитами в величинах периодов 1-го порядка, характеризующего состояние липидного бислоя, позволяет предположить, что при трансформации дискоцита в стоматоцит, воздействию на эритроцит гиповолемии и реперфузии происходят изменения в липидном бислое.

Можно полагать, что влияние ПФ на липидный бислой мембраны связан с усилением окисления NO [12, 13], в связи с чем уменьшается поступление NO в эритроцит [14, 15], и процесс перехода

decrease in the severity of anemia during PF administration [18].

Changes in the membrane lipid bilayer are likely to lead to an improvement in the ability of cell deformation; this fact has been supported by S.M. Radaev's study [19]. It studied the ability of RBC to pass through the cylindrical pores at a diameter comparable to the diameter of the capillary. This work demonstrated that PF improved the RBC filterability, despite the fact that the amount of stomatocytes in patients after trauma and blood loss significantly increased after PF administration. The literature data cited above lead to the assumption that changes in T1 values in discocytes and stomatocytes during PF administration found in this study are associated with changes in the membrane lipid bilayer, which increased the RBC deformability. PF prevents changes typical for hypoxic exposure and reperfusion.

Conclusion

The study showed that at baseline discocytes and stomatocytes possess different structural characteristics of RBC membrane in the spatial period of 600–1200 nm in the form of a longer period of space oscillations in stomatocytes vs. discocytes. Hypovolemia followed by the reinfusion of autoblood affects this parameter increasing the period of space oscillations both in discocytes and stomatocytes vs. the baseline. PF administration immediately after autoblood reinfusion at a dose of 3 ml/kg body weight leads to a significant reduction in the period of RBC membrane space oscillations both in discocytes

Fe² в Fe³ [16, 17] Об этом свидетельствует снижение выраженности анемии при введении ПФ [18].

Изменение липидного бислоя мембраны, вероятно, ведет к улучшению способности эритроцитов к деформации, что находит подтверждение в работе Радаева С.М. [19] по исследованию способности клетки проходить через цилиндрические поры, диаметр которых сопоставим с диаметром капилляра. Так, в этой работе было показано, что ПФ улучшает фильтруемость эритроцитов, несмотря на то, что количество стоматоцитов у больных, перенесших травму и кровопотерю, при введении ПФ значительно увеличивалось. Приведенные выше данные литературы позволяют сделать предположение о том, что установленные в настоящей работе изменения T1 дискоцитов и стоматоцитов при воздействии ПФ связаны с изменением липидного бислоя клетки, что способствует увеличению ее деформируемости. ПФ предотвращает изменения, свойственные гипоксическому и реперфузионному воздействию.

Заключение

Проведенное исследование показало, что дискоциты и стоматоциты в исходном состоянии имеют различные структурные характеристики клеточной мембраны эритроцита в пространственном диапазоне 600–1200 нм в виде большего периода колебаний у стоматоцитов по сравнению с дискоцитами. Гиповолемия и последующая реинфузия аутокрови оказывают воздействие на данный показатель, увеличивая период пространственных колебаний как у дискоцитов, так и у стоматоцитов по сравнению с исходным состоянием. Введение ПФ в дозе 3 мл/кг массы тела сразу после реинфузии аутокрови к 2 часам реперфузионного периода приводит к существенному умень-

and at stomatocytes. This effect was observed not only in comparison with the RBCs of animals who underwent hypovolemia and blood reinfusion without PF administration, but also in comparison with the values of this parameter at the baseline.

The results allowed to conclude that the value of the spatial period of oscillations in the range of 600–1200 nm reflecting the state of the lipid bilayer of RBC membrane was not associated with the transformation of discocyte into stomatocyte.

The literature data and findings of the present study led to the assumption that the reduction of the period of RBC membrane oscillations in the described space range was associated with a change in the lipid bilayer of the cell under the effect of PF, thus improving the deformability of the cells.

шению периода пространственных колебаний клеточной мембраны как у дискоцитов, так и у стоматоцитов не только по сравнению с эритроцитами животных, перенесших гиповолемию и реинфузию без введения ПФ, но и по сравнению с величинами этого показателя в исходном состоянии.

Совокупность результатов позволила сделать заключение о том, что величина пространственного периода в диапазоне 600–1200 нм, отражающего состояние липидного бислоя клеточной мембраны эритроцита, не связана с трансформацией дискоцита в стоматоцит.

Данные литературы и результаты настоящего исследования позволили сделать предположение о том, что уменьшение периода колебаний поверхности клеточной мембраны эритроцитов в данном пространственном диапазоне при воздействии ПФ сопряжены с изменением липидного бислоя клетки, что способствует улучшению деформируемости клеток.

Литература

1. Мороз В.В., Новодержкина И.С., Антошина Е.М., Афанасьев А.В., Рыжков И.А., Заржецкий Ю.В. Коррекция пойкилоцитоза и биохимических показателей крови при острой кровопотере. *Общая реаниматология*. 2015; 11 (3): 6–15. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2015-3-6-15>
2. Сергунова В.А., Манченко Е.А., Гудкова О.Е. Гемоглобин: модификация, кристаллизация, полимеризация (обзор). *Общая реаниматология*. 2016; 12 (6): 49–63. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2016-6-49-63>
3. Лазаренко Д.Ю., Ханевич М.Д., Софронов Г.А., Андреева Н.Б., Поддубский Г.А. Влияние перфторана на микроциркуляцию и реологические свойства крови у больных с гастродуоденальными кровотечениями. В кн.: Перфторуглеродные соединения в медицине и биологии. Пушchino; 2002: 30–35.
4. Кузнецова И.Н., Волкова С.Д., Рыбакова Л.П., Юрченко В.С., Кочеткова Г.А. Эмульсии перфторуглеродов влияют на морфо-функциональное состояние клеток крови – эритроцитов и лейкоцитов *in vitro*. *Вестн. службы крови России*. 2009; 2: 23–26.
5. Терешина Е.В., Афонин Н.Н. Особенности взаимодействия частиц эмульсий перфторсоединений с липидами в процессе циркуляции в кровеносном русле. *Хим.-фарм. журн.* 1994; 28 (8): 12–15.
6. Bessis M. Atlas of red blood cell shapes. N.-Y.: Springer-Verlag Berlin Heidelberg; 1974: 21–101.
7. Карташова Н.М., Кидалов В.Н., Наумова Э.М., Хадартцев А.А., Цогоев А.С. К вопросу о физиологической значимости изменений фор-

References

1. Moroz V.V., Novoderzhkina I.S., Antoshina E.M., Afanasyev A.V., Ryzhkov I.A., Zarzhetsky Y.V. Correction of poikilocytosis and blood biochemical indicators in acute blood loss. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2015; 11 (3): 6–15. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2015-3-6-15>. [In Russ., In Engl.]
2. Sergunova V.A., Manchenko E.A., Gudkova O.Y. Hemoglobin: modification, crystallization, polymerization (review). *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2016; 12 (6): 49–63. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2016-6-49-63>. [In Russ., In Engl.]
3. Lazarenko D.Yu., Khanevich M.D., Sofronov G.A., Andreyeva N.B., Poddubsky G.A. Effects of perftoran on microcirculation and blood rheology in patients with gastroduodenal bleeding. In: Perfluorocarbon compounds in medicine and biology. Pushchino; 2002: 30–35. [In Russ.]
4. Kuznetsova I.N., Volkova S.D., Rybakova L.P., Yurchenko V.S., Kochetkova G.A. Emulsions of perfluorocarbons affect the morphological and functional state of blood cells – red blood cells and white blood cells *in vitro*. *Vestnik Sluzhby Krovi Rossii*. 2009; 2: 23–26. [In Russ.]
5. Tereshina E.V., Afonin N.N. Features of the interaction of particles with the lipids PFCs emulsion during circulation in the bloodstream. *Khimiko-Farmatsevtichesky Zhurnal*. 1994; 28 (8): 12–15. [In Russ.]
6. Bessis M. Atlas of red blood cell shapes. N.-Y.: Springer-Verlag Berlin Heidelberg; 1974: 21–101.
7. Kartashova N.M., Kidalov V.N., Naumova E.M., Khadartsev A.A., Tsogoev A.S. On the question of the physiological significance of

- мы, ультраструктуры и флуоресценции эритроцитов периферической крови, трансформирующихся в стоматоциты. *Вестн. новых мед. технологий*. 2005; 12 (1): 8–11.
8. Kozlova E.K., Chernysh A.M., Moroz V.V., Kuzovlev A.N. Analysis of nanostructure of red blood cells membranes by space Fourier transform of AFM images. *Micron*. 2013; 44: 218–227. <http://dx.doi.org/10.1016/j.micron.2012.06.012>. PMID: 22854216
 9. Кононенко В.Л. Фликкер эритроцитов. 2. Результаты экспериментальных исследований. *Биол. мембраны*. 2009; 26 (6): 451–467.
 10. Мороз В.В., Черныш А.М., Козлова Е.К., Кирсанова А.К., Новодержкина И.С., Александрин В.В., Борщеговская П.Ю., Близняк У.А., Рысаева Р.М. Атомная силовая микроскопия структуры мембран эритроцитов при острой кровопотере и реинфузии. *Общая реаниматология*. 2009; 5 (5): 5–15. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2009-5-5>
 11. Takeuchi M., Miyamoto H., Sako Y., Komizu H., Kusumi A. Structure of the erythrocyte membrane skeleton as observed by atomic force microscopy. *Biophys. J.* 1998; 74 (5): 2171–2183. [http://dx.doi.org/10.1016/S0006-3495\(98\)77926-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0006-3495(98)77926-3). PMID: 9591644
 12. Rafikova O., Sokolova E., Rafikov R., Nudler E. Control of plasma nitric oxide bioactivity by perfluorocarbons: physiological mechanisms and clinical implications. *Circulation*. 2004; 110 (23): 3573–3580. <http://dx.doi.org/10.1161/01.CIR.0000148782.37563.F8>. PMID: 15557364
 13. Стародубцева М.Н. Термодинамические свойства мембран эритроцитов при окислительном стрессе. *Журн. Гродненского ГМУ*. 2009; 2: 66–67.
 14. Pacher P., Beckman J.S., Zander J. Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. *Physiol. Rev.* 2007; 87 (1): 315–424. <http://dx.doi.org/10.1152/physrev.00029.2006>. PMID: 17237348
 15. Kosaka H., Seiyama A. Physiological role of nitric oxide as an enhancer of oxygen transfer from erythrocytes to tissues. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1996; 218 (3): 749–752. <http://dx.doi.org/10.1006/bbrc.1996.0133>. PMID: 8579585
 16. Kozlova E., Chernysh A., Moroz V., Sergunova V., Zavalova A., Kuzovlev A. Nanoparticles of perfluorocarbon emulsion contribute to the reduction of methemoglobin to oxyhemoglobin. *Int. J. Pharm.* 2016; 497 (1–2): 88–95. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2015.11.035>. PMID: 26626224
 17. Зинчук В.В. Газотранспортная функция крови и NO. *Журн. Гродненского ГМУ*. 2009; 2: 34–37.
 18. Мороз В.В., Новодержкина И.С., Антошина Е.М., Афанасьев А.В., Рыжков И.А., Заржецкий Ю.В. Коррекция пойкилоцитоза и биохимических показателей крови при острой кровопотере. *Общая реаниматология*. 2015; 11 (3): 6–15. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2015-3-6-15>
 19. Мороз В.В., Атауллаханов Ф.И., Радаев С.М., Остапченко Д.А., Лисовская И.Л., Розенберг Ю.М. Влияние перфторана на морфологию и реологические свойства эритроцитов у больных с тяжелой травмой и кровопотерей. *Анестезиология и реаниматология*. 2001; 6: 22–25. PMID: 11855054
- changes in the shape, ultrastructure and the fluorescence of peripheral blood erythrocytes transforming into stomatocytes. *Vestnik Novykh Meditsinskikh Tekhnologii*. 2005; 12 (1): 8–11. [In Russ.]
8. Kozlova E.K., Chernysh A.M., Moroz V.V., Kuzovlev A.N. Analysis of nanostructure of red blood cells membranes by space Fourier transform of AFM images. *Micron*. 2013; 44: 218–227. <http://dx.doi.org/10.1016/j.micron.2012.06.012>. PMID: 22854216
 9. Kononenko V.L. Flicker of erythrocytes. 2. Results of experimental studies. *Biochemistry (Moscow) Suppl. Series A: Membrane and Cell Biology*. 2009; 3 (4): 372–387. <http://dx.doi.org/10.1134/S1990747809040035>. [In Russ., In Engl.]
 10. Moroz V.V., Chernysh A.M., Kozlova E.K., Kirsanova A.K., Novoderzhkina I.S., Aleksandrin V.V., Borshchegovskaya P.Yu., Bliznyuk U.A., Rysaeva R.M. Atomic force microscopy of the structure of red blood cell membranes in acute blood loss and reinfusion. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2009; 5 (5): 5–15. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2009-5-5>. [In Russ., In Engl.]
 11. Takeuchi M., Miyamoto H., Sako Y., Komizu H., Kusumi A. Structure of the erythrocyte membrane skeleton as observed by atomic force microscopy. *Biophys. J.* 1998; 74 (5): 2171–2183. [http://dx.doi.org/10.1016/S0006-3495\(98\)77926-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0006-3495(98)77926-3). PMID: 9591644
 12. Rafikova O., Sokolova E., Rafikov R., Nudler E. Control of plasma nitric oxide bioactivity by perfluorocarbons: physiological mechanisms and clinical implications. *Circulation*. 2004; 110 (23): 3573–3580. <http://dx.doi.org/10.1161/01.CIR.0000148782.37563.F8>. PMID: 15557364
 13. Starodubtseva M.N. Temperature dependent mechanical properties of erythrocyte membranes in oxidative stress. *Zhurnal Grodnenskogo GМУ*. 2009; 2: 66–67. [In Russ.]
 14. Pacher P., Beckman J.S., Zander J. Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. *Physiol. Rev.* 2007; 87 (1): 315–424. <http://dx.doi.org/10.1152/physrev.00029.2006>. PMID: 17237348
 15. Kosaka H., Seiyama A. Physiological role of nitric oxide as an enhancer of oxygen transfer from erythrocytes to tissues. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1996; 218 (3): 749–752. <http://dx.doi.org/10.1006/bbrc.1996.0133>. PMID: 8579585
 16. Kozlova E., Chernysh A., Moroz V., Sergunova V., Zavalova A., Kuzovlev A. Nanoparticles of perfluorocarbon emulsion contribute to the reduction of methemoglobin to oxyhemoglobin. *Int. J. Pharm.* 2016; 497 (1–2): 88–95. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2015.11.035>. PMID: 26626224
 17. Zinchuk V.V. Blood oxygen transport and NO. *Zhurnal Grodnenskogo GМУ*. 2009; 2: 34–37. [In Russ.]
 18. Moroz V.V., Novoderzhkina I.S., Antoshina E.M., Afanasyev A.V., Ryzhkov I.A., Zarzhetsky Yu.V. Correction of poikilocytosis and blood biochemical indicators in acute blood loss. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2015; 11 (3): 6–15. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2015-3-6-15>. [In Russ., In Engl.]
 19. Morozov V.V., Ataulkhanov F.I., Radaev S.M., Ostapchenko D.A., Lisovskaia I.L., Rozenberg Iu.M. Effect of perfloran on morphology and rheologic properties of erythrocytes in patients with severe trauma and blood loss. *Anesteziologiya i Reanimatologiya*. 2001; 6: 22–25. PMID: 11855054. [In Russ.]

Поступила 20.01.17

Received 20.01.17

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*.

Функциональная активность нейтрофилов при ожоговом сепсисе

И. В. Образцов¹, М. А. Годков², В. В. Кулабухов³,
Г. А. Владимирова⁴, Д. Ю. Измайлов⁴, Е. В. Проскурнина⁴

¹ Государственный научный центр колопроктологии им. А. Н. Рыжих Минздрава России,
Россия, 123423, г. Москва, ул. Салыма Адила, д. 2

² НИИ скорой помощи им. Н. В. Склифосовского,
Россия, 129090, г. Москва, Большая Сухаревская пл., д. 3

³ Институт хирургии им. А. В. Вишневского Минздрава России
Россия, 117997, г. Москва, ул. Большая Серпуховская, д. 27

⁴ Факультет фундаментальной медицины, Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова,
Россия, 119192, г. Москва, Ломоносовский пр-т, д. 31-5

Functional Activity of Neutrophils in Burn Sepsis

Igor V. Obraztsov¹, Mikhail A. Godkov², Vladimir V. Kulabukhov³, Galina A. Vladimirova⁴,
Dmitry Yu. Izmailov⁴, Elena V. Proskurnina⁴

¹ A. N. Ryzhykh State Scientific Center of Coloproctology, Russian Ministry of Health,
2 Salam Adil Str., Moscow 123423, Russia

² N. V. Sklifosovsky Research Institute of First Aid,
3 Bolshaya Sukharevskaya Square, Moscow 129090, Russia

³ A. V. Vishnevsky Institute of Surgery, Russian Ministry of Health,
27 Bolshaya Serpuhovskaya, Moscow 117997, Russia

⁴ Faculty of Fundamental Medicine, Lomonosov Moscow State University,
31-5 Lomonosovsky Avenue, Moscow 119192, Russia

Тенденция к развитию и генерализации инфекции у пациентов с тяжелой термической травмой реализуется за счет комплексного влияния термической травмы на иммунную систему. Особенно страдает фагоцитарная система, представленная, в первую очередь, нейтрофильными гранулоцитами.

Цель исследования: определение динамики изменения функциональной активности нейтрофилов у пациентов с термической травмой, а также ее прогностической значимости при развитии гнойно-септических осложнений ожоговой болезни.

Материалы и методы. Функциональную активность нейтрофилов оценивали на основе спонтанного и индуцированного хемилюминесцентного ответа цельной крови при последовательной стимуляции форбол-12-миристан-13-ацетатом (ФМА) и N-формил-метионил-лейцил-фенилаланином (фМЛФ). Было обследовано 34 пациента с ожоговой болезнью при разной тяжести течения ожоговой болезни и в динамике наблюдения.

Результаты. Разработанная новая методика была использована для исследования функциональной активности нейтрофилов при разной тяжести течения болезни и в динамике. В результате анализа хемилюминесцентных кривых развития респираторного взрыва нейтрофилов выявлены показатели, характеризующие состояние иммунной системы, а именно: одно- или двухфазный ответ на стимул, удельная активность нейтрофила «быстрой фазы», удельная активность нейтрофила «медленной фазы».

Заключение. Результаты позволили выделить тенденции изменения функциональной активности нейтрофилов при ожоговой болезни. Предложены диагностические и прогностические показатели функциональной активности нейтрофилов для оценки тяжести болезни и прогноза септического процесса.

Ключевые слова: хемилюминесценция; функциональная активность нейтрофилов; ожоговая травма; сепсис

A complex effect of thermal trauma on the immune system triggers the tendency to develop and generalize infection in patients with severe thermal trauma. The phagocytic system, which is represented, first of all, by neutrophilic granulocytes, is significantly altered.

Objective: to determine the dynamics of changes in the functional activity of neutrophils in patients with thermal trauma, as well as its prognostic significance in the development of purulent-septic complications of a burn disease.

Materials and methods. The functional activity of neutrophils was assessed by spontaneous and induced chemiluminescence responses of whole blood sequentially stimulated with phorbol-12-myristate-13-acetate

Адрес для корреспонденции:

Елена Проскурнина
E-mail: proskurnina@gmail.com

Correspondence to:

Elena Proskurnina
E-mail: proskurnina@gmail.com

(PMA) and N-formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine (fMLP). 34 patients with a burn disease of different severity were dynamically examined during observation.

Results. The newly developed technique was applied to study the responses of whole blood of patients with burn disease to stimuli; data on the functional activity of neutrophils depending on various severities of the disease and response dynamics were obtained. Analysis of chemiluminescent curves of the development of respiratory explosion of neutrophils helped to reveal parameters of the immune system state, namely: a one- or two-phase response to a stimulus, a «rapid phase» neutrophil specific activity, and a «slow phase» neutrophil specific activity.

Conclusion. The results revealed trends in alterations of functional activity of neutrophils in burn disease. Diagnostic and prognostic indices of the functional activity of neutrophils for assessing the severity of the disease and the prognosis of the septic process were suggested.

Key words: chemiluminescence, neutrophil functional activity; burn injury; sepsis

DOI:10.15360/1813-9779-2017-2-40-51

Введение

Проблема лечения ожоговой болезни и ее осложнений не теряет актуальности до настоящего времени [1]. В структуре летальности тяжелообожженных ведущее место занимает инфекция, приводящая к развитию пневмонии и сепсиса [2]. Развитие и генерализация инфекции у тяжелообожженных реализуется за счет влияния термической травмы на иммунную систему; в особенности страдает фагоцитарное звено иммунитета [3–5]. Дисфункция фагоцитов проявляется в нарушении уничтожения бактерий, изменении уровня секреции интерлейкинов и цитокинов макрофагами, активации и дегрануляции нейтрофилов с развитием окислительного стресса [6–8]. Описанные механизмы обуславливают системное повреждение тканей, приводящее к развитию полиорганной недостаточности и гибели пациента.

Поэтому оценка функции фагоцитарного звена иммунитета целесообразна на всех стадиях ожоговой болезни. При этом особую роль играет определение активности нейтрофилов как ключевых эффекторных клеток, ответственных за развитие воспаления и гнойно-септических осложнений при ожоговой болезни [1–3]. Выявление нейтрофильной дисфункции позволит своевременно прогнозировать течение ожоговой болезни и развитие гнойно-септических осложнений [9–11].

Существует целый ряд методик оценки бактерицидности нейтрофилов [12, 13]. Большинство из них или трудоемки, или субъективны, что исключает их использование в качестве скрининговых тестов при исследовании больших контингентов больных или пострадавших. В клинических экспериментальных исследованиях часто используется метод хемилюминесцентного (ХЛ) анализа нейтрофилов [14, 15]. Такой подход позволяет регистрировать клеточную активацию в процессе ее развития; он обладает высокой чувствительностью и исключает субъективный фактор работы оператора. Авторами ранее разработан новый подход ХЛ-анализа цельной крови, основанный на активации нейтрофилов последователь-

Introduction

Treating the burn disease and its complications remains a current task [1]. In the lethality structure of severely burnt, the major role belongs to an infection causing the development of sepsis and pneumonia [2]. Infection in severely burnt patients develops and generalizes thru the influence of thermal trauma on the immune system, particularly, to the phagocytic link of immunity suffers [3–5]. Dysfunction of phagocytes is manifested by damage and destruction of bacteria, changes in the level of secretion of interleukins and cytokines by macrophages, activation and degranulation of neutrophils followed by the development of oxidative stress [6–8]. The described mechanisms cause systemic tissue damage that results in the development of multi-organ failure and death of a patient.

Therefore, the phagocytic function of immunity should be assessed at all stages of the burn disease. It is particularly important to determine the activity of neutrophils as key effector cells responsible for developing inflammation and purulent-septic complications of burn disease [1–3]. The established neutrophilic dysfunction facilitates a timely prediction of the course of burn disease and development of purulent-septic complications [9–11].

There is a number of methods for evaluating bactericidal activity of neutrophils [12, 13]. Most of them are either laborious or subjective, which excludes their use as screening tests for the study of large populations of patients or victims. In clinical experimental studies, the method of chemiluminescent (CL) analysis of neutrophils is often applied [14, 15]. This approach allows recording cellular activation in during its development; it has a high sensitivity and excludes the subjective factor of the operator's work. The authors have developed a new approach for the whole blood CL analysis based on the activation of neutrophils by sequential application of two stimuli, phorbol-myristate acetate (PMA) and N-formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine (fMLP), possessing different mechanisms of action [16]. This approach involves time-dependent registration of superoxide radical synthesis by neu-

ным внесением двух стимулов с различным механизмом действия: форбол-миристан-ацетата (ФМА) и N-формил-метионил-лейцил-фенилаланина (фМЛФ) [16]. Этот подход, использующий регистрацию синтеза супероксид-радикала нейтрофилами во времени (кинетическая ХЛ), позволил повысить информативность метода за счет новой количественной информации (удельной радикал-продуцирующей активности нейтрофила, общей радикальной активности нейтрофилов, показателей спонтанной активности, показателей стимулированной активности, коэффициента активации, коэффициента затухания), а также улучшить точность метода за счет повышения воспроизводимости при работе с одновременной регистрацией проб в 12-канальном приборе. В настоящей работе оценена клиническая значимость этого метода у пациентов с ожоговой травмой в зависимости от тяжести травмы, состояния и исхода, в том числе и для ранней диагностики гнойно-септических осложнений.

Материал и методы

В исследовании участвовали 34 пациента из отделений ожоговой реанимации НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского и Института хирургии им. А.В. Вишневского. Критерии включения: пациенты с ожогами пламенем, возраст менее 70 лет. Критерии исключения: возраст более 70 лет, онкологическая или гематологическая патология, туберкулез, ВИЧ-инфекция. Средний возраст обследованных составил 32,4 года при стандартном отклонении 11 лет (коэффициент вариации $V=35\%$), что характеризует группу как умеренно неоднородную по возрасту. Соотношение мужчины/женщины=10:7. Схема исследования приведена на рис. 1.

Суммарная площадь ожогов составила 10–54% (35,2% в среднем) поверхности тела, площадь глубоких ожогов – 0,5–40% (12% в среднем), индекс Франка (ИФ) – 10–130 (64,5 в среднем). Все пациенты получили стандартизованную терапию.

Планирование и организация эксперимента проводили в соответствии с требованиями надлежащей клинической практики. Определение минимального размера выборки проводили таким образом, чтобы в каждом случае обеспечить применимость объективных критериев статистической мощности и клинической правдоподобности исследования. Выборку реанимационных больных сформировали простым слепым методом (отсутствие субъективного влияния испытуемого на результаты исследования; объективно измеряемые приборами результаты лабораторных тестов). В данном случае значение простого слепого метода определяется тем, что результаты измерений ХЛ ответа являются объективно измеряемыми прибором объективными оценками, в отличие от качественных критериев исхода эксперимента (таких, например, как боль, выраженность отеков или качество жизни пациента), оценка которых проводится исследователем субъективно. Сроки обследования составили 1–2 сутки, 3–7 сутки, 8–15 сутки, 15+ сутки после травмы.

trophils (kinetic CL) that allowed to enhance the informative value of the results due to increased quantitative data (specific radical-producing neutrophil activity, total radical neutrophil activity, spontaneous activity, stimulated activity, activation coefficient, attenuation coefficient) and improved accuracy of the method due to increased reproducibility because of simultaneous recording of samples by a 12-channel instrument. In this study the clinical significance of this method has been evaluated in patients with burn injury, depending on the severity of the injury, condition and outcome.

Materials and Methods

The study included 34 patients from burn resuscitation departments of N.V. Sklifosovsky Research Institute of Emergency Care and A.V. Vishnevsky Institute of Surgery. Inclusion criteria: patients with flame burns, less than 70 years age. Exclusion criteria: age over 70 years, presence of oncological or hematological diseases, tuberculosis, HIV infection. The average age of the examinees was 32.4 years with a standard deviation of 11 years (coefficient of variation $V=35\%$), which characterized the group as moderately heterogeneous in age. The ratio of male/female=10:7. The design of the study is shown in Fig. 1.

The total area of burns was 10–54% (35.2% on average) of the body surface, the area of deep burns was 0.5–40% (12% on average), the Frank index (FI) was 10–130 (64.5 on average). All patients received standard therapy.

The experiment was designed and arranged in compliance with the requirements of good clinical practice. The definition of the minimum sample size was performed so that in each case the applicability of objective criteria for statistical power and clinical validity of the study could be ensured. The sample of resuscitation patients was formed by a simple blind method (no subjective influence of the subject on the results of the study, laboratory tests that are objectively measured using instruments). In this case, the value of a simple blind method is determined by the fact that the results of measuring the CL response are objective evaluations objectively measurable using instruments, in contrast to qualitative criteria for the experiment outcome (for example, pain, severity of edema or quality of the patient's life). The terms of the examination were 1–2 days, 3–7 days, 8–15 days, and 15+ days after injury.

All subjects were divided into groups according to the severity of the thermal injury according to the Frank Index and by gender (Table 1). Diagnosis of burn shock was performed based on the values of the shock index adjusted for age [17]; shock was observed in all patients with $FI>70$. The systemic inflammatory response syndrome (SIRS) was clinically determined according to the criteria [18]; the dynamic assessment of multiple organ failure was performed using the SOFA (Sequential Organ Failure Assessment) scale. SIRS developed in 18 patients, whereas diagnosis of sepsis was established in six of those patients based on an increase in the SOFA value by 2 or more associated with a persistent infection [16].

The following reagents were used in the chemiluminescent analysis: luminol (Sigma-Aldrich); Hanks solution with glucose without dye (Chumakov Polymyelitis and

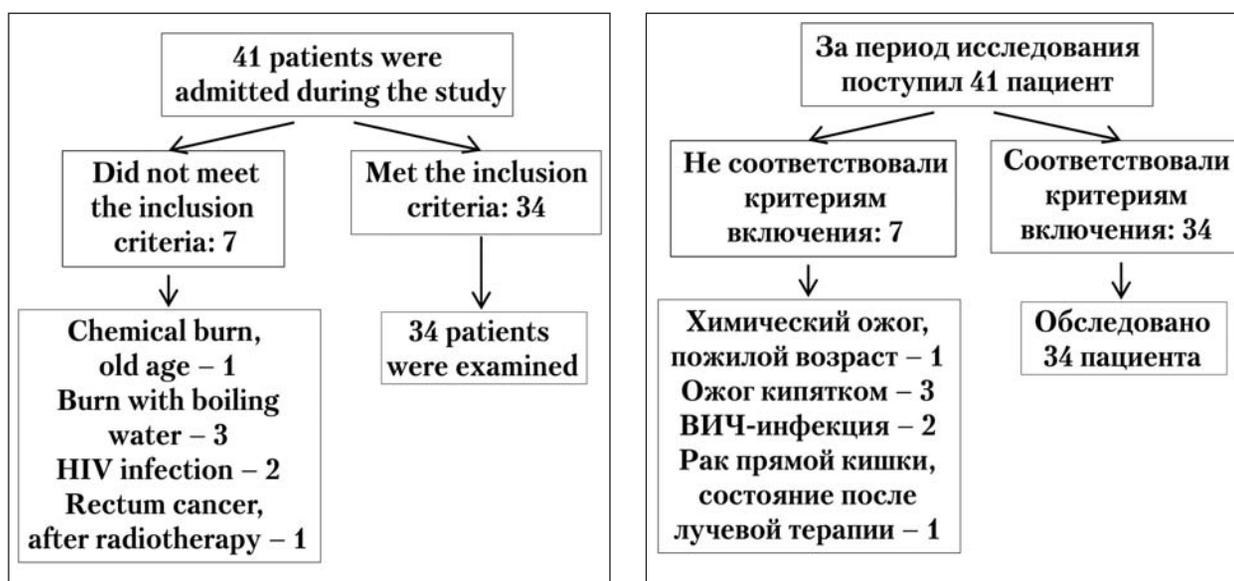


Fig. 1. The scheme of the patients' inclusion in the study.

Рис. 1. Схема включения больных в исследование.

Таблица 1. Обследованные пациенты с термической травмой.

Table 1. Examined patients with thermal trauma.

| Patients | Frank Index | | Total (n=34) |
|----------|-------------|------|--------------|
| | < 70 | > 70 | |
| Men | 12 | 8 | 20 |
| Women | 6 | 8 | 14 |

Примечание. Для табл. 1, 3: Patients – больные; Women – женщины; Men – мужчины; Frank Index (FI) – индекс Франка (ИФ); Total – всего.

Совокупность обследованных разделили на группы в соответствии с тяжестью термической травмы по индексу Франка и по гендерному признаку (табл. 1). Диагностику ожогового шока провели на основании значений шокового индекса с поправкой на возраст [17]; шок наблюдали у всех пациентов с ИФ > 70. Клинически определяли синдром системного воспалительного ответа (ССВО) согласно критериям [18]; динамическую оценку полиорганной недостаточности (ПОН) выполнили по шкале SOFA (Sequential Organ Failure Assessment). При этом ССВО развился у 18 пациентов, среди которых диагноз «сепсис» был установлен у 6 больных на основании увеличения значения SOFA на 2 и более при персистирующем очаге инфекции [16].

Для проведения хемилюминесцентного анализа использовали следующие реактивы: люминол (Sigma-Aldrich); раствор Хенкса с глюкозой без красителя (Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П. Чумакова РАМН), стабилизированный 2 мМ HEPES; N-формил-метионил-лейцил-фенилаланин (фМЛФ), форбол-12-миристан-13-ацетат (ФМА) (все Sigma-Aldrich).

Хемилюминесцентная методика оценки функциональной активности нейтрофилов [16]: Оценку функциональной активности нейтрофилов проводили в соответствии с разработанным ранее подходом, основанным на двухстадийной стимуляции нейтрофилов при последовательном внесении ФМА и фМЛФ.

Во всех опытах взятие 5 мл крови осуществляли из кубитальной вены в вакутейнеры с гепарином (конеч-

Viral Encephalitis Institute, RAMS), stabilized with 2 mM HEPES; N-formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine (fMLF), phorbol-12-myristate-13-acetate (PMA) (all Sigma-Aldrich).

Chemiluminescent method for assessing the functional activity of neutrophils [16]; the functional activity of neutrophils was evaluated following the previously developed approach that included two-stage stimulation of neutrophils with the sequential application of PMA and fMLF.

Briefly, in all the experiments, 5 ml of blood was taken from the cubital vein to the vacuainers with heparin (the final concentration of heparin was 5 U/ml). The blood samples were stored for up to two hours before analysis. 450 ml of medium, 25 ml of 1 mM luminol solution (final concentration $c_l=45$ mM), and 25 ml of whole blood were injected into the chemiluminometer cuvette and spontaneous chemiluminescence was recorded for 10 minutes. 50 ml of 0.5 mg/ml PMA ($c_{PMA}=0.081$ nM) was added. After 20 minutes of incubation 55 ml of 100 mg/ml fMLP ($c_{fMLP}=10$ nM) was administered and the CL response was recorded for at least 60 minutes.

The form of kinetic curves and analytical index (the amplitude of the CL signal after stimulation of PMA + fMLF (Fig. 1) normalized by the number of neutrophils were studied. The data were compared with clinical observations and laboratory results.

Statistical processing of the data and graphical representation of the results was performed by standard software products, Excel packages with StatPad application (Microsoft, USA) and STATISTICA (StatSoft, USA).

ная концентрация гепарина — 5 ЕД/мл). Образцы крови пациентов хранили до анализа не более двух часов.

В кювету хемилуминометра вносили 450 мкл среды, 25 мкл 1 мМ раствора люминола (конечная концентрация $c_{\text{л}}=45$ мкМ), 25 мкл цельной крови и регистрировали спонтанную хемилуминесценцию в течение 10 минут. Добавляли 50 мкл 0,5 мкг/мл ФМА ($c_{\text{ФМА}}=0,081$ нМ). После 20 минут инкубации вводили 55 мкл 100 мкМ фМЛФ ($c_{\text{фМЛФ}}=10$ мкМ) и регистрировали ХЛ-ответ в течение не менее 60 минут.

Изучали форму кинетических кривых и аналитический показатель — амплитуду ХЛ-сигнала после стимуляции ФМА+фМЛФ (рис. 1), нормированную на количество нейтрофилов. Данные сопоставляли с клиническими наблюдениями и результатами лабораторных исследований.

Для статистической обработки данных и графического представления результатов использовали стандартные программные продукты: пакеты Excel (с приложением StatPad) (Microsoft, США) и STATISTICA (StatSoft, США). Для определения однородности изучаемых показателей анализировали полученные величины по отношению к нормальному ожидаемому распределению с использованием критерия Шапиро-Уилка. Для сравнения групп использовали параметрические (с помощью *t*-критерия Стьюдента) и непараметрические (с помощью критерия Манна-Уитни) методы статистической обработки. Результаты исследования для переменных с нормальным распределением представлены в формате $M \pm \sigma$ (M — средняя арифметическая, σ — стандартное отклонение). Для переменных с иным распределением указаны медиана и интерквартильный размах. Критическое значение уровня значимости p принималось равным 0,05.

Результаты и обсуждение

Для оценки функциональной активности нейтрофилов у пациентов с ожоговой болезнью была применена разработанная нами ХЛ-методика с двухстадийной стимуляцией нейтрофилов, при помощи которой ранее было обследовано 90 практически здоровых доноров. Во всех случаях для доноров получали единообразные кинетические кривые развития ХЛ, аналогичные кривой на рис. 1, а. После предстимуляции ФМА и введения фМЛФ наблюдали резкий рост свечения, который можно назвать «быстрой» вспышкой. Для количественного описания развития ФМА+фМЛФ-стимулированной ХЛ рассчитывали нормированную амплитуду сигнала быстрой вспышки $A_{\text{фМЛФ}}^*$ (максимальная интенсивность, деленная на число нейтрофилов). Референсный интервал для этого показателя приведен в табл. 2.

При обследовании больных наблюдали три варианта развития ХЛ-кривой. У пациентов с легкими неосложненными ожогами или на этапе реконвалесценции кинетика развития ХЛ соответствовала профилям, полученным от здоровых доноров (рис. 1, а). Однако в осложненных и тяжелых случаях наблюдали развитие кинетики

Normality of distribution of variables were analyzed by Shapiro-Wilk test. To compare the groups, parametric (Student's *t*-test) and non-parametric (Mann-Whitney test) were used. For variables with normal distribution data were calculated as $M \pm \sigma$ (M is the arithmetic mean, σ is the standard deviation). For variables with a different distribution, the median and the interquartile range were calculated. The critical value of P to determine significance between groups was 0.05.

Results and Discussion

To assess the functional activity of neutrophils in patients with burn disease we applied the developed CL method with two-stage neutrophil stimulation, which was previously used to examine 90 practically healthy donors. In all cases uniform kinetic curves for the development of CL were obtained for the donors (analogous to the curve in Fig. 1, a). After the pre-stimulation of PMA and the introduction of fMLP a sharp increase in luminescence was observed that can be called a «rapid» flash. To provide a quantitative description of the development of PMA + fMLF-stimulated CL, the normalized amplitude of the rapid flash signal A_{fMLF}^* (the maximum intensity divided by the number of neutrophils) was calculated. The reference interval for this indicator is presented in Table 2.

Three ways of developing the CL-curve were observed when examining the patients. In patients with mild uncomplicated burns or at the stage of convalescence, the kinetics of CL development corresponded to the profiles obtained from healthy donors (Fig. 1, a). However, in complicated and severe cases the development of kinetics of another type was observed: after a «rapid» flash an additional intense «slow» flash occurred (Fig. 2, a). In some cases, the intensity of the «slow» flash of CL was so high that it made it impossible to determine the amplitude of the «rapid» flash (Fig. 2, c).

The development of a «slow» flash of CL in burnt patients was recorded in only 20 of 34 patients (60%). In patients with the systemic inflammatory response syndrome (SIRS) and persistent infection slow kinetics was recorded in 14 of 18 (80%), in patients without SIRS — in 6 of 16 (38%). In general, in half of men with $FI < 70$ the slow kinetics of the CL response was identified starting from the 3rd day of the disease and it reached the highest amplitude values on the 3rd–7th day after the trauma. In women with $FI < 70$, the slow kinetics was not determined. In the group of severely burnt men and women with $FI > 70$ the slow kinetics of the CL response was recorded in all patients starting from Day 3 of the disease, and in some patients from Day 1 (Table 3).

The normalized amplitudes of the rapid and slow responses to fMLF ($A_{\text{fMLF-b}}^*$ and $A_{\text{fMLF-m}}^*$) were calculated for the examined patients. For men and women with an $FI < 70$ the normalized amplitude of

Таблица 2. Статистические данные показателя $A^*_{\text{фМЛФ}}$, характеризующего функциональную активность нейтрофилов ($n=90$).**Table 2. The statistical data of the A^*_{fMLF} index characterizing the functional activity of neutrophils ($n=90$).**

| Index | Median value | Interquartile range | Reference interval (2.5–97.5, percentile) |
|------------------------------------|----------------------|---|--|
| $A^*_{\text{fMLP}}, \text{V/cell}$ | $4.13 \cdot 10^{-5}$ | $2.31 \cdot 10^{-5} - 5.95 \cdot 10^{-5}$ | $0.70 \cdot 10^{-5} - 14.20 \cdot 10^{-5}$ |

Примечание. Для табл. 2, 3: $A^*_{\text{fMLP}}, \text{V/cell}$ – $A^*_{\text{фМЛФ}}, \text{В/кл}$; Index – показатель; Median – медиана; Interquartile range – интерквартильный размах; Reference interval – референсный интервал; percentile – процентиля.

Таблица 3. Показатели функциональной активности нейтрофилов у пациентов с ожоговой травмой.**Table 3. Indicators of the functional activity of neutrophils in patients with burn injury.**

| Index | Values of index at the day of study | | | |
|------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------|-----------|------------|
| | 1st–2nd | 3d–7th | 8–15th | 15th+ days |
| Men, FI<70, n=12 | | | | |
| $A^*_{\text{fMLP}}, \text{V/cell}$ | Decreased in 2 patients | Within RI | Within RI | Within RI |
| SF | 0 | 6 | 6 | 6 |
| Men, FI>70, n=8 | | | | |
| $A^*_{\text{fMLP}}, \text{V/cell}$ | Decreased in 4 patients | Decreased in 2 patients | Within RI | Within RI |
| SF | 2 | 6 | 8 | 8 |
| Women, FI<70, n=8 | | | | |
| $A^*_{\text{fMLP}}, \text{V/cell}$ | Within RI | Within RI | Within RI | Within RI |
| SF | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Women, FI>70, n=6 | | | | |
| $A^*_{\text{fMLP}}, \text{V/cell}$ | Decreased in 4 patients | Decreased in 2 patients | Within RI | Within RI |
| SF | 2 | 6 | 6 | 6 |

Note. RI – Reference Interval; SF – «Slow» Flash.

Примечание. Values of index at the day of study – значения показателя по суткам исследования; Decreased – снижен; Within – в пределах; RI – референсный интервал; SF – «медленная» вспышка.

другого типа – после «быстрой» вспышки возникла дополнительная интенсивная «медленная» вспышка (рис. 2, а). В некоторых случаях интенсивность «медленной» вспышки ХЛ была настолько высокой, что делала невозможным определение значения амплитуды «быстрой» вспышки (рис. 2, в).

Развитие «медленной» вспышки ХЛ у обожженных зафиксировали всего в 20 наблюдениях из 34 (60%). При этом у больных с синдромом системного воспалительного ответа (ССВО) при персистирующем очаге инфекции медленная кинетика была зарегистрирована в 14 наблюдениях из 18 (80%), у больных без ССВО – в 6 из 16 (38%). В целом, у половины мужчин с ИФ<70 медленная кинетика ХЛ-ответа определялась, начиная с 3-х суток заболевания, и достигала наивысших значений амплитуды на 3–7 сутки после травмы. У женщин с ИФ<70 медленная кинетика не определялась. В группе тяжело обожженных мужчин и женщин с ИФ>70 медленная кинетика ХЛ-ответа была зарегистрирована у всех пациентов, начиная с 3-х суток заболевания, а у некоторых пациентов и с 1-х суток (табл. 3).

Рассчитаны нормированные амплитуды быстрого и медленного ответа на фМЛФ ($A^*_{\text{фМЛФ-б}}$ и $A^*_{\text{фМЛФ-м}}$) у обследованных обожженных. Для мужчин и женщин с ИФ<70 нормированная амплитуда быстрого ответа $A^*_{\text{фМЛФ-б}}$ находится в пределах референсного интервала, для мужчин и женщин с

the rapid response of $A^*_{\text{fMLF-b}}$ was within the reference interval, for men and women with FI>70 in several cases in the first 7 days of the disease this index decreased and then returned to normal (Table 3).

The mean values of the normalized amplitude of the slow flash ($A^*_{\text{fMLF-m}}$) were as follows: $1.02 \cdot 10^{-5}$ W/Cl for patients with sepsis and $0.85 \cdot 10^{-5}$ W/Cl for patients without sepsis; the differences were statistically significant by the nonparametric Mann-Whitney test ($U=236, z=5.7, P<0.001$).

The analysis of normalized amplitudes of rapid and slow response ($A^*_{\text{fMLF-b}}$ and $A^*_{\text{fMLF-m}}$) was performed depending on the number of neutrophils in the blood of patients. The nature of the connection between $A^*_{\text{fMLF-b}}$ and the neutrophil count in burnt people corresponded to that of healthy donors: with an increase in the neutrophil count from 2 to 10 million/ml, the normalized amplitude of the rapid CL response («specific» activity of the «rapid» neutrophil) remained constant.

The correlation field for $A^*_{\text{fMLF-m}}$ and the neutrophil count in the blood of the examined patients is shown in Fig. 2. The main part of the points of individual observations forms a cloud with low entropy modeled by linear dependence ($R^2=70.28\%$). All outlier values were those determined in patients with sepsis (total of six people, two of whom died). Pearson correlation of A^*_{fMLF} and the neutrophil count in the blood of the examined patients was +0.84, demonstrating a trend to be statistically sig-

Sepsis

ИФ>70 в нескольких случаях в первые 7 дней болезни этот показатель снижен, а потом приходит в норму (табл. 3).

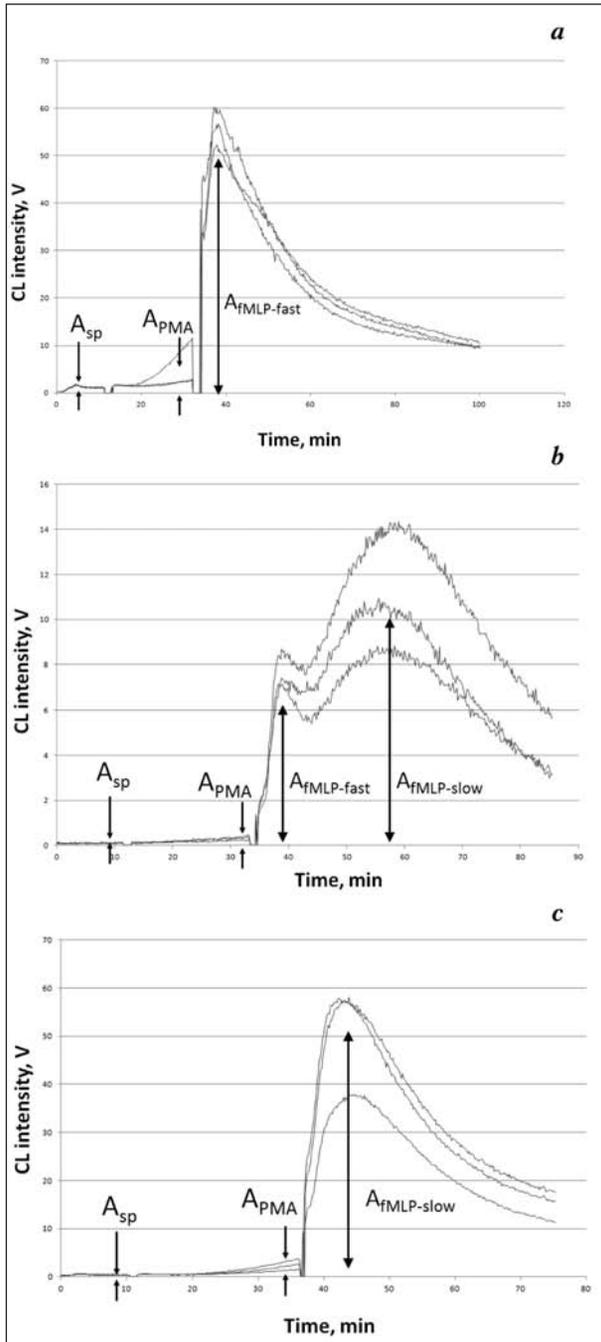


Рис. 2. Хемилуминограммы крови пациентов с ожоговой травмой при двойной последовательной стимуляции.

Fig. 2. Chemiluminograms of blood of patients with burn injury with double consecutive stimulation.

Note. A_{sp} – the amplitude of the spontaneous CL response; A_{PMA} – the amplitude of the response induced by PMA (priming); A_{fMLP} – the amplitude of the rapid response induced by fMLP after priming. *a* – the «rapid» kinetics prevails (flame burn 2–3AB at 50%, 3B – 40%, Day 3 of the disease); *b* – both «rapid» and «slow» kinetics of neutrophils are expressed (flame burn 2–3AB at 40%, 3B – 20%, Day 21 of the disease); *c* – the «slow» kinetics of CL-response of neutrophils prevails (flame burn 2–3AB at 25%, 3B – 10%, Day 5 of disease).

Примечание. Cl intensity, V – интенсивность ХЛ; Time, min – время, мин; fast – быстрая; slow – медленная (также для рис. 3). A_{sp} – амплитуда спонтанного ХЛ ответа; A_{PMA} – амплитуда ответа, индуцированного ФМА; A_{fMLP} – амплитуда ответа, индуцированного фМЛФ после прайминга. *a* – превалирует «быстрая» кинетика (ожог пламенем 2–3АБ ст. 50%, 3Б – 40%, 3-е сутки заболевания); *b* – выражена как «быстрая», так и «медленная» кинетика нейтрофилов (ожог пламенем 2–3АБ ст. 40%, 3Б – 20%, 21-е сутки заболевания); *c* – превалирует «медленная» кинетика ХЛ-ответа нейтрофилов (ожог пламенем 2–3АБ ст. 25%, 3Б – 10%, 5-е сутки заболевания).

nificant ($\alpha=0.1\%$). In other words, the «specific» activity of the «slow» neutrophil almost linearly grows with the increase in the number of neutrophils in patients without the diagnosis of sepsis by the criteria of *Sepsis-3*.

Comparison of CL data with other immunological parameters in burnt patients demonstrated significant decrease in the number of T-lymphocytes. The level of a decrease in most observations depended on the severity of the injury, severity of toxemia, and burn infection. In a favorable disease course, the absolute numbers of T-cells were restored. The content of B-lymphocytes in the examined patients was within the limits of normal values or was reduced. All subjects had a significant increase in the total CEC content at all stages of the disease. This excess was due to an increase in the number of medium and small-sized CECs; the number of large CECs, to the contrary, was reduced or was within the range of normal values. The increase in the content of large CECs was observed only in three of the examined patients. Statistical analysis (Pearson correlation coefficient) showed no association between studied immunological parameters and neutrophil CL response index.

The observed deviations of the CL-response in burnt patients are confirmed by literature data on a serious dysfunction of phagocytosis in patients with burn disease. A significant increase in the non-standardized amplitude indices at various stages of the analysis was due to a massive release of neutrophils from the bone marrow into the bloodstream due to burn toxemia and septicotoxemia. It is indicative of an increase in the overall level of production of reactive oxygen species (ROS) by blood stream cells. Therefore, experimental data are in agreement with the published data on the induction of severe oxidative stress in patients with thermal trauma that contribute to systemic disturbances of homeostasis and organ dysfunction [1, 17].

On the other hand, the registered cases of normalized indices of CL-grams of burnt patients within the limits of the reference interval or below the norm indicate the presence of normergic and even hypoergic oxidative metabolism of neutrophils. This

Средние значения нормированной амплитуды медленной вспышки ($A^*_{\text{фмлф-м}}$) составили $1,02 \cdot 10^{-5}$ В/кл для септических пациентов и $0,85 \cdot 10^{-5}$ В/кл для пациентов без сепсиса; различия статистически значимы по непараметрическому критерию Манна-Уитни ($U=236$, $z=5,7$, $p<0,001$).

Провели анализ нормированных амплитуд быстрого и медленного ответа ($A^*_{\text{фмлф-б}}$ и $A^*_{\text{фмлф-м}}$) в зависимости от числа нейтрофилов в крови больных. Характер связи между $A^*_{\text{фмлф-б}}$ и содержанием нейтрофилов у обожженных соответствует таковому у здоровых доноров: при увеличении содержания нейтрофилов с 2 до 10 млн/мл нормированная амплитуда быстрого ХЛ-ответа («удельная» активность «быстрого» нейтрофила) остается постоянной.

Поле корреляции $A^*_{\text{фмлф-м}}$ и содержания нейтрофилов в крови обследованных больных представлено на рис. 2. Основная часть точек индивидуальных наблюдений формирует облако с низкой энтропией, моделируемое линейной зависимостью ($R^2=70,28\%$). Все выделяющиеся наблюдения представляют собой измерения у пациентов с диагностированным сепсисом (всего шесть человек, из них двое умерли). После удаления данных пациентов, находящихся в нестабильном состоянии, коэффициент корреляции по Пирсону между $A^*_{\text{фмлф-м}}$ и содержанием нейтрофилов в крови обследованных больных составил 0,84 — это свидетельствует о тесной статистически значимой ($\alpha=0,1\%$) положительной связи. Иными словами, «удельная» активность «медленного» нейтрофила практически линейно увеличивается с увеличением числа нейтрофилов у пациентов без диагноза сепсис по критериям *Сепсис-3*.

Было проведено сравнение ХЛ-данных с другими иммунологическими показателями. У обследованных обожженных определялось значительное снижение количества Т-лимфоцитов, причем степень снижения в большинстве наблюдений зависела от тяжести травмы, выраженности токсемии и ожоговой инфекции. При благоприятном течении заболевания наблюдали восстановление абсолютных показателей Т-клеточного ответа. Содержание В-лимфоцитов у обследованных обожженных находилось в пределах нормальных значений или было снижено. У всех обследованных наблюдали значительное повышение общего содержания ЦИК на всех стадиях заболевания. Это превышение было обусловлено увеличением численности ЦИК среднего и малого размера; численность больших ЦИК, напротив, была снижена или находилась в пределах диапазона нормальных значений. Увеличение содержания больших ЦИК наблюдали только у трех из обследованных пациентов. Статистический анализ (коэффициент корреляции по Пирсону) показал отсутствие связи между этими иммуноло-

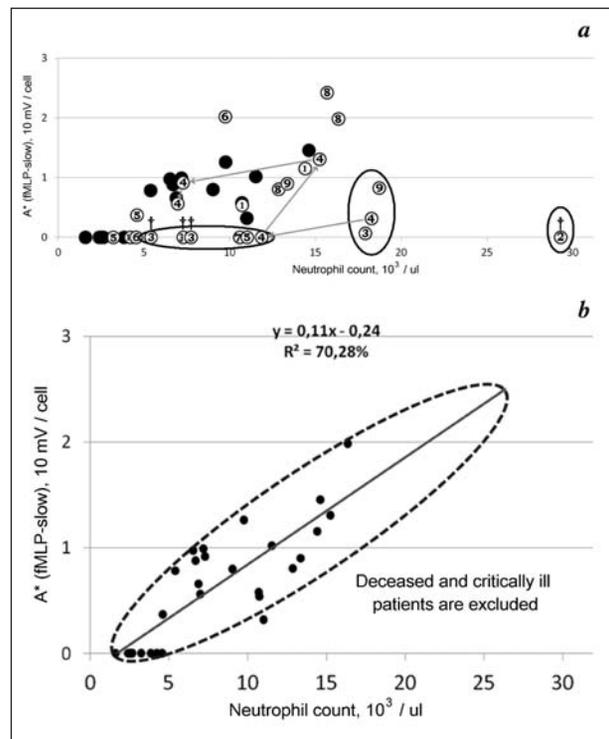


Рис. 3. Поле корреляции между $A^*_{\text{фмлф-м}}$ и содержанием нейтрофилов.

Fig. 3. The correlation field between $A^*_{\text{fmph-m}}$ and the content of neutrophils.

Note. a — all observations; ○ — observations of patients who stayed in the hospital for a long time because of the development of serious purulent-septic complications; the number marks the observations received of one of the subjects during the dynamic observation; the arrows mark the dynamics of the indices of patient number. 4 (Day 3, Day 7, Day 14, Day 27); † — observations of deceased patients, patient number 3 died on Day 19 of the disease, patient number 2 — on Day 7; ● — observations of patients in a stable state. Outstanding observations are circled. b — outstanding observations are removed, linear regression, its equation and coefficient of determination are shown.

Примечание. Neutrophil count — количество нейтрофилов; Deceased and critically ill patients are excluded — без умерших и пациентов в критическом состоянии. a — все наблюдения; ○ — наблюдения больных, длительно пребывавших в стационаре в связи с развитием серьезных гнойно-септических осложнений; номер маркирует наблюдения, полученные от одного из обследуемых в процессе динамического наблюдения; стрелки отмечают динамику показателей пациентки №4 (3-и; 7-е; 14-е; 19-е; 27-е сутки); † — наблюдения, полученные от умерших пациентов, больной №3 скончался на 19-е сутки заболевания, больная №2 — на 7-е; ● — наблюдения, полученные от пациентов в стабильном состоянии. Выделяющиеся наблюдения обведены. b — элиминированы выделяющиеся наблюдения, показана линейная регрессия, ее уравнение и коэффициент детерминации.

data is consistent with the concept of the most active neutrophils migrating to an inflammatory focus if there is a less active population in the systemic circulation [20]. Given the above, it can be assumed that oxidative stress in burn disease is characterized by an increase in the absolute amount of neutrophils in the bloodstream as a substrate for the synthesis of ROS in the absence of a qualitative enhancement of

гическими показателями и показателем ХЛ-ответа нейтрофилов.

Наблюдаемые отклонения показателей ХЛ-ответа у обожженных подтверждают литературные данные о серьезной дисфункции фагоцитарного звена при ожоговой болезни. Значительное увеличение ненормированных показателей амплитуды на различных этапах анализа обусловлено массивным выходом нейтрофилов из костного мозга в кровяное русло на фоне ожоговой токсемии и септикотоксемии и свидетельствует об увеличении общего уровня продукции активных форм кислорода (АФК) клетками, находящимися в системном кровотоке. Таким образом, экспериментальные данные подтверждают данные литературных источников о наличии тяжелого окислительного стресса у пациентов с термической травмой, способствующего системным нарушениям гомеостаза и органной дисфункции [1, 17].

С другой стороны, зарегистрированные случаи нормированных показателей ХЛ-грамм обожженных в границах референтного интервала или ниже нормы свидетельствуют о наличии нормэргического и даже гипоэргического окислительного метаболизма нейтрофилов. Эти данные согласуются с представлением о миграции наиболее активных нейтрофилов в очаг воспаления при наличии менее активной популяции в системном кровотоке [20]. Учитывая вышеизложенное, можно предположить, что окислительный стресс при ожоговой болезни характеризуется увеличением абсолютного количества нейтрофилов в кровотоке как субстрата синтеза АФК при отсутствии качественного усиления их окислительного метаболизма. Такой вывод подтверждает представления о нарушении функции нейтрофила и иммуносупрессии при ожоговой болезни [21].

Отдельного рассмотрения требует кинетика медленного ответа на фМЛФ и ее биологический смысл. По нашим данным, появление медленного ответа на фМЛФ не типично для практически здоровых людей. Наличие активного воспалительного процесса при развитии ожоговой токсемии или септикотоксемии индуцирует появление медленного ответа на фМЛФ на ХЛ-грамме, причем при благоприятном исходе заболевания даже на фоне ССВО интенсивность медленного ХЛ-ответа в сильной степени коррелирует с содержанием нейтрофилов в крови пациентов. С другой стороны, наличие сепсиса и прогрессирующей ПОН у шести пациентов оказалось ассоциировано с ослаблением медленного ответа на фМЛФ, вплоть до полного его отсутствия у погибших больных. Это наблюдение дает основание предположить, что медленная кинетика ХЛ реализуется благодаря выходу в системный кровоток субпопуляции нейтрофилов, обладающих повышенной функциональной активностью. По данным некоторых авторов [20, 21]

their oxidative metabolism. This conclusion confirms the idea of a violation of neutrophil function and immunosuppression in case of burn disease [21].

The kinetics of a slow response to fMLF and its biological meaning should also be considered. According to our data, the slow response to fMLF is not typical for healthy people. An active inflammatory process with the development of burn toxemia or septicotoxemia induces a slow response to fMLF on CL-gram, and with a favorable outcome of the disease and even with the SIRS, the intensity of a slow CL-response strongly correlates with the neutrophil count in patients' blood. On the other hand, sepsis and progressing multiple organ dysfunction syndrome in six patients were associated with a weakening of a slow response to fMLF, up to its complete absence in patients prior to death. This observation suggests that the slow kinetics of CL is due to the release into the systemic bloodstream of a subpopulation of neutrophils with increased functional activity. According to published data [20, 21], a slow CL response to the introduction of fMLF is formed due to the activation of phagocytosis and intracellular ROS production. Therefore, the high intensity of a slow flash can be interpreted as a sign of effective intracellular destruction of bacteria. The normergic response of the organism to burn toxemia and septicotoxemia followed by reconvalescence is fulfilled due to a subpopulation of neutrophils with high activity of intracellular bacterial killing.

An increase in the level of CRP, the acute phase protein, starts in the blood 4 hours after tissue damage and reaches a maximum in 24–72 hours. The absence of slow kinetics in the early stages of the disease with an extremely high level of CRP indicates an anergic response of cellular immunity with a high activity of the inflammatory response and an extremely unfavorable prognosis for the development of sepsis. This model of response was observed in four patients included in the study: two of them died (on Days 7 and 19), two stayed in the intensive care unit for more than 30 days due to the development of complications (abscessed pneumonia).

Patients with insufficient intensity of slow kinetics generally experienced a severe long-term course of the disease with two cases of a fatal outcome. This observation can be explained by the absence of functionally active neutrophils in such patients, with an increase in the number of neutrophils in the bloodstream only through functionally inferior forms with predominantly extracellular ROS. Functionally inferior neutrophils are unable to effectively kill pathogenic microorganisms inside the phagosome. In our opinion, the described deficiency of neutrophil function provides a pathogenetic basis of the complicated course of the disease with the development of purulent-septic complications. It should be noted that the normalized amplitude of the

медленный ХЛ-ответ на внесение ФМЛФ формируется за счет активации фагоцитоза и внутриклеточной наработки АФК. Таким образом, высокую интенсивность медленной вспышки можно интерпретировать, как признак эффективного внутриклеточного уничтожения бактерий. Именно благодаря субпопуляции нейтрофилов с высокой активностью внутриклеточного бактериального киллинга реализуется нормэргический ответ организма на ожоговую токсемию и септикотоксемию с последующей реконвалесценцией.

Повышение уровня СРБ, белка острой фазы, в крови начинается через 4 часа после тканевого повреждения, достигает максимума через 24–72 часа. Отсутствие медленной кинетики на ранних сроках заболевания при крайне высоком уровне СРБ свидетельствует об анергическом ответе клеточного иммунитета при высокой активности воспалительного ответа и крайне неблагоприятном прогнозе развития сепсиса. Такую модель ответа наблюдали у четырех пациентов, включенных в исследование: двое из них скончались (на 7 и 19 сутки заболевания), двое пребывали в реанимационном отделении более 30 дней из-за развившихся осложнений (абсцедирующая пневмония).

В целом, у пациентов с недостаточной интенсивностью медленной кинетики отмечали тяжелое длительное течение заболевания; в двух случаях с летальным исходом. Это наблюдение можно объяснить отсутствием у таких пациентов функционально активных нейтрофилов, при увеличении численности нейтрофилов в кровотоке только за счет функционально неполноценных форм с преимущественно внеклеточной наработкой АФК. Функционально неполноценные нейтрофилы неспособны эффективно уничтожать патогенные микроорганизмы внутри фагосом. Описанный дефицит функции нейтрофилов, по нашему мнению, является патогенетической основой осложненного течения заболевания с развитием гнойно-септических осложнений. Примечательно, что нормированная амплитуда медленного ответа на фМЛФ сигнализирует о нарушениях функции нейтрофилов уже в первые трое суток заболевания, следовательно, этот маркер может быть перспективен в качестве раннего предиктора течения ожоговой болезни. Таким образом, обнаруженная зависимость интенсивности медленной кинетики от содержания нейтрофилов характеризует оптимальный (нормэргический) вариант ответа организма на внедрение инфекции при ожоговой болезни, который может служить индикатором благоприятного прогноза.

Заключение

Применение подхода, основанного на двухстадийной стимуляции нейтрофилов, позволило

slow response to fMLF signals violations of neutrophil function already in the first three days of the disease, therefore, this pattern can serve as a promising candidate biomarker for early predicting the course of burn disease. Therefore, the observed dependence of the intensity of slow kinetics on neutrophil counts features the optimal (normal) variant of the organism's response to the infection in a burn disease, which can serve as an indicator of a favorable prognosis.

Conclusion

The use of developed method of two-stage stimulation of neutrophils made it possible to significantly improve the CL analysis. The increased signaling contributed to more enhanced sensitivity of the method. In addition, the priming effect of PMA on neutrophils promoted standardization of the kinetics of the CL response to the main secondary stimulus (fMLF). As a result, a system of standard indicators for the evaluation of the functional activity of neutrophils in burn patients was proposed.

The developed method enabled new information on the generation of active forms of oxygen by neutrophils in burn disease. In a number of cases, a second phase («slow» flash) occurs after the first phase of a respiratory explosion («rapid» flash). A slow flash can be explained either by the variety in populations of neutrophils («rapid» and «slow» neutrophils), or by two different processes of ROS production in one population (extracellular and intracellular).

A «slow» flash of CL-response is typical for patients with severe thermal trauma (from the first day of the disease). The intensity of the normalized amplitude of a «slow» flash with a normergic response of the body is directly proportional to the number of neutrophils. A low intensity of slow kinetics with a low content of neutrophils is typical for patients with an easier progression of burn disease. High intensity of slow kinetics at a high content indicates a favorable prognosis for the development of burn disease in severe patients. With a high content of neutrophils, the insufficient intensity of slow kinetics enables a prediction of a severe long-term course of the disease with a likely lethal outcome and purulent-septic complications.

Thus, it can be argued that the proposed technique is promising laboratory method for evaluating the functional activity of neutrophils. It can provide valuable information in terms of the prognosis of development and severity of purulent-septic complications in patients. It can also be applied to obtain early indicators of the treatment efficacy. In the long term, it seems advisable to increase the number of subjects and also to test the technique on patients with sepsis of various etiologies.

значительно улучшить аналитические характеристики ХЛ-анализа. Так, усиление интенсивности сигнала способствовало повышению разрешающей способности метода и, как следствие, его чувствительности; кроме того, эффект прайминга нейтрофилов ФМА способствовал стандартизации кинетики ХЛ-ответа на основной стимул (фМЛФ). В результате предложена система стандартных показателей для оценки функциональной активности нейтрофилов у ожоговых больных.

Разработанный метод позволил получить новую информацию о продукции активных форм кислорода нейтрофилами при ожоговой болезни, а именно, в ряде случаев после первой фазы респираторного взрыва («быстрая» вспышка) происходит вторая фаза («медленная» вспышка). Медленная вспышка может быть объяснена либо наличием разных популяций нейтрофилов («быстрые» и «медленные» нейтрофилы), либо двумя разными процессами продукции АФК в одной популяции — внеклеточного и внутриклеточного.

Появление «медленной» вспышки ХЛ-ответа характерно для больных с тяжелой термической травмой, причем с первых суток заболевания. Интенсивность нормированной амплитуды «медленной» вспышки при нормэргическом ответе организма прямо пропорциональна количеству нейтрофилов. Низкая интенсивность медленной кинетики при низком содержании нейтрофилов характерна для больных с более легким течением ожоговой болезни. Высокая интенсивность медленной кинетики при высоком содержании свидетельствует о благоприятном прогнозе развития ожоговой болезни у тяжелых больных. При высоком содержании нейтрофилов недостаточная интенсивность медленной кинетики позволяет прогнозировать тяжелое длительное течение заболевания с вероятностью летального исхода и гнойно-септическими осложнениями.

Литература

1. Алексеев А.А., Крутиков М.Г., Яковлев В.П. Ожоговая инфекция: этиология, патогенез, диагностика, профилактика и лечение. М.: Вузовская книга; 2010: 416.
2. Ronat J.B., Kakol J., Khoury M.N., Berthelot M., Yun O., Brown V., Murphy R.A. Highly drug-resistant pathogens implicated in burn-associated bacteremia in an iraqi burn care unit. *PLoS One*. 2014; 9 (8): e101017. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0101017>. PMID: 25111170
3. Calum H., Moser C., Jensen P.Ø., Christophersen L., Maling D.S., van Gennip M., Bjarnsholt T., Hougen H.P., Givskov M., Jacobsen G.K., Hoiby N. Thermal injury induces impaired function in polymorphonuclear neutrophil granulocytes and reduced control of burn wound infection. *Clin. Exp. Immunol.* 2009; 156 (1): 102–110. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2249.2008.03861.x>. PMID: 19210518
4. Crimi E., Sica V., Williams-Ignarro S., Zhang H., Slutsky A.S., Ignarro L.J., Napoli C. The role of oxidative stress in adult critical care. *Free Radic. Biol. Med.* 2006; 40 (3): 398–406. <http://dx.doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2005.10.054>. PMID: 16443154
5. Михальчик Е.В., Будкевич Л.И., Питерская Ю.А., Пенков Л.Ю., Астамирова Т.С., Смолина Н.В., Вахрушева Т.В., Панасенко О.М. Роль миелопероксидазы нейтрофилов в развитии воспаления при термических ожогах кожи. *Биомед. химия*. 2016; 62 (5): 584–587. <http://dx.doi.org/10.18097/PBMC20166205584>. PMID: 27797335
6. Bernal M.E., Varon J., Acosta P., Montagnier L. Oxidative stress in critical care medicine. *Int. J. Clin. Pract.* 2010; 64 (11): 1480–1488.

The study was carried out with the financial support of the Russian Science Foundation (Project No. 14-15-00375).

Acknowledgments

The authors would like to express their sincere gratitude to the staff of the Department of Acute Thermal Lesions and the staff of the Laboratory of Clinical Immunology, N.V. Sklifosovsky Research Institute, as well as to employees of the Burn Center of A.V. Vishnevsky Institute of Surgery for their support with the study and for their involvement in the discussion of the work.

Таким образом, можно утверждать, что предлагаемая методика перспективна как лабораторный метод оценки функциональной активности нейтрофилов и может дать ценную информацию в плане прогноза развития и тяжести гнойно-септических осложнений у пациента, а также может использоваться для получения опережающих индикаторов эффективности применяемого лечения. В перспективе представляется целесообразным увеличить численность обследуемых, а также апробировать методику на пациентах с сепсисом различной этиологии.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 14-15-00375).

Благодарности

Авторы выражают искреннюю признательность коллективу отделения острых термических поражений и коллективу лаборатории клинической иммунологии НИИ СП им. Н. В. Склифосовского, также сотрудникам ожогового центра института хирургии им. А. В. Вишневского за поддержку в организации и проведении исследования и участие в обсуждении работы.

References

1. Alekseyev A.A., Krutikov M.G., Yakovlev V.P. Burn infection: etiology, pathogenesis, diagnosis, prevention and treatment. Moscow: Vuzovskaya Kniga; 2010: 416. [In Russ.]
2. Ronat J.B., Kakol J., Khoury M.N., Berthelot M., Yun O., Brown V., Murphy R.A. Highly drug-resistant pathogens implicated in burn-associated bacteremia in an iraqi burn care unit. *PLoS One*. 2014; 9 (8): e101017. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0101017>. PMID: 25111170
3. Calum H., Moser C., Jensen P.Ø., Christophersen L., Maling D.S., van Gennip M., Bjarnsholt T., Hougen H.P., Givskov M., Jacobsen G.K., Hoiby N. Thermal injury induces impaired function in polymorphonuclear neutrophil granulocytes and reduced control of burn wound infection. *Clin. Exp. Immunol.* 2009; 156 (1): 102–110. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2249.2008.03861.x>. PMID: 19210518
4. Crimi E., Sica V., Williams-Ignarro S., Zhang H., Slutsky A.S., Ignarro L.J., Napoli C. The role of oxidative stress in adult critical care. *Free Radic. Biol. Med.* 2006; 40 (3): 398–406. <http://dx.doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2005.10.054>. PMID: 16443154
5. Mikhalchik E.V., Budkevich L.I., Piterckaya Y.A., Penkov L.Y., Astamirova T.S., Smolina N.V., Vakhruшева T.V., Panasenکو O.M. The role of neutrophil myeloperoxidase in the development of inflammation after thermal skin burns. *Biomed. Khim.* 2016; 62 (5): 584–587. <http://dx.doi.org/10.18097/PBMC20166205584>. PMID: 27797335. [In Russ.]
6. Bernal M.E., Varon J., Acosta P., Montagnier L. Oxidative stress in critical care medicine. *Int. J. Clin. Pract.* 2010; 64 (11): 1480–1488.

- <http://dx.doi.org/10.1111/j.1742-1241.2010.02506.x> PMID: 20846195
7. Weiss J., Kirsner R.S. JID VisualDx Quiz: March 2014. Thermal burn. Burn wounds induce elevated catecholamines. Prolonged neutrophil lifespan delays healing. *J. Invest. Dermatol.* 2014; 134 (3): e14. <http://dx.doi.org/10.1038/jid.2013.546>. PMID: 24518115
 8. Parment K., Zetterberg A., Ernerudh J., Bakteman K., Steinwall I., Sjöberg F. Long-term immunosuppression in burned patients assessed by *in vitro* neutrophil oxidative burst (Phagoburst). *Burns.* 2007; 33 (7): 865–871. <http://dx.doi.org/10.1016/j.burns.2006.11.011>. PMID: 17537580
 9. Сахаров С.П., Козлов Л.Б. Особенности развития инфекционного процесса, вызванного культивируемыми и некультивируемыми бактериями на фоне ожоговой травмы в эксперименте. *Общая реаниматология.* 2015; 11 (5): 15–24. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2015-5-15-24>
 10. Карпов О.Э., Гусаров В.Г., Лашенкова Н.Н., Петрова Н.В., Демениенко М.В., Шилкин Д.Н., Нестерова Е.Е., Замятин М.Н. Регистр микроорганизмов как инструмент автоматизированного планирования потребления антибиотиков и контроля антибиотикорезистентности в отделениях реаниматологии и профильных отделениях. *Общая реаниматология.* 2016; 12 (6): 39–48. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2016-6-39-48>
 11. Кулабухов В.В., Рябов Г.А. Современные методы оценки кислородного статуса организма и возможности метаболического мониторинга критических состояний. *Кремлевская медицина. Клинический вестник.* 1996; 2: 43–45.
 12. Cassatella M.A. Hey, brother neutrophil, what are you up to? *Semin. Immunol.* 28 2016; 28 (2): 81–82. <http://dx.doi.org/10.1016/j.smim.2016.05.002>. PMID: 27179686
 13. Dahlgren C., Karlsson A., Bylund J. Measurement of respiratory burst products generated by professional phagocytes. In: Quinn M.T., DeLeo F.R., Bokoch G.M. (eds.). *Neutrophil methods and protocols.* Totowa, NJ: Humana Press; 2007: 349–363.
 14. Владимиров Ю.А., Проскурнина Е.В. Свободные радикалы и клеточная хемилюминесценция. *Успехи биол. химии.* 2009; 49: 341–388.
 15. Образцов И.В., Гудков М.А. Хемилюминесцентный анализ клеток крови в медицине: история, теория, практика. *Молекулярная медицина.* 2013; 4: 3–9.
 16. Образцов И.В., Гудков М.А., Полимова А.М., Демин Е.М., Проскурнина Е.В., Владимиров Ю.А. Оценка функциональной активности нейтрофилов цельной крови методом двухстадийной стимуляции: новый подход к хемилюминесцентному анализу. *Рос. иммунологический журнал.* 2015; 9 (4): 418–425.
 17. Torabi M., Moeinaddini S., Mirafzal A., Rastegari A., Sadeghkhani N. Shock index, modified shock index, and age shock index for prediction of mortality in Emergency Severity Index level 3. *Am. J. Emerg. Med.* 2016; 34 (11): 2079–2083. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajem.2016.07.017>. PMID: 27461887
 18. Bone R.C., Balk R.A., Cerra F.B., Dellinger R.P., Fein A.M., Knaus W.A., Schein R.M., Sibbald W.J. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. *Chest.* 1992; 101 (6): 1644–1655. <https://doi.org/10.1378/chest.101.6.1644>. PMID: 1303622
 19. Singer M., Deutschman C.S., Seymour C.W., Shankar-Hari M., Annane D., Bauer M., Bellomo R., Bernard G.R., Chiche J.D., Coopersmith C.M., Hotchkiss R.S., Levy M.M., Marshall J.C., Martin G.S., Opal S.M., Rubenfeld G.D., van der Poll T., Vincent J.L., Angus D.C. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA.* 2016; 315 (8): 801–810. <http://dx.doi.org/10.1001/jama.2016.0287>. PMID: 26903338
 20. Колкер И.И. Инфекция и иммунитет при термических поражениях. *Хирургия. Журн. им. Н.И.Пирогова.* 1980; 5: 17–21. PMID: 6772869
 21. Маянский А.Н. Патогенетические аспекты нейтрофилзависимых реакций. *Патол. физиол. и эксперим. терапия.* 1989; 6: 80–85.
- <http://dx.doi.org/10.1111/j.1742-1241.2010.02506.x> PMID: 20846195
7. Weiss J., Kirsner R.S. JID VisualDx Quiz: March 2014. Thermal burn. Burn wounds induce elevated catecholamines. Prolonged neutrophil lifespan delays healing. *J. Invest. Dermatol.* 2014; 134 (3): e14. <http://dx.doi.org/10.1038/jid.2013.546>. PMID: 24518115
 8. Parment K., Zetterberg A., Ernerudh J., Bakteman K., Steinwall I., Sjöberg F. Long-term immunosuppression in burned patients assessed by *in vitro* neutrophil oxidative burst (Phagoburst). *Burns.* 2007; 33 (7): 865–871. <http://dx.doi.org/10.1016/j.burns.2006.11.011>. PMID: 17537580
 9. Sakharov S.P., Kozlov L.B. Specific features of development of the infectious process caused by cultivable and non cultivable bacteria in the presence of experimental burn injury. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology.* 2015; 11 (5): 15–24. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2015-5-15-24>. [In Russ., In Engl.]
 10. Karpov O.E., Gusarov V.G., Lashenkova N.N., Petrova N.V., Dementienko M.V., Shilkin D.N., Nesterova E.E., Zamyatin M.N. Register of microorganisms as a tool for automated antibiotics consumption planning and monitoring of antibiotic resistance in intensive care units and specialized hospital departments. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology.* 2016; 12 (6): 39–48. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2016-6-39-48>. [In Russ., In Engl.]
 11. Kulabukhov V.V., Ryabov G.A. Current methods of the oxidative status evaluation and the capabilities of metabolic monitoring in critical conditions. *Kremlevskaya Meditsina. Klinichesky Vestnik.* 1996; 2: 43–45. [In Russ.]
 12. Cassatella M.A. Hey, brother neutrophil, what are you up to? *Semin. Immunol.* 28 2016; 28 (2): 81–82. <http://dx.doi.org/10.1016/j.smim.2016.05.002>. PMID: 27179686
 13. Dahlgren C., Karlsson A., Bylund J. Measurement of respiratory burst products generated by professional phagocytes. In: Quinn M.T., DeLeo F.R., Bokoch G.M. (eds.). *Neutrophil methods and protocols.* Totowa, NJ: Humana Press; 2007: 349–363.
 14. Vladimirov Yu.A., Proskurnina E.V. Free radicals and cellular chemiluminescence. *Uspekhi Biologicheskoi Khimii.* 2009; 49: 341–388. [In Russ.]
 15. Obratsov I.V., Godkov M.A. Chemiluminescent analysis of the blood cells in medicine: history, theory, practice. *Molekulyarnaya Meditsina.* 2013; 4: 3–9. [In Russ.]
 16. Obratsov I.V., Godkov M.A., Polimova A.M., Demin E.M., Proskurnina E.V., Vladimirov Yu.A. Evaluation of the functional activity of whole blood neutrophils by a two-stage stimulation: a new approach to the chemiluminescent analysis. *Rossiyskiy Immunologicheskiy Zhurnal.* 2015; 9 (4): 418–425. [In Russ.]
 17. Torabi M., Moeinaddini S., Mirafzal A., Rastegari A., Sadeghkhani N. Shock index, modified shock index, and age shock index for prediction of mortality in Emergency Severity Index level 3. *Am. J. Emerg. Med.* 2016; 34 (11): 2079–2083. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajem.2016.07.017>. PMID: 27461887
 18. Bone R.C., Balk R.A., Cerra F.B., Dellinger R.P., Fein A.M., Knaus W.A., Schein R.M., Sibbald W.J. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. *Chest.* 1992; 101 (6): 1644–1655. <https://doi.org/10.1378/chest.101.6.1644>. PMID: 1303622
 19. Singer M., Deutschman C.S., Seymour C.W., Shankar-Hari M., Annane D., Bauer M., Bellomo R., Bernard G.R., Chiche J.D., Coopersmith C.M., Hotchkiss R.S., Levy M.M., Marshall J.C., Martin G.S., Opal S.M., Rubenfeld G.D., van der Poll T., Vincent J.L., Angus D.C. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA.* 2016; 315 (8): 801–810. <http://dx.doi.org/10.1001/jama.2016.0287>. PMID: 26903338
 20. Kolker I.I. Infection and immunity in burns. *Khirurgiya. Zhurnal Imeni N.I.Pirogova.* 1980; 5: 17–21. PMID: 6772869. [In Russ.]
 21. Mayansky A.N. Pathogenetic aspects of neutrophil-dependant reactions. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimentalnaya Terapiya.* 1989; 6: 80–85. [In Russ.]

Поступила 05.06.16

Received 05.06.16

Эффективность сочетанного применения антиоксиданта и глутамина при абдоминальном сепсисе

В. В. Назаретьян¹, В. Н. Лукач², А. В. Куликов¹

¹ Воронежская городская клиническая больница скорой медицинской помощи № 1, Россия, 394000, г. Воронеж, ул. Патриотов, д. 23

² Омский государственный медицинский университет Минздрава России, Россия, 644099, г. Омск, ул. Ленина, д. 12.

The Effectiveness of Combined Use of Antioxidant and Glutamine in Abdominal Sepsis

Viktoria V. Nazaretyan¹, Valery N. Lukach², Arkady V. Kulikov¹

¹ Voronezh city clinical hospital of emergency medical care № 1, 23 Patriotov Str., Voronezh 394000, Russia

² Omsk State Medical University, Ministry of Health of Russia, 12 Lenin Str., Omsk 644099, Russia

Цель исследования: выявление эффективности сочетанного применения антиоксидантной терапии мексидолом и дополнительной нутритивной поддержки глутамином больных при абдоминальном сепсисе (АС).

Материал и методы. В исследование включили 170 больных с абдоминальным сепсисом, которых разделили на 2 группы. Больные группы 1 (группа сравнения, $n=70$) получали базовое лечение. Больных группы 2 (основная группа, $n=100$) разделили на 2 подгруппы. В подгруппе 21 больные ($n=70$) в дополнение к базовому лечению получали внутривенно капельно мексидол (2000 мг/сут) и дипептивен (27,5 г/сут), больные подгруппы 22 ($n=30$) еще и глутамин *per os*. Анализ выживаемости проводили методом Каплана-Мейера с использованием для проверки статистических гипотез F-критерия Кокса и критерия Кокса-Ментела.

Результаты. Анализ результатов лечения показал, что в основной группе 2 летальность была ниже, чем в группе сравнения 1. Выявили статистически значимое увеличение кумулятивной доли выживших при использовании мексидола и глутамина.

Заключение. Сочетанное внутривенное введение препаратов мексидола и дипептивена оказывало положительное влияние на результат лечения больных с абдоминальным сепсисом. Основываясь на результатах анализа можно предположить, что эта пара прерывает каскад развития абдоминального сепсиса и способствует выходу из критического состояния.

Ключевые слова: человек; абдоминальный сепсис; метаболическая терапия; анализ выживаемости; метод Каплана-Мейера

Aim of the study: the effectiveness of concomitant use of antioxidant therapy with antioxidant 2-ethyl-6-methyl-3-hydroxypyridine succinate (mexidol) and intensive nutritional support with glutamine in patients with abdominal sepsis (AS).

Materials and methods. 170 patients with abdominal sepsis (AS) involved in the study were separated into two groups. Patients of group 1 (control group, $n=70$) received basic treatment. Patients from group 2 ($n=100$) were divided into 2 subgroups. Patients from the subgroup 21 ($n=70$), in addition to the basic treatment, received intravenously, by drop infusion, mexidol (2000 mg per day) and dipeptiven (27.5 g per day), patients from subgroup 22 ($n=30$) additionally to that received *per os* glutamine. Survival analysis was carried out according to the Kaplan-Meier method with using of the Cox's F-test and Mantel-Cox test for testing of statistical hypotheses.

Results. Treatment outcomes analysis showed that in the basic group 2, mortality was lower than in the control group 1. A statistically significant increase of cumulative part in the survivors was revealed using mexidol and glutamine.

Conclusion. Concomitant intravenous administration of medications had positive effects on treatment outcomes. Following on from the analysis results, we may suggest that the pair mexidol + dipeptiven interrupts the cascade of development of abdominal sepsis and contributes to avoiding a critical condition during sepsis.

Key words: human; abdominal sepsis; metabolic therapy; survival analysis; Kaplan-Meier method

DOI:10.15360/1813-9779-2017-2-52-60

Адрес для корреспонденции:

Виктория Назаретьян
E-mail: viktoria.nazaretyan@yandex.ru

Correspondence to:

Viktoria Nazaretyan
E-mail: viktoria.nazaretyan@yandex.ru

Введение

Абдоминальный сепсис — тяжелая полиорганная патология, проявляющаяся системной воспалительной реакцией с неконтролируемым выбросом эндогенных медиаторов воспаления и дисметаболическими изменениями [1–4]. За последние 20 лет частота АС возросла, а летальность увеличилась на 90% [5–9]. В основе «фатальной пирамиды» АС лежат энергоструктурный дефицит и эндотелиальная дисфункция с переходом в эндотелиальную недостаточность [1, 3, 14, 16, 24]. Проблема лечения АС остается актуальной и в XXI веке [10, 11].

Известно, что в основе патогенеза при АС лежит повреждение клеточных мембран, апоптоз и некроз клеток [13, 14, 16]. Это позволяет осуществлять целенаправленный поиск препаратов по биохимическому вектору с потенцированием их действия и с последующей многофакторной оценкой. В этом плане наиболее интересна комбинация мексидола (2-этил-6-метил-3-гидрокси-пиридин и янтарная кислота) и дипептивена (N (2) — L-аланин — L-глутамин), как компонентов нутритивной терапии. Имеются данные о клинической значимости применения этих препаратов (снижение частоты инфекционных осложнений, продолжительности госпитализации, стимуляция иммунитета) [19–24]. Однако анализ выживаемости при использовании этих препаратов не проводился.

Цель исследования — выявление эффективности сочетанного применения антиоксидантного лечения мексидолом и дополнительной нутритивной поддержки глутамином при абдоминальном сепсисе.

Материал и методы

Работа выполнена в БУЗ Воронежской области «Воронежская городская клиническая больница скорой медицинской помощи №1». Обследовали 170 больных с абдоминальным сепсисом. Исследование одобрено локальным этическим комитетом. Причиной АС являлись панкреонекроз, перфорация полых органов брюшной полости (прободные язвы ЖКТ), травматическое повреждение органов брюшной полости, кишечная непроходимость. Больные, вошедшие в исследование, были разделены на 2 группы в зависимости от схемы лечения. Больные группы 1 (группа сравнения, $n=70$, $n_m=51$, $n_{ж}=19$) получали базовое лечение: 1) антибактериальная терапия (согласно диапазону чувствительности по посеву биологических сред) 2) вентиляционная поддержка на основе контроля КОС (VPC, VAC, SIMV, аппаратом Belavista), 3) инотропная поддержка (дофамин от 0,04 мкг/кг/час) с выходом на вазопрессорную поддержку (норадреналин до 6–9 мкг/кг/час и мезатон до 3–5 мкг/кг/час) основываясь на постоянном мониторинге НИАД, 4) инфузионная терапия (кристаллоиды), 5) профилактика тромбозомболических осложнений и

Introduction

Abdominal sepsis (AS) is a serious multisystem pathological condition that manifests itself as infection accompanied by uncontrolled discharge of endogenous inflammatory mediators and dysmetabolic changes [1–4]. For the last 20 years, AS frequency has been increased, and mortality sometimes is risen to 90% [5–9]. Structural energy deficit and endothelial dysfunction lie at the bottom of the «fatal pyramid» of AS, with result of endothelial insufficiency [1, 3, 14, 16, 24]. In the XXI century, the problem of AS treatment remains a challenge [10, 11].

It is known that damage to cellular membranes, apoptosis and necrosis of cells form the basis of AS pathogenesis [13, 14, 16]. This allows a target search for medications according to biochemical vector, with potentiation of their effect and with following multifactorial estimation. In this regard, combination of mexidol (2-ethyl-6-methyl-3-hydroxypyridine succinate) and dipeptiven (N (2) — L-alanine — L-glutamine), as components of nutritional therapy, appears as one of most promising. There are data on the clinical significance of the effect of the use of these medications (decrease of infectious complications frequency, length of hospitalization, stimulation of immunity) [19–24]. However, surviving analysis of the use of these drugs in combination in abdominal sepsis patients has never been performed.

Study objective: the effectiveness of concomitant use of antioxidant therapy with mexidol and intensive nutritional support with glutamine in abdominal sepsis (AS).

Materials and Methods

The work was performed in the Budgetary Healthcare Institution of the Voronezh Region, Voronezh City Clinical Emergency Care Hospital No. 1. 170 patients with abdominal sepsis (AS) were examined. The study was approved by the local Ethics Committee. The causes of AS were pancreonecrosis, perforation of the hollow organs of the abdominal cavity (perforated ulcer of GIT), traumatic injuries of the abdominal cavity organs, and intestinal obstruction. Content of procalcitonin exceeded 10 ng/ml in all patients. Content of procalcitonin was only estimated from the point of view of criterion confirming AS. In the basic group and in the control group, the differentiation was not statistically significant. Estimation of the condition's severity was carried out in accordance with the scales of SOFA (13–14 scores) and RANSON (5–6 scores). According to these indicators, compared groups did not distinguish. Control group 1 ($n_m=51$, $n_{ж}=19$); subgroup 21 ($n_m=47$, $n_{ж}=23$). Patients entering the study were divided into two groups depending on the scheme of treatment. Patients of group 1 (control group, $n=70$) received basic treatment: 1) antibacterial therapy (according to the range of sensitivity by inoculation of biological environment) 2) ventilation support on the basis of acid-base balance monitoring (VPC, VAC SIMV, Belavista apparatus), 3) inotropic support (dofamin from 0.04 mkg/kg/h) with

стресс-язв желудочно-кишечного тракта. Больные группы 2 (основная, $n=100$) были разделены на 2 подгруппы в зависимости от способа введения глутамина. В подгруппе 21 ($n=70$, $n_m=47$, $n_{жс}=23$) больные в дополнение к базовому лечению получали внутривенно капельно мексидол (2000 мг/сут) и дипептивен (250 мл/сут) в качестве нутритивной терапии. Больные подгруппы 22 ($n=30$) дополнительно получали глутамин *per os* (суммарно 27,5 г/сут). Нутритивная поддержка: парентеральное питание (Кобивен, Нутрифлекс), энтеральное питание (Нутризон) — при восстановлении функции ЖКТ. Содержание прокальцитонина у всех больных превышало 10 нг/мл. Содержание прокальцитонина оценивали только с точки зрения критерия, подтверждающего АС. В основной группе и группе сравнения он статистически значимо не различался. Оценку тяжести состояния проводили по шкалам SOFA (13–14 баллов) и RANSON (5–6 баллов). По этим показателям сравниваемые группы не различались.

Наблюдение за результатом лечения больных проводили с момента поступления пациента в ОРИТ до перевода в профильное отделение или летального исхода.

Статистическую обработку результатов исследования проводили с помощью программного пакета STATISTICA 8.0 (StatSoft, Inc. 2007) [15]. Достоверность различий выборочных совокупностей оценивали с использованием непараметрических критериев. Оценку различий качественных признаков проводили путем построения таблиц сопряженности и вычислением критериев χ^2 и z , отношения шансов (ОШ) и относительного риска (ОР), а также их 95% доверительных интервалов. Анализ выживаемости и дожития до определенного критического события (перевод из отделения реанимации в профильное отделение, смерть) проводили путем построения кривых выживаемости по методу Каплана-Мейера. Анализ статистической значимости различия кривых выживаемости между группами проводили на основании расчета F -критерия Кокса и критерия Кокса-Ментела. Нулевую гипотезу отвергали, а альтернативную принимали при уровне значимости $p<0,05$.

Результаты и обсуждение

При дополнении базисного лечения в основной группе сочетанным использованием мексидола и дипептивеналета летальность за весь период наблюдения (25 сут.) была статистически ниже на 18,4%, чем в группе сравнения (табл. 1).

the following vasopressor support (noradrenalin up to 6–9 mkg/kg/h and mesaton up to 3–5 mkg/kg/h) on the basis of continuous monitoring of NIBP, infusion therapy (crystalloids), 5) prophylaxis of thromboembolic complications and stress-ulcers of gastroenteric tract. Patients of group 2 (basic, $n=100$) were divided into 2 subgroups. The basic group was divided into 2 subgroups according to the method of glutamine introduction. In subgroup 21 ($n=70$), in addition to the basic treatment, patients received intravenously by drop infusion mexidol (2000 mg per day) and dipeptiven (250 ml per day) as nutritional therapy. Patients of subgroup 22 ($n=30$) additionally received *per os* glutamine (in total 27.5 g per day). Nutritional support: parenteral feeding (Kabiven, Nutriflex), enteral feeding (Nutroson) — in recovery of GIT function.

Monitoring of the patients' treatment outcomes was conducted from the moment of a patient's admission to the ICU until transfer of the patient to a specialized department or lethal outcome.

Statistical processing of the study results was carried out using the software package STATISTICA 8.0 (StatSoft, Inc. 2007) [15]. Significance of differences of sampling populations was determined by non-parametrical criteria. Differences of qualitative characters were evaluated by construction of cross tables and calculation of χ^2 and z criteria, odds ratio (OD) and risk ratio (RR), and their 95% of confidence intervals. Survival and surviving until a certain critical event (transfer from an intensive care unit to a specialized department, death) was analyzed by construction of survivalship curves according to the Kaplan-Meier method. Analysis of statistical significance of differences in survivorship curves between groups was carried out on the basis of calculation of the Cox's F -test and Mantel-Cox test. The null hypothesis was discarded and an alternative hypothesis was accepted at the significance level of $P<0.05$.

Results and Discussion

When administering the basic therapy with concomitant use of mexidol and dipeptiven in the basic group, mortality, for the entire period of studying (25 days), was statistically lower by 18.4% than in the control group (Table 1).

The method of construction of the Kaplan-Meier curves was used in the study process for detailed survival analysis. It was revealed that the use of mexidol and dipeptiven (basic group, $n=100$)

Таблица 1. Двухвходовая таблица сопряженности для сравнения летальности у больных групп 1 и 2.
Table 1. Two-input contingency table for comparison of mortality in the patients of groups 1 and 2.

| Groups | Result | | Comparison |
|------------|------------|------------|---|
| | Survived | Dead | |
| 1, $n=70$ | 27 (38.6%) | 43 (61.4%) | Difference: 18.4% (CI=2.3–33.5%); $\chi^2=4.87$; $P=0.027^*$ OR: 2.11 (CI=1.13–3.93); $z=2.4$, $P=0.02^*$ RR: 1.48 (CI=1.1–2.1); $z=2.4$, $P=0.02^*$ |
| 2, $n=100$ | 57 (57%) | 43 (43%) | |

Note. * — Difference between groups are statistically significant when $P<0.05$ (χ^2 and z criterion), CI 95% confidential interval, OR — odd ratio, RR — risk ratio.

Примечание. Groups — группы; Result — результат; Survived — выжило; Dead — умерло; Comparison — сравнение; Difference — различие; CI — ДИ; OR — ОШ; RR — ОР. * — различия между группами статистически значимы при $p<0,05$ (критерий χ^2 и z); ДИ 95% — доверительный интервал; ОШ — отношение шансов; ОР — относительный риск.

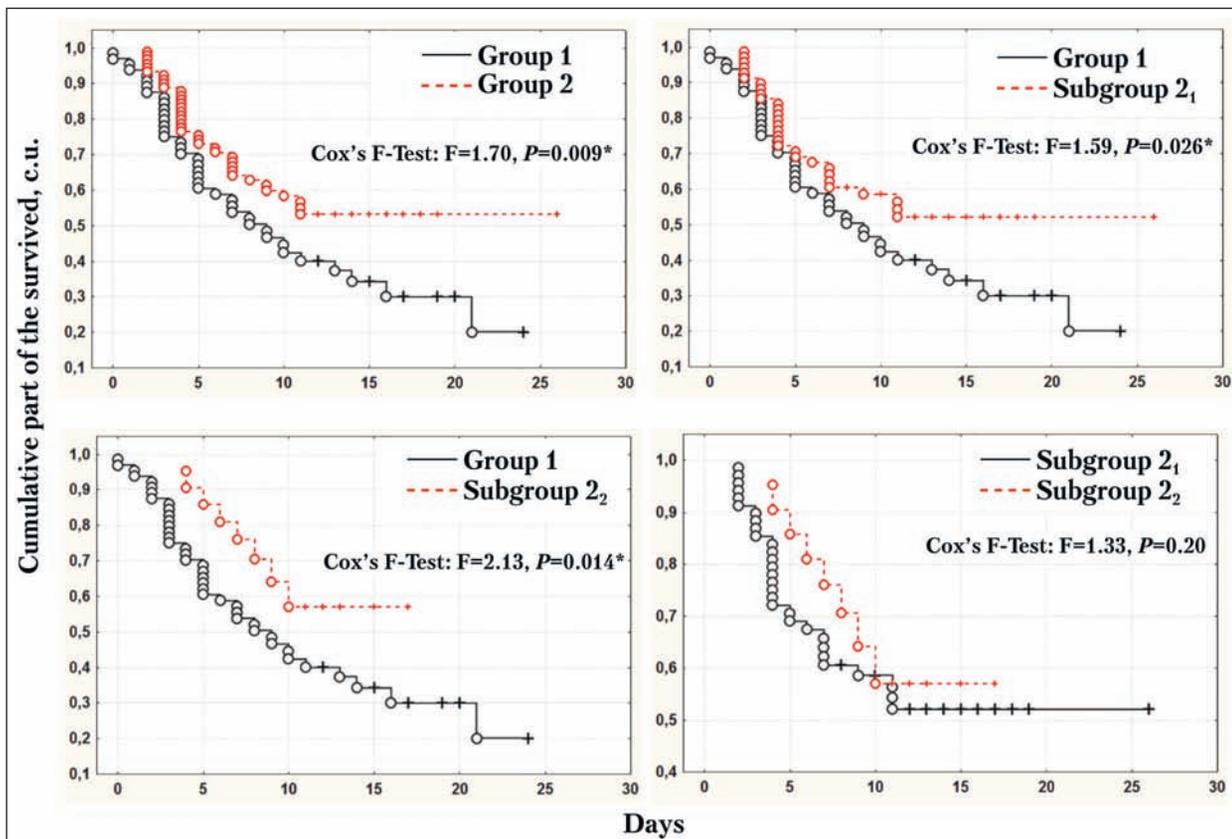


Рис. 1. Сравнение кумулятивной доли больных с абдоминальным сепсисом, выживших в группах и подгруппах.

Fig. 1. Comparison of cumulative part of patients with abdominal sepsis survived in groups and subgroups.

Note. o – Dead; + – Withdrawn. * – Differences between groups and subgroups are statistically significant when $P < 0.05$ (Cox's F-test).

Примечание. Для рис. 1–4: Cumulative part of the survived, c. u. – кумулятивная доля выживших, у. е.; Days – сутки; Group – группа; Subgroup – подгруппа; o – умершие; + – изъятые. * – различия между группами и подгруппами статистически значимы при $p < 0,05$ (F-критерий Кокса).

Для детального анализа выживаемости в процессе наблюдения использовали метод построения кривых Каплана-Мейера. Установили, что включение в лечение мексидола и дипептивена (основная группа, $n=100$) приводило к статистически значимому увеличению кумулятивной доли выживших больных по срокам. Кроме того, больные основной группы 2 в отдаленном периоде не умирали (рис. 1).

В подгруппе 2₂ основной группы трансфузионную терапию дополняли пероральным введением глутамина. Доказано, что между группой сравнения 1 и подгруппами 2₁, 2₂ существовали статистически значимые различия. Положительный эффект дополнительного перорального введения глутамина при использованных размерах выборок доказать не удалось, различий между подгруппами основной группы не выявили (рис. 1).

Пол и возраст являются факторами, которые можно рассматривать как предикторы результата лечения. Однако, при сравнении кумулятивной доли выживших мужчин и женщин, а также возрастных групп мы не выявили статистически значимых различий ($p > 0,05$) (рис. 2, 3).

in the treatment caused statistically significant increase by terms of cumulative part of the surviving patients. In addition, patients from the basic group 2 did not die in a remote period (Fig. 1).

In subgroup 2₂ of the basic group, transfusion therapy was complemented with oral introduction of glutamine. Between control group 1 and subgroups 2₂, 2₁ statistically significant differences were found. Positive effect of additional oral introduction of glutamine in used sampling sizes was not proved; differences between subgroups of the basic group were not revealed (Fig. 1).

Gender and age are factors, which may be considered as predictors of the treatment outcome. However, between the cumulative parts of survived males and females, as well as age groups, no statistically significant differences were revealed. P level was significantly higher than 0.05. Therefore, gender and age did not affect the treatment outcome (Fig. 2, 3).

For construction of the prediction model, the dependence between variables «treatment modification», «age» (independent ones) and lifetimes (dependent ones) is of concern. Model of Cox proportional intensities is the most general regression model that does not impose constraints upon the

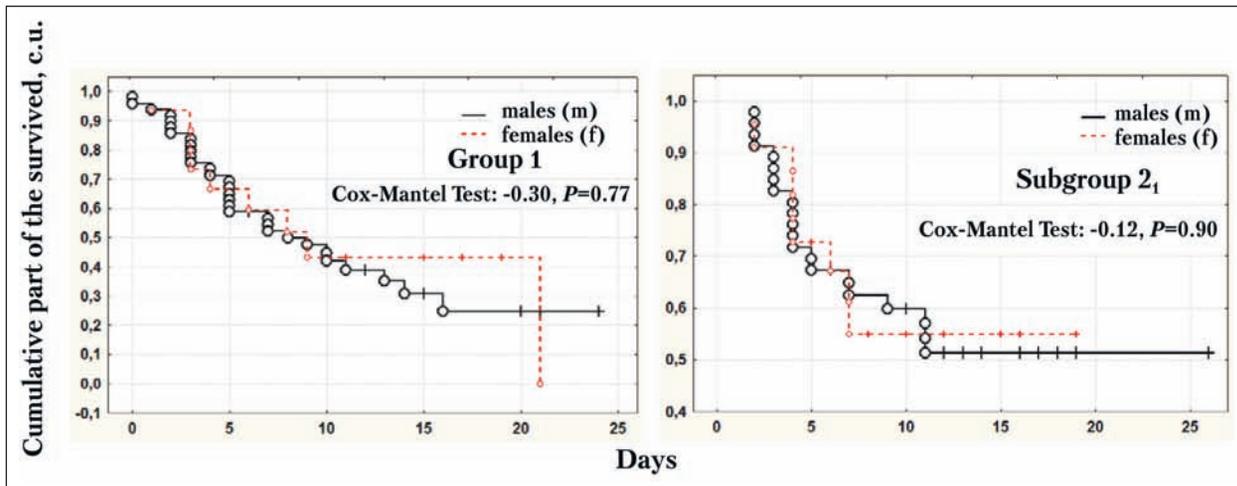


Рис. 2. Сравнение кумулятивной доли выживших мужчин и женщин с абдоминальным сепсисом в группе 1 и подгруппе 21.

Fig. 2. Comparison of cumulative part of the surviving males and females with abdominal sepsis in group 1 and subgroup 21.

Note. Group 1 (nm=51, nf=19); subgroup 21 (nm=47, nf=23). Differences between groups are statistically insignificant ($P>0.05$, Mantel-Cox test).

Примечание. males – мужчины (м); females – женщины (ж). Группа 1 (nm=51, пж=19); подгруппа 21 (nm=47, пж=23). Различия между группами статистически незначимы ($p>0,05$, критерий Кокса-Ментела).

Следовательно, пол и возраст не влияли на результат лечения.

Для создания модели прогноза представляли интерес переменные «модификация лечения», «возраст» (независимые) и времена жизни (зависимые). Наиболее общей регрессионной моделью, не накладывающей ограничения на форму функции выживания, является модель пропорциональных интенсивностей Кокса. Поэтому именно с ее помощью оценивали коэффициенты регрессии для этих 2-х независимых переменных с целью предсказания времен жизни (табл. 2).

Значение статистики критерия χ^2 для данной регрессионной модели статистически значимо ($p=0,04$), поэтому можно заключить, что, по крайней мере, одна независимая переменная действительно связана с выживаемостью. Этой переменной является дополнительное сочетание использования препаратов мексидол и дипептивен ($p=0,03$). Модель подтверждала результаты сравнения кумулятивной доли выживших больных по возрасту (рис. 3). Следовательно, полученные данные свидетельствовали о том, что на-

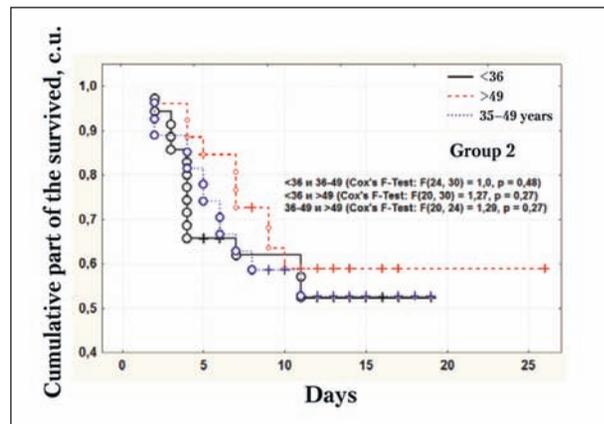


Рис. 3. Сравнение кумулятивной доли больных различного возраста с абдоминальным сепсисом, выживших в основной группе.

Fig. 3. Comparison of cumulative part of patients of different age with abdominal sepsis survived in the main group.

Note. The differences between groups 1 and 2 are statistically insignificant ($P>0.05$, Cox's F-test).

Примечание. Years – лет. Различия между возрастными периодами статистически незначимы ($p>0,05$, F-критерий Кокса).

Таблица 2. Регрессионная модель для цензурированных данных (выжившие больные, переведенные в профильное отделение).

Table 2. Regression model for censored data (survived patients transferred to specialized department).

| Parameters | Beta | Standard error | t level | Ex-beta | Wald test | P level |
|------------------|-------|----------------|---------|---------|-----------|---------|
| Age | 0.01 | 0.009 | 1.34 | 1.01 | 1.79 | 0.18 |
| Additional drugs | -0.33 | 0.15 | -2.14 | 0.72 | 4.57 | 0.03 |

For the model in general: $\chi^2 = 6.28$, $df=2$, $P=0.04^*$

Note. * – Parameter estimation (regression model) is considered as statistically significant (at the level of $P<0.05$).

Примечание. Parameters – параметры (также для табл. 3); Age – возраст; Additional drugs – дополнительные препараты; Standard error – стандартная ошибка; level – уровень (также для табл. 3); Wald test – критерий Вальда; For the model in general – для модели в целом. * – оценка параметра (регрессионной модели) рассматривается как статистически значимая (на уровне $p<0,05$).

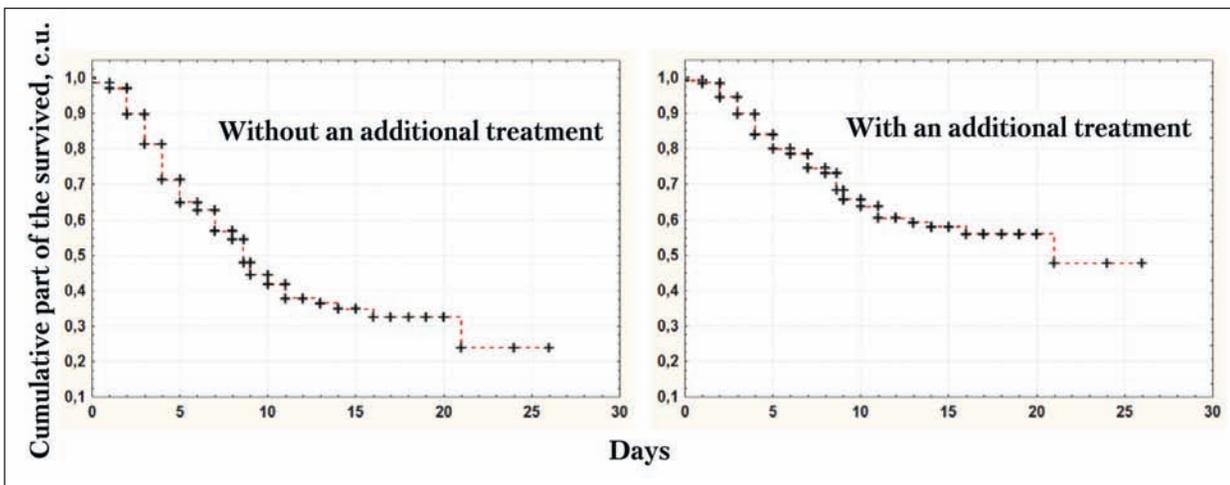


Рис. 4. Сравнение функции выживания для бинарных (дополнительное лечение — да или нет) независимых переменных полученной регрессионной модели.

Fig. 4. Comparison of survival function for binary (additional treatment — with or without) independent variables of the obtained regression model.

Примечание. Without/ with an additional treatment — без/с дополнительным лечением.

личие дополнительных препаратов, а не возраст пациента наиболее важный предиктор для функции мгновенного риска.

Модель позволила получить отличающиеся графики функции выживания для условно заданных значений независимых переменных (дополнительное лечение: да или нет) (рис. 4).

Согласно полученной модели, при лечении больных с АС без мексидола и дипептивена через 5 сут число выживших, переведенных из отделения реанимации в другое профильное отделение составит 65% от всех поступивших в отделение реанимации, а при использовании этих препаратов 80%. Через 10 сут 40 и 65%, через 15 сут 35 и 58%, соответственно. Это прогнозирует положительный эффект действия препаратов.

Лабораторные показатели (содержание фибриногена, альбумина, СРБ и TNF) между группами 1 и 2 статистически значимо различались по всем срокам наблюдения, в динамике (ANOVA Фридмана, $df=4$, $\chi^2 > 11,0$, $p < 0,02$), а также в артериальной и венозной крови (табл. 3). Все это свидетельствовало о влиянии внутривенного введения мексидола + дипептивена на функциональные системы организма.

Внутривенное введение мексидола и дипептивена оказывало влияние на процессы, проявляющиеся изменением СРБ (а), фибриногена (а) и TNF (а) — приводило к повышению уровня СРБ, TNF и снижению уровня фибриногена в артериальной крови. Известно, что в танатогенезе АС можно выделить: 1) катаболический взрыв — физиологически необходимый, но дефектный, с использованием всех допустимых резервов, 2) отсроченную активацию катаболизма. Поэтому гипоальбуминемия является тяжелейшим синдромом, отражающим катастрофическое снижение

form of survival function. Therefore, this model was used for estimation of regression coefficients for these two independent variables in order to predict lifetimes (Table 2).

The value of statistics of χ^2 criterion for this regression model is statistically significant ($P=0.04$), therefore, it may be concluded that, at least, one independent variable is actually connected to survival rate. Additional concomitant use of mexidol and dipeptiven drugs is variable ($P=0.03$). The model confirmed the results of comparing the cumulative proportion of patients surviving by age. Therefore, the obtained data testified that the presence of additional medications, and not the age of a patient, is the most important predictor for the immediate risk function.

The model provided significantly different graphics of survival function for relatively specified values of independent variables (additional treatment — yes or no) (Fig. 4).

According to developed model, treatment of patients with AS without mexidol and dipeptiven resulted in surviving of 65% of patients, transferred from an intensive care unit to other specialized department in, of all patients admitted to the intensive care unit. When mexidol and dipeptiven were applied surviving was increased to 80%. After 10 days and 15 days the differences remained comparable: 40% vs. 65% and 35% vs. 58%, respectively. Data demonstrate the positive effects of medication on patients' surviving.

Laboratory findings (fibrinogen, albumin, CRP and TNF content) in groups 1 and 2 show statistically significant difference determined during all periods of the study and in follow-up (ANOVA of Friedman, $df=4$, $\chi^2 > 11.0$, $P < 0.02$), with comparable differences when using arterial and venous blood

Таблица 3. Сравнение лабораторных показателей у пациентов группы I и II, Me (QL–QU).
Table 3. Comparison of laboratory findings in patients of group I and II, Me (QL–QU).

| Parameters | Values of parameters in groups on the days of the study | | P level |
|---------------------|---|------------------------|---------|
| | 1 (n=70) | 21 (n=70) | |
| | 1 st | | |
| Fibrinogen (a), g/l | 6.3 (3.4–6.3) | 3.17 (3.12–6.32) | <0.001* |
| Fibrinogen (b), g/l | 4.5 (2.5–4.6)** | 2.68 (2.63–4.65)** | <0.025* |
| Albumin (a) | 26.2 (25.7–39.8) | 30.27 (26.30–30.42) | <0.001* |
| Albumin (b) | 33.6 (28.7–33.9) | 28.35 (27.10–33.90) | <0.001* |
| CRP (a), mg/l | 8.8 (8.6–19.4) | 13.60 (8.79–13.69) | >0.05 |
| CRP (b), mg/l | 12.3 (11.7–13.7) | 12.20 (12.10–12.30)** | <0.001* |
| TNF (a), ng/ml | 495.7 (489.7–504.2) | 712.4 (496.5–713.8) | <0.001* |
| TNF (b), ng/ml | 323.4 (320.4–350.3)** | 683.3 (324.5–686.4)** | <0.001* |
| | 5 th | | |
| Fibrinogen (a), g/l | 4.7 (4.7–7.6) | 3.80 (3.78–3.92) | <0.001* |
| Fibrinogen (b), g/l | 3.3 (3.2–4.8)** | 3.42 (3.40–3.5)** | <0.001* |
| Albumin (a) | 34.3 (22.0–35.7) | 27.64 (27.50–27.73) | <0.001* |
| Albumin (b) | 27.3 (25.7–30.9) | 25.3 (25.20–25.6)** | <0.001* |
| CRP (a), mg/l | 24.7 (10.2–25.75)# | 22.1 (22.10–22.39) | >0.05 |
| CRP (b), mg/l | 16.2 (15.8–16.7)**# | 23.09 (22.90–23.23)** | <0.001* |
| TNF (a), ng/ml | 874.2 (494.2–881.5)# | 685.9 (684.60–687.4) | <0.001* |
| TNF (b), ng/ml | 610.7 (345.9–620.4)**# | 623.8 (621.60–625.3)** | <0.001* |
| | 10 th | | |
| Fibrinogen (a), g/l | 8.3 (8.1–9.8)# | 4.62 (4.60–4.64) | <0.001* |
| Fibrinogen (b), g/l | 5.7 (5.6–7.0)**# | 4.10 (4.09–4>15)** | <0.001* |
| Albumin (a) | 34.4 (18.7–37.8) | 28.22 (28.10–28.4) | <0.001* |
| Albumin (b) | 24.5 (23.5–26.9)** | 25.7 (25.60–25.9)** | <0.005* |
| CRP (a), mg/l | 33.1 (16.8–34.0) | 21.5 (21.40–21.6) | <0.001* |
| CRP (b), mg/l | 23.7 (22.9–23.9)**# | 23.3 (23.20–23.5)** | <0.005* |
| TNF (a), ng/ml | 1173 (892–1203)# | 530.7 (530.60–533.7) | <0.001* |
| TNF (b), ng/ml | 836 (354.6–838.3)**# | 486.5 (484.70–489.2)** | <0.001* |

Note. * – Differences between the groups are statistically significant at $P<0.05$ (Kolmogorov-Smirnov test). ** – Differences between arterial and venous blood (within a group) are significant at $P<0.05$ (Wilcoxon test). # – Differences in comparison with the previous period are significant at $P<0.001$ (Wilcoxon test), ANOVA of Friedman. Me – median; (QL–QU) – interquartile range.
Примечание. Values of parameters in groups on the days of the study – значения параметров в группах по дням исследования; Fibrinogen, g/l – фибриноген, г/л; Albumin – альбумин; CRP, mg/l – СРБ, мг/л; TNF, ng/ml – нг/мл. * – Различия между группами статистически значимы при $p<0,05$ (критерий Колмогорова-Смирнова. ** – Различия между артериальной и венозной кровью (внутри группы) значимы при $p<0,05$ (критерий Вилкоксона). # – Различия в сравнении с предыдущим сроком значимы при $p<0,001$ (критерий Вилкоксона), ANOVA Фридмана. Me – медиана; (QL–QU) – интерквартильный размах.

белок-синтетической функции печени. В нашей работе динамика течения абдоминального сепсиса, оценка эффективности применения мексидола и глутамина проводилась с позиций определения альбумина, фибриногена, СРБ, TNF в артериальной и венозной крови. Акцент делался на артерио-венозную разницу по данным показателям. Альбумин – регулятор обмена липопротеидов крови, играющих значительную роль в развитии сепсиса, переносчик гормонов, витаминов, микроэлементов [1, 2, 16, 18]. Выявленное нами, появление статистически значимой артериовенозной разницы по альбумину – начало катастрофы с разрушением жизнеобеспечивающей иерархии: коллоидно-осмотическое давление – капиллярное давление – транскапиллярный обмен [18].

В литературе СРБ рассматривается как интегральный показатель результатов интенсивной терапии [12]. Основная функция СРБ – роль носителя патофизиологического субстрата энергии к клеткам рыхлой соединительной ткани, где непосредственно осуществляется воспаление. Арте-

(Table 3). The results confirmed the positive therapeutic effect of intravenous administration of mexidol + dipeptiven on functional systems of organism.

Intravenous administration of mexidol and dipeptiven affected the processes that manifest themselves in alterations of concentrations of CRP (a), fibrinogen (a) and TNF (a): an increase of CRP, TNF levels and a decrease of fibrinogen level in the arterial blood.

It is known that in thanatogenesis of AS the following elements might be distinguished: 1) catabolic burst – physiologically necessary but defective, with using of all acceptable reserves, 2) suspended activation of catabolism. Therefore, hypoalbuminemia is the most severe syndrome reflecting a catastrophic decrease of protein-synthetic function of liver. Dynamics of abdominal sepsis and estimation of effectiveness of use of mexidol and glutamine were performed in our work from the perspective of determination of albumin, fibrinogen, CRP, and TNF in arterial and venous blood. The focus was on arteriovenous difference of these indicators. Albumin is a

риовенозная разница со снижением СРБ — критерий энергетического предела развития критического сценария [14].

Динамика артериовенозной разницы по TNF- α и его низкий уровень значимы для определения: 1) падения трансмембранного потенциала, 2) предела деструкции мембран эндотелиоцитов, 3) предельного подавления синтеза альбумина, 4) предела выброса АКТГ [1, 3, 8]. Поэтому снижение TNF- α в группе с неблагоприятным исходом на 1 сутки — свидетельство того, что степень деструкции неконтролируема, а аварийный энергоресурс исчерпан.

Гомеостаз фибриногена зависит от нормальной функции печени, а она во время АС существенно страдает. Организм не располагает запасом фибриногена и потому нуждается в его постоянном обновлении печенью. Факторы воспаления стимулируют синтез фибриногена и истощают биосинтетический потенциал печени. Фибриноген — острофазный белок и при высоких цифрах, выявленных нами, превращается в дополнительный фактор повреждения эндотелия. Это связано с тем, что большинство доменов фибриногена протеолитически отщепляясь вызывают эффект деструкции эндотелия. От состояния молекул фибриногена также зависят процессы воспаления, свертывания и денатурации крови, кроме того, фибринопептиды обладают выраженной противовоспалительной активностью.

Заключение

Результаты проведенного исследования свидетельствуют о статистически значимом положительном эффекте инфузии мексидола и дипептивена на фоне базисного лечения абдоминального сепсиса. При использовании этих препаратов летальность снижалась на 18,4% (95% ДИ: 2,3–33,5%). Анализ по Каплан-Мейеру показал наличие статистически значимых различий кривой выживаемости в группе сравнения 1 и основной группе 2. Пара дипептивен + мексидол привлекательна триггерной трансмиссией: глутамин восполняет дефицит энергосубстрата, мексидол повышает активность ключевых ферментов антиоксидантной защиты. Их суммарное корригирующее и антиоксидантное действие прерывает развитие патогенетического каскада. С одной стороны, это дает возможность избегать выраженных побочных эффектов, присущих препаратам с однозначным действием, с другой — определить эту пару, как имеющую проомоутермодуляторный тип действия и универсальную активность.

Литература

1. Гусев Е.Ю., Черешнев В.А. Системное воспаление: теоретические и методологические подходы к описанию модели общепатологического процесса. Часть 1. Общая характеристика процесса. *Патол. физиология и эксперим. терапия.* 2012; 4: 3–14.

regulator of blood lipoproteins exchange playing a significant role in the development of sepsis and transferring hormones, vitamins, microelements [1, 2, 16, 18]. We found a statistically significant arteriovenous difference in level of albumin that was a start of catastrophe with destruction of life-supporting hierarchy: colloid osmotic pressure — capillary pressure — transcapillary exchange [18].

CRP is considered an integral indicator of results of intense therapy [12]. The arteriovenous difference with a decrease of CRP is a criterion of energy limit of development of critical scenario [14].

Dynamics of the arteriovenous difference by TNF- α and its low level are significant for estimation of: 1) drop in transmembrane potential, 2) limit of destruction of endotheliocytes membranes, 3) terminal suppression of albumin synthesis, 4) limit of ACTH discharge [1, 3, 8]. Therefore, the decrease of TNF- α in the group of unfavorable outcome on Day 1 is an evidence of the fact that the destruction level is uncontrolled and energy reserves are exhausted.

Homeostasis of fibrinogen depends on normal liver function that suffers considerably during AS. There is no fibrinogen reserve in the body, hence it requires continuous renewal by the liver. Inflammation factors stimulate the synthesis of fibrinogen and exhaust the biosynthetic potential of liver. Fibrinogen is an acute-phase protein and when the values are high, it becomes an additional factor of endothelium damage because proteolytically cleaved domains of fibrinogen might cause endothelium destruction. Processes of inflammation, coagulation, and denaturation of blood also depend on the condition of molecules of fibrinogen since some fibrinopeptides might exhibit anti-inflammatory activity.

Conclusion

Results of the study demonstrate statistically significant positive effects of transfusion of mexidol and dipeptiven on surviving of patients with abdominal sepsis receiving basic treatment. When these drugs were used, mortality was decreased by 18.4% (95% of CI: 2.3–33.5%). Analysis by Kaplan-Meier plots showed statistically significant differences in survival curves between the control group 1 and basic group 2. The combination of dipeptiven + maxidol seems beneficial presumably due to the trigger transmission: glutamine renews the deficit of energy substrate, mexidol increases activity of key enzymes of antioxidant defense. Their cumulative action resulted in corrective and antioxidant effects that interrupted the pathogenetic cascade of sepsis development.

References

1. Gusev E.Yu., Chereshev V.A. Systemic inflammation: theoretical and methodological approaches to description of general pathological process model. Part I. General characteristic of the process. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimentalnaya Terapiya.* 2012; 4: 3–14. [In Russ.]

Sepsis

2. Гусев Е.Ю., Черешнев В.А. Эволюция воспаления. Цитокины и воспаление. 2012; 11 (4): 5–13.
3. Козлов В.К. Сепсис: этиология, иммунопатогенез, концепция современной иммунотерапии. Киев: Анна-Т; 2007: 296.
4. Повзун С.А. Важнейшие синдромы: патогенез и патологическая анатомия. СПб.: КОСТА; 2009: 480.
5. Савельев В.С., Гельфанд Б.Р. (ред.). Сепсис: классификация, клинико-диагностическая концепция и лечение. Практическое руководство. М.: МИА; 2013: 360.
6. Lagu T., Rothberg M.B., Shieh M.S., Pekow P.S., Steingrub J.S., Lindenauer P.K. Hospitalizations, costs, and outcomes of severe sepsis in the United States 2003 to 2007. *Crit. Care Med.* 2012; 40 (3): 754–761. <http://dx.doi.org/10.1097/CCM.0b013e318232db65>. PMID: 21963582
7. Levy M.M., Artigas A., Phillips G.S., Rhodes A., Beale R., Osborn T., Vincent J.L., Townsend S., Lemeshow S., Dellinger R.P. Outcomes of the Surviving Sepsis Campaign in intensive care units in the USA and Europe: a prospective cohort study. *Lancet Infect. Dis.* 2012; 12 (12): 919–924. [http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(12\)70239-6](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(12)70239-6). PMID: 23103175
8. Vincent J.L., Abraham E. The last 100 years of sepsis. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2006; 173 (3): 256–263. <http://dx.doi.org/10.1164/rccm.200510-1604OE>. PMID: 16239619
9. Wischmeyer P.E. The evolution of nutrition in critical care: how much, how soon? *Crit. Care.* 2013; 17 (Suppl 1): S7. <http://dx.doi.org/10.1186/cc11505>. PMID: 23514524
10. Бажина Е.С., Никулин А.В., Хорошилов С.Е. Экстракорпоральные методы лечения абдоминального сепсиса. *Общая реаниматология.* 2015; 11 (5): 45–66. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2015-5-45-66>
11. Кудрявцев А.Н., Кулабукхов В.В., Чижов А.Г. Выбор режима гемофильтрации при сепсисе. *Общая реаниматология.* 2016; 12 (2): 43–55. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2016-2-43-55>
12. Зильбер А.П. Этюды респираторной медицины. М.: МЕДПресс-информ; 2007: 792.
13. Гришук С.Ф., Безруков В.М. Синдром аминокислотного дисбаланса и метаболическая дисфункция при критических состояниях в хирургии. *Вестн. интенс. терапии.* 2004; 2: 10–13.
14. Гусев Е.Ю., Зотова Н.В., Лазарева М.А. Цитокиновый ответ и другие отличительные особенности критических фаз системного воспаления при сепсисе. *Мед. иммунология.* 2014; 16 (2): 173–182.
15. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных: применение пакета прикладных программ STATISTICA. 3-е изд. М.: МедиаСфера; 2006: 305.
16. Черешнев В.А., Гусев Е.Ю., Зотова Н.В. Фундаментально-прикладные аспекты системного воспаления с позиции теории физиологических и типовых патологических процессов. *Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова.* 2010; 96 (7): 696–707. PMID: 20973174
17. Скулачев В.П. Энергетика биологических мембран. М.: Наука; 1989: 564.
18. Шифрин А.Г., Горенштейн М.Л. Восстановление биоустойчивости при сепсисе. Запорожье: Эксперт; 2004: 300.
19. Novak F., Heyland D.K., Avenell A., Drover J.W., Su X. Glutamine supplementation in serious illness: a systematic review of the evidence. *Crit. Care Med.* 2002; 30 (9): 2022–2029. <http://dx.doi.org/10.1097/00003246-200209000-00011>. PMID: 12352035
20. Peterson M.D., Rhea M.R., Alvar B.A. Maximizing strength development in athletes: a meta-analysis to determine the dose-response relationship. *J. Strength Cond. Res.* 2004; 18 (2): 377–382. <http://dx.doi.org/10.1519/00124278-200405000-00031>. PMID: 15142003
21. Цветков Д.С. «Иммунное» питание: новые возможности коррекции метаболических нарушений у больных в критических состояниях. *Эффективная фармакотерапия.* 2014; 6: 28–35.
22. Верижникова Е.В., Доронинко Л.М. Применение препарата Мексидол в интенсивной терапии пациентов с мультиорганной недостаточностью. *Бюл. эксперим. биологии и медицины.* 2006; приложение 1: 104–107.
23. Воронина Т.А. Мексидол: основные нейropsychотропные эффекты и механизм действия. *Фарматека.* 2009; 6: 35–38.
24. Звягин А.А., Родионова С.С. Фармаконутриенты при парентеральном питании больных сепсисом (обзор литературы). *Вестн. интенс. терапии.* 2011; 4: 23–29.
2. Gusev E.Yu., Chereshev V.A. Evolution of inflammation. *Tsitokiny i Vospalenie.* 2012; 11 (4): 5–13. [In Russ.]
3. Kozlov V.K. Sepsis: etiology, immunopathogenesis, concept of modern immunotherapy. Kiev: Anna-T; 2007: 296. [In Russ.]
4. Povzun S.A. The most important syndromes: pathogenesis and pathological anatomy. Sankt-Peterburg: KOSTA; 2009: 480. [In Russ.]
5. Savelyev V.S., Gelfand B.R. (eds.). Sepsis: classification, clinical and diagnostic concept, and treatment. Practice guidelines. Moscow: Meditsinskoe Informatsionnoe Agentstvo; 2013: 360. [In Russ.]
6. Lagu T., Rothberg M.B., Shieh M.S., Pekow P.S., Steingrub J.S., Lindenauer P.K. Hospitalizations, costs, and outcomes of severe sepsis in the United States 2003 to 2007. *Crit. Care Med.* 2012; 40 (3): 754–761. <http://dx.doi.org/10.1097/CCM.0b013e318232db65>. PMID: 21963582
7. Levy M.M., Artigas A., Phillips G.S., Rhodes A., Beale R., Osborn T., Vincent J.L., Townsend S., Lemeshow S., Dellinger R.P. Outcomes of the Surviving Sepsis Campaign in intensive care units in the USA and Europe: a prospective cohort study. *Lancet Infect. Dis.* 2012; 12 (12): 919–924. [http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(12\)70239-6](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(12)70239-6). PMID: 23103175
8. Vincent J.L., Abraham E. The last 100 years of sepsis. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2006; 173 (3): 256–263. <http://dx.doi.org/10.1164/rccm.200510-1604OE>. PMID: 16239619
9. Wischmeyer P.E. The evolution of nutrition in critical care: how much, how soon? *Crit. Care.* 2013; 17 (Suppl 1): S7. <http://dx.doi.org/10.1186/cc11505>. PMID: 23514524
10. Bazhina E.S., Nikulin A.V., Khoroshilov S.E. Extracorporeal treatments for abdominal sepsis. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology.* 2015; 11 (5): 45–66. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2015-5-45-66>
11. Kudryavtsev A.N., Kulabukhov V.V., Chizhov A.G. The selection of hemofiltration regimen in sepsis. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology.* 2016; 12 (2): 43–55. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2016-2-43-55>. [In Russ., In Engl.]
12. Zilber A.P. Sketches of of respiratory medicine. Moscow: MEDPress-inform; 2007: 792. [In Russ.]
13. Grisuk S.F., Bezrukov V.M. Syndrome of amino acid imbalance and metabolic dysfunction in critical conditions in surgery. *Vestnik Intensivnoi Terapii.* 2004; 2: 10–13. [In Russ.]
14. Gusev E.Yu., Zotova N.V., Lazareva M.A. Cytokine response and other differences between critical phases of sepsis-associated systemic inflammation. *Meditsinskaya Immunologiya.* 2014; 16 (2): 173–182. <https://doi.org/10.15789/1563-0625-2014-2-173-182>. [In Russ.]
15. Rebrova O.Yu. Statistical analysis of medical data: application software package STATISTICA. 3-rd ed. Moscow: MediaSfera; 2006: 305. [In Russ.]
16. Chereshev V.A., Gusev E.Yu., Zotova N.V. Fundamental-applied aspects of systemic inflammation in terms of physiologic and typical pathological process. *Rossiyskiy Fiziologicheskiy Zhurnal Imeni I.M. Sechenova.* 2010; 96 (7): 696–707. PMID: 20973174. [In Russ.]
17. Skulachev V.P. Energy of biological membranes. Moscow: Nauka; 1989: 564. [In Russ.]
18. Shifrin A.G., Gorenstein M.L. Recovery of biostability in sepsis. Zaporozhye: Ekspert; 2004: 300. [In Russ.]
19. Novak F., Heyland D.K., Avenell A., Drover J.W., Su X. Glutamine supplementation in serious illness: a systematic review of the evidence. *Crit. Care Med.* 2002; 30 (9): 2022–2029. <http://dx.doi.org/10.1097/00003246-200209000-00011>. PMID: 12352035
20. Peterson M.D., Rhea M.R., Alvar B.A. Maximizing strength development in athletes: a meta-analysis to determine the dose-response relationship. *J. Strength Cond. Res.* 2004; 18 (2): 377–382. <http://dx.doi.org/10.1519/00124278-200405000-00031>. PMID: 15142003
21. Tsvetkov D.S. Immunonutrition: new opportunities of treatment of metabolic disorders in critically ill patients. *Effektivnaya Farmakoterapiya.* 2014; 6: 28–35. [In Russ.]
22. Verizhnikova E.V., Doroninko L.M. Application of Mexidol in intensive care of patients with multiorgan failure. *Byulleten Eksperimentalnoi Biologii i Meditsiny.* 2006; приложение 1: 104–107. [In Russ.]
23. Voronina T.A. Mexidol: main neuropsychotropic effects and mechanisms of action. *Farmateka.* 2009; 6: 35–38. [In Russ.]
24. Zvyagin A.A., Rodionova S.S. Pharmacconutrients in parenteral nutrition of patients with sepsis (review). *Vestnik Intensivnoi Terapii.* 2011; 4: 23–29. [In Russ.]

Поступила 13.04.16

Received 13.04.16

Клиническая этика запроса «не реанимировать» и других лимитирующих директив в работе врача анестезиолога-реаниматолога

Д. М. Бергер¹, В. Л. Зельман¹, Х. Мюир¹, Р. Амайя², К. И. Ершова³

¹ Департамент анестезиологии медицинской школы Кекка университета южной Калифорнии, США, СА 90033, г. Лос Анджелес, Зонал авеню 1975

² Департамент анестезиологии медицинского центра университета южной Калифорнии и округа Лос Анджелес, Лос Анджелес, США

³ Сколковский институт науки и технологий (Сколтех), Россия, 143025, Московская область, Одинцовский район, деревня Сколково, Новая ул., д. 100.

Clinical Ethics of the Do-Not-Resuscitate (DNR) Order and Other Advanced Directives in Anesthesia and ICU

Jack M. Berger¹, Vladimir Zelman¹, Holly Muir¹, Rodolfo Amaya², Ksenia Ershova³

¹ Department of Anesthesiology Keck School of Medicine University of Southern California
Los Angeles, California, USA
1975 Zonal Ave. Los Angeles, CA 90033

² Department of Anesthesiology Los Angeles County University of Southern California Medical Center
Los Angeles, California, USA

³ Skolkovo Institute of Science and Technology (Skoltech)
100 Novaya Str., Skolkovo derevnya, Odintsovo district, 143025 Moscow region, Russia

Успешное применение сердечно-легочной реанимации (СЛР) как рутинной практики спасения жизни пациентов в операционных во время анестезии позволило перенять ее для использования в палатах интенсивной терапии, затем во всех других отделениях госпиталей, и, в конечном итоге, внедрить повсеместно даже вне госпиталей. Это привело к возникновению этической дилеммы для пациентов, которые теперь сами должны запрашивать отключения приборов поддержания жизни, а также для их родственников, поставленных в сложную ситуацию при принятии решения вместо находящегося без сознания страдающего близкого человека. В этом обзоре рассматриваются этические принципы, на которые опираются администраторы госпиталей, врачи, пациенты и другие лица, выполняющие моральные обязательства обеспечения безопасности, комфорта и надлежащего лечения. Особое внимание в обзоре обращается на термин — запрос «Не реанимировать» (в англоязычной литературе *Do-Not-Resuscitate orders* или сокращенно *DNR*). Очевидно, что запрос «Не реанимировать» не равнозначен отказу от лечения пациента.

Ключевые слова: СЛР; DNR; этические принципы; этические директивы

Closed chest cardiopulmonary resuscitation (CPR), having been so successful after its introduction in the operating room for saving lives of anesthetized patients, was adopted for use in the intensive care units, then hospital-wide, and finally to out of hospital patients. This has led to ethical dilemmas involving patients who must themselves request discontinuation of artificial organ function devices and treatments, or placing family members in the difficult positions of having to make those decisions for their unconscious and suffering relatives. In this review, the Ethical principles on which physicians, hospitals, patients, and surrogate decision makers rely in order to apply their perceived moral obligations to provide patient safety, comfort, and treatment are examined with particular emphasis on do not resuscitate orders (DNR). It is clear that DNR does not equate with do not treat.

Key words: CPR; DNR; Ethical Principles; Advanced Directives

DOI:10.15360/1813-9779-2017-2-61-74

Введение

СЛР при закрытой грудной клетке впервые была использована у пациентов с остановкой сердца во время операций под общей анестезией, и первые сообщения говорили о большом успехе этой процедуры [1]. В 1961 году Джуд и соавт. со-

Introduction

Closed-chest Cardiopulmonary Resuscitation (CPR) was first employed for patients who suffered cardiac arrest during surgery under anesthesia and initially reported to have high success [1]. In 1961 Jude et al reported on the use of CPR in 118 patients

Адрес для корреспонденции:

Владимир Зельман. E-mail: vzelman@med.usc.edu
Ксения Ершова. E-mail: ksunershova@gmail.com

Correspondence to:

Vladimir Zelman. E-mail: vzelman@med.usc.edu
Ksenia Ershova. E-mail: ksunershova@gmail.com

обшили о применении СЛР у 118 пациентов с остановкой сердца в госпитале Джона Хопкинса [2]. Сообщалось, что хотя сердечная деятельность возобновилась у 78% пациентов, только у 60% восстановился первоначальный неврологический статус [2].

К 1963 году повсеместное рутинное использование СЛР привело к возникновению новой проблемы для пациентов, переживших остановку сердца [3]. Результатом успешной сердечно-легочной реанимации, в особенности у больных в критическом состоянии, часто становился продленный процесс умирания и продленные страдания [3, 4]. Но в медицинской литературе до 1976 г. не встречалось упоминаний о разрешении для врача составить для пациента запрос «Не реанимировать» (DNR) [3]. Достаточно ясно, что в те ранние сроки становления СЛР и DNR многим врачам и работникам здравоохранения было сложно объединить свои моральные обязательства, а именно — выполнение всего возможного для спасения и продления жизни пациентов, и этические принципы, которые формируют основу для законодательного внедрения этих обязательств.

Существует четыре основных этических принципа: невредительство [5], действие во благо [6], автономия пациента [7] и справедливость [8].

В предыдущих статьях авторами обсуждалось, что, внедряя обозначенные выше принципы в жизнь, врач должен балансировать между тремя дихотомиями [9]:

- Потенциальная польза от лечения должна быть сопоставлена с потенциальным вредом от него, т.е. — не вызовет ли СЛР больше вреда, чем пользы?

- Стремление сохранить жизнь — сохранит ли СЛР жизнь? Или необходимо своевременное осознание ее бесполезности и необходимости лишь обеспечения комфорта процесса умирания?

- Потребности индивида сопоставляются с потребностями всего общества — невозможно и неприемлемо предоставлять всю возможную медицинскую помощь каждому, кто ее запрашивает, включая СЛР.

Эрик Дж. Кассел в своей статье «Природа страданий и цели медицины» пишет «...облегчение страданий и излечение заболевания должны рассматриваться как два обязательства, которые действительно предназначены для лечения болезней. Врач, не понимающий природу страданий, может выполнять такие медицинские вмешательства (даже если они технически адекватны), которые не только не устраняют страдания, а сами являются причиной страданий.» [10].

Как указывают Тог, Брэтт и Фрейдер, изначально технологии СЛР были предназначены для спасения жизни пациентов с обратимыми сердечными аритмиями [11]. Однако в 1992 году, уже

with cardiac arrest at The Johns Hopkins Hospital [2]. They reported that although seventy— eight percent had cardiac action restored, only 60% were returned to pre-arrest central nervous system (CNS) and cardiac status [2].

By 1963, the routine use of CPR on all patients throughout the hospital lead to new problems for those who survived the arrest [3]. Prolonged suffering and a prolonged dying process was often the result of successful cardiac resuscitation, particularly in terminally ill patients [3, 4]. But it was not until 1976 that the concept of a hospital policy permitting a physician to write an order to not resuscitate a patient appeared in the medical literature [3].

It is clear that in those early days of CPR and DNR orders, many physicians and health care workers found it difficult to reconcile what they believed to be their «Moral Obligations» to do everything possible to save and extend the lives of their patients with the «Ethical Principles» that form the basis for the legal implementation of those moral obligations.

These Four Basic Ethical principles are: Nonmaleficence [5], Beneficence [6], Patient Autonomy [7] and Justice [8].

As discussed by this author in a previous manuscript [9], implementing the above principles the physician has to balance «Three Dichotomies» [9].

- The potential benefits of treatment must be balanced against its potential burdens; will CPR cause more harm than benefit?

- Striving to preserve life; will CPR preserve life? Or must we recognize that it would be biologically futile, and we must only provide comfort in dying.

- Individual needs are balanced against those of society; it is not possible or medically acceptable to offer everything to everyone who requests it including CPR.

Eric J. Cassel, in his article the «Nature of suffering and the goals of medicine,» stated «...The relief of suffering and the cure of disease must be seen as twin obligations of a medical profession that is truly dedicated to care of the sick. Physicians' failure to understand the nature of suffering can result in medical intervention that (though technically adequate) not only fails to relieve suffering but becomes a source of suffering itself» [10].

As stated by Truog, Brett, and Frader, the techniques of CPR were originally intended to attempt to save the lives of patients with reversible cardiac arrhythmias.¹¹ But in 1992 when their paper was written, the current practice was to use CPR in all situations unless there is a direct physician order not to resuscitate [11]. «Since cardiac arrest is the final event in all terminal illness, everyone is eventually a candidate for this medical procedure...and therefore ...DNR orders were developed to spare patients from aggressive

после публикации их статьи, существующая практика предписывала использовать СЛР во всех случаях остановки сердца, если только не было прямого указания «Не реанимировать» [11]. «Поскольку остановка сердца — это финальное событие всех терминальных состояний, каждый, в конце концов, является кандидатом для этой процедуры... и, таким образом, запрос «Не реанимировать» был разработан с целью уберечь пациентов от агрессивных попыток оживления, когда смерть ожидаема и неизбежна.» [11].

Зачастую происходит так, что пациент или люди, принимающие решение за него, требуют, чтобы было проведено все возможное лечение, включая СЛР, даже в тех случаях, когда врач считает, что СЛР бесполезна и может причинить больше вреда, чем пользы [9, 11]. В подобных случаях можно утверждать, что врач должен иметь возможность привести в действие запрос DNR без согласия пациента, его родственников или других лиц, принимающих решение [11, 12]. Некоторые пациенты и/или члены их семей не соглашаются на то, чтобы DNR-запрос был записан письменно из-за страха, что остальная медицинская помощь также будет отменена. Другие верят, что они должны сделать все возможное, чтобы продолжать жить по религиозным причинам. Обширная группа пациентов находится под влиянием того, что они видели по телевидению или в кино.

В 1996 году медицинский журнал Новой Англии (NEJM) опубликовал исследование о частоте успеха СЛР в популярных телесериалах, таких как «ER», «Chicago Hope» и «Rescue 911». На телевидении актеры успешно спасают 75% «пациентов». Но в реальности эта частота составляет гораздо меньше половины случаев [13].

Исследование 2009 года предполагает, что частота успеха СЛР на телевидении могла бы быть более реалистичной; однако, в сериалах дальнейшая судьба спасенных таким образом пациентов редко является частью сценария [14]. Более того, в сериалах редко показывают, как выполняется СЛР у пожилых, «терминальных» пациентов в ОРИТ, чаще это молодые пациенты с травмой, у которых больше шансов на выживание после СЛР [14]. Имея дело с реальными пациентами, врачи, когда они берут информированное согласие на DNR, должны принимать во внимание миф об успехе СЛР, посеянный масс-медиа [14].

Чтобы противостоять этому мифу исследователи изучили успешность СЛР (без использования автоматического дефибриллятора) при различных обстоятельствах [15]. Обнаружили, что СЛР была успешной в 2–30% случаев, если выполнялась вне госпиталя, в 6–15% — в госпитале, и в удручающих 5% — у пожилых пациентов с множественными медицинскими проблемами [15].

attempts at revival when imminent death is anticipated and inevitable» [11].

It is often the case that patients or their surrogate decision makers request that everything should be done including CPR even when the physician believes that CPR would be futile and only cause more harm [9, 11]. In such cases it can be argued that the physician should be able to enact a DNR order in the absence of consent from the patient, surrogate, or family [11, 12].

Some patients and/or family members will not consent to having a DNR order written because of fear that all measures of care will also be withdrawn. Others simply believe for religious reasons that they must have everything done to continue to live. Others still are swayed by what they have seen on television and movies.

In June 1996, the New England Journal of Medicine published a study about the success rates of CPR as shown on the television medical shows «ER», «Chicago Hope» and «Rescue 911». On television the actors successfully resuscitated 75% of the pretend patients. But according to the study, the real-life estimates were less than half [13].

A 2009 study suggested that the success rate of CPR on television may be more realistic; however, on television the long term survival of these resuscitated patients is rarely a part of the script [14]. In addition, we are rarely shown CPR being performed on older, sick, terminally ill patients in the intensive care unit on television, but rather young trauma patients with a better chance of surviving CPR [14]. In dealing with real patients, physicians must take into account the media myth of CPR success rates in obtaining informed consent to write a DNR order [14].

To counter this medical myth, researchers have studied the success rates of CPR (without the use of automatic defibrillators) in various settings: they found that CPR was successful in 2–30% of victims when administered outside of the hospital, in 6–15% for patients in the hospital, and a discouraging 5% or less for elderly victims with multiple medical problems [15].

With these statistics in mind, one must look back to the 4 basic principles of medical ethics for guidance in determining whether an individual patient should be a candidate for attempted CPR should a cardiac arrest occur while in the hospital; or whether a complete informed discussion should take place with the patient and/or surrogate decision maker as to placing a DNR order on the chart in order to avoid a catastrophic outcome and increased suffering for the patient.

First, «Do No Harm» implies that assessment of patients should be conducted in advance, when possible, to avoid causing more harm and suffering to patients who have little to no chance of surviving the brutality of the CPR process.

Ethics in Intensive Care

Case Law Example (Court Ruling Limits Rights of Patients, New York Times, By GINA KOLATA, Published: April 22, 1995)

| | | | | | |
|------|----------------------------------|---------------------------------------|--|---|---|
| 1995 | Gilgunn v Mass. General Hospital | Suffolk County Superior Court, Boston | Physician and hospital discontinued life-sustaining therapy and issued a do not attempt resuscitation order despite objections of the patient and surrogate when they deemed that further care was futile. | Court ruled there was no negligence on the part of the physician or hospital. | The right of physicians to make independent judgments about withdrawing life support against the wishes of the patient or surrogate had not yet been tested in appellate court. |
|------|----------------------------------|---------------------------------------|--|---|---|

Пример юридического случая. («Решение суда ограничивает права пациентов» The New York Times, Джина Колата, опубликовано 22 апреля 1995 года).

| Год | Случай | Судебный орган | Описание случая | Постановление суда | Вывод |
|------|---|-----------------------------------|---|---|---|
| 1995 | Катерина Ф. Гилганн; Центральный госпиталь Массачусетса | Высший суд округа Суффолк, Бостон | Врач и госпиталь остановили жизнеподдерживающую терапию и выдали DNR-запрос, несмотря на предыдущие требования пациентки и ее родственников, когда посчитали, что дальнейшее лечение будет бесполезным. | Суд постановил, что со стороны врача или госпиталя не было допущено халатности. | Право врачей выносить независимые суждения по поводу прекращения поддержания жизни, противоречащие желанию пациентов (родственников) еще не было подтверждено в Апелляционном суде. |

Памятуя эту статистику, следует оглянуться на 4 базовых принципа медицинской этики для определения необходимости возможной СЛР у индивидуального пациента, если у него случится остановка сердца в госпитале, или же с ним (или с другими людьми, принимающими решение) следует обсудить DNR-запрос и результаты обсуждения фиксировать в карте пациента для избежания «катастрофических последствий» и усиления его страданий.

Первый принцип «Не навреди» предполагает, что беседа с пациентом проводится заблаговременно, если это возможно, чтобы избежать увеличения страданий и вреда для того пациента, который имеет крайне низкие шансы пережить процесс СЛР.

Второй принцип «Делай хорошо, если можешь» (принцип восходит к Святому Фоме Аквинскому, философу и теологу тринадцатого века) требует предусмотреть то же самое. На самом деле, суд США уже постановил, что врачи не обязаны предлагать или проводить то лечение пациенту, которое, по их мнению, не принесет ему пользы, даже если пациент или его семья требуют этого лечения. Таким образом, вопрос о тщетности медицинского вмешательства уже был введен в судебные процедуры [16].

Принятие решения о бесполезности медицинского вмешательства всегда было сложной проблемой для врачей. В одном из древних трактатов гиппократовского корпуса «Искусство науки и медицины» врачам и пациентам рекомендуется: «Когда бы человек ни страдал от болезни, которая слишком сильна для средств, имеющихся в распоряжении медицины, он определенно не должен надеяться, что эта болезнь может быть преодолена с помощью медицины» [17]. Подобно этому, древнегреческие врачеватели

Second, «Do Good If You Can» (a concept originating from Saint Thomas Aquinas of the 13th century) requires the same forethought. In fact the courts in the United States have already ruled that «physicians are not obligated» to offer or provide treatments to patients that they feel would not be beneficial, even if the treatment is demanded by the patient or family. Thus the issue of futility of care was entered into court proceedings [16].

Decision making in medical futility has always been a problem for physicians. In one of the ancient Hippocratic, The Art treatises, physicians and patients are admonished: «Whenever a man [sic] suffers from an illness, which is too strong for the means at the disposal of medicine, he surely must not expect that it can be overcome by medicine» [17]. Similarly the ancient Greek healers suggested that «among the 3 goals of medicine were cure, relief of suffering, and the refusal to treat those overmastered by their illness» [18]. Hippocrates discouraged the sick from asking their physicians to attempt cures that had no possibility of success. And likewise, he (Hippocrates) reminded physicians «to attempt a futile treatment was to display an ignorance that is allied to madness» [17].

In the 21st century both ethicists and intensive care specialists have come to opine that physicians must accept the responsibility for recognizing the futility of certain interventions (like CPR), and to be granted the legal privilege to decide to limit care, even against the objections of the patient or the patient's legal representative [19, 20].

In his review article on medical futility, Fine gives examples of the development of the concept of futility of care, including CPR, which culminated in legislation such as THE TEXAS ADVANCE DIRECTIVES ACT OF 1999 [17].

Fine explains that this legislation integrated multiple previous laws dealing with terminal care

тели советовали: «Три цели медицины — это лечение болезней, избавление от страданий и отказ лечить тех, у кого болезнь зашла слишком далеко» [18]. Гиппократ при отсутствии вероятности успешного лечения отговаривал больных расспрашивать о нем врача. И более того, Гиппократ говорил, что «испытывать бесполезное лечение — это отражение невежества, граничащего с сумасшествием» [17].

В двадцать первом веке специалисты по этике, а также врачи отделений интенсивной терапии пришли к выводу, что врачи должны принять ответственность за распознавание тщетности определенных вмешательств (таких как СЛР) и получить официальное разрешение определить лимит помощи, даже если это будет вопреки требованиям пациента или его законных представителей [19, 20].

В обзоре статей на тему тщетности медицинских процедур, Файн дает примеры развития представлений о тщетности помощи, включая СЛР, которые утвердились законодательно. Например, в «Расширенном директивном акте Техаса 1999 года» [17]. Файн объясняет, что этот закон объединяет множество предыдущих законов, касавшихся принятия решения в отношении терминальных больных, и делает несколько важных поправок в отношении завещания, определения терминальности и необратимости заболевания, и новых требований о том, как именно должно быть засвидетельствовано согласие с лечением [17].

Новая техасская директива 1999 года признает, что пациент может использовать этот документ, чтобы определить, какое лечение он хочет принять или отклонить в ситуации терминальной или необратимой болезни [17]. Специально установленные лица также могут принимать такое решение, если пациент не в состоянии (будет обсуждаться позднее) самостоятельно его принять [17].

Однако, техасский акт также включает условия действий врачей вопреки директиве пациента, если они понимают, что запрошенное им лечение тщетно. Это также является условием для запроса этической консультации [17]. Согласно законодательству Техаса, врачи могут найти «безопасную правовую гавань» следуя предписаниям, указанным в Акте [17].

Положения техасского закона приведены ниже в той форме, как они формулируются в обзоре Файна, поскольку они очень похожи в Уставах всех Штатов и рассматриваются как руководство в решении этических конфликтов [17]. Эти положения являют собой «безопасную правовую гавань» для институтов, этических комитетов, врачей и первые в своем роде в стране [17].

1. Семье должна быть выдана письменная информация о политике госпиталя в отношении процесса этической консультации.

decision making into a one statute, and made several important changes to the living will, the definition of terminal and irreversible illness, and new requirements for how consents should be witnessed [17].

The new Texas advance directives of 1999 recognized that patients may use this document to specify which treatments they want to reject or request in the face of terminal or irreversible illness [17]. Designated surrogates could also make such decisions if the patient lacked capacity (to be defined later) to make the decisions himself or herself [17].

However the Texas Act also included a provision for the treatment team to challenge the patient's directive, if the physicians feel the treatment requested is «medically futile» [17]. There is also a provision for requesting an ethics consultation [17]. Under the Texas law, physicians could find «a legal safe harbor» by following the process as outlined in the Act [17].

The provisions of the Texas Law are reproduced below as taken from Fine's review article because they are similar to those of most States Statutes, and serve as guidelines for the resolution of Ethical conflicts [17]. These provisions as reproduced below provide the «legal safe harbor» for physicians, institutions, and ethics committees, the first of its kind in the country [17].

1. The family must be given written information concerning hospital policy on the ethics consultation process.

2. The family must be given 48 hours' notice and be invited to participate in the ethics consultation process.

3. The ethics consultation process must provide a written report to the family of the findings of the ethics review process.

4. If the ethics consultation process fails to resolve the dispute, the hospital, working with the family, must try to arrange transfer to another provider physician and institution who are willing to give the treatment requested by the family and refused by the current treatment team.

5. If after 10 days, no such provider can be found, the hospital and physician may unilaterally withhold or withdraw the therapy that has been determined to be futile.

6. The party who disagrees may appeal to the relevant state court and ask the judge to grant an extension of time before treatment is withdrawn. This extension is to be granted only if the judge determines that there is a reasonable likelihood of finding a willing provider of the disputed treatment if more time is granted.

7. If either the family does not seek an extension or the judge fails to grant one, futile treatment may be unilaterally withdrawn by the treatment team with immunity from civil or criminal prosecution.

Ethics in Intensive Care

Case Law Example (Salgo v. Leland Stanford etc. Bd. Trustees, 154 Cal.App.2d 560 [Civ. No. 17045. First Dist., Div. One. Oct. 22, 1957.]

OLGA SALGO, as Administratrix, etc., Respondent, v. LELAND STANFORD JR. UNIVERSITY BOARD OF TRUSTEES et al., Appellants.

| | | | | | |
|------|--|----------------------|---|--|------------------------------------|
| 1957 | Salgo v Trustees of Leland Stanford Hospital | Calif. Appeals Court | Salgo became paraplegic following a translumbar aortography. The patient was not informed of the risks. | The Court ruled that Physicians must inform patients of the risks, benefits and alternatives of treatment. | Enforced right to informed consent |
|------|--|----------------------|---|--|------------------------------------|

Пример юридического случая. Ольга Сальго в Лиланд Стэнфорд госпитале, 154 Cal. App. 2d 560; [Civ. No. 17045. First Dist., Div. One. Oct. 22, 1957.].

| Год | Случай | Судебный орган | Описание случая | Постановление суда | Вывод |
|------|--|----------------------------------|--|---|---|
| 1957 | Ольга Сальго в Лиланд Стэнфорд госпитале | Калифорнийский апелляционный суд | У пациентки развилась параплегия после транслумбарной аортографии. Она не была информирована о рисках. | Суд постановил, что врачи обязаны информировать пациентов о рисках, пользе и альтернативах лечения. | Приведено в исполнение право на информированное согласие. |

2. Семье дается 48 часов для изучения информации и затем ее приглашают к участию в процессе этической консультации.

3. Во время этической консультации составляется письменный отчет обо всех ее заключениях, акт затем отдается семье.

4. Если при этической консультации не удалось разрешить возникший диспут, госпиталь, работающий с семьей, обязан попытаться организовать перевод пациента в другое учреждение, которое готово предоставить то запрашиваемое семьей лечение, которое было отвергнуто текущей врачебной командой.

5. Если после десяти дней поисков такое учреждение не будет найдено, госпиталь и врачи могут в одностороннем порядке отменить лечение, определенное как тщетное, не имеющее смысла.

6. Несогласная сторона может подать апелляцию в соответствующий суд и запросить судью о продлении лимита времени до отмены лечения. Запрос будет удовлетворен, только если судья считает, что есть веские основания полагать, что при продлении будет найдено новое место лечения.

7. Если семья не подает апелляцию или судья не выдает разрешение на продление терапии, тщетное лечение может быть отменено врачебной командой в одностороннем порядке с абсолютным иммунитетом к гражданскому или уголовному преследованию.

Однако, вероятно, что подобная «автономия врача» вступает в противоречие с третьим основным этическим принципом «автономии пациента». С конца сороковых годов двадцатого века права пациентов или их родственников на участие в принятии медицинских решений расширя-

However, this «physician autonomy» given to physicians seems to be in conflict with the Third Ethical Principle, «Patient Autonomy.» Since the late 1940's the rights of patients or their designated surrogates to participate in medical decisions has grown and matured into the concept of «true informed consent» [7, 21, 22].

In *Canterbury v Spence*, 1972, the D.C. Court ruled that disclosure must include information that a «reasonable man» would consider important to make an informed decision [22]. Thus the Concept of «reasonable person» was established in obtaining informed consent [22].

It is clear however, that physicians are poor in communicating the true implications of CPR and the risks versus the benefits to individual patients or surrogate decision makers; and therefore situations of ethical dilemmas still occur.

DNR is a physician order. It is written into the patient's chart only after full disclosure to the patient or surrogate decision maker has been completed, including a discussion of the risks and benefits of CPR as well as the alternatives to CPR, and the risks and benefits of the alternatives have been disclosed [23]. The DNR order prevents the patient's right to refuse treatment, specifically CPR, from being violated; but does not prevent the patient from receiving other medically appropriate interventions, such as intravenous medications or antibiotics, unless they also are specifically declined by the patient [23].

Based on the report [«Universal Out-of-Hospital DNR Systems,» Opinion 2.225 Optimal Use of Orders-Not-to-Intervene and Advance Directives, adopted June 2005, (www.virtualmentor.org Virtual Mentor, July 2010 – Vol 12 555) the AMA Code of

Case Law Example (Canterbury v. Spence (464 F.2d 772) 1972) United States Court of Appeals for the District of Columbia Circuit

| | | | | | |
|------|---------------------|--------------------|--|---|---|
| 1972 | Canterbury v Spence | D.C. Circuit Court | Canterbury became quadriplegic following a laminectomy surgery. The Surgeons had disclosed information in accord with the standard in the community at the time. | The court ruled that disclosure must include information that a «reasonable man» would consider important to make an informed decision. | Concept of «reasonable person» established. |
|------|---------------------|--------------------|--|---|---|

Пример юридического случая. Canterbury v. Spence (464 F.2d 772) 1972.

| Год | Случай | Судебный орган | Описание случая | Постановление суда | Вывод |
|------|-----------------------------|--|---|--|---|
| 1972 | Катенбури в госпитале Спенс | Федеральный окружной суд округа Колумбия | У мисс Катенбури хирургическая ламинэктомия осложнилась квадриплегией. Хирург предоставил информацию в соответствии с общепринятыми стандартами того времени. | Суд постановил, что информация должна быть подана в таком виде, чтобы «обычный человек» посчитал ее достаточной для принятия информированного решения. | Сформировалась концепция «обычного человека». |

лись и в итоге вызрели в современную концепцию информированного согласия [7, 21, 22].

В Спенсе в 1972 году, суд округа Колумбия постановил, что информация для пациентов должна включать то, что «разумный человек» считает важным при принятии взвешенного решения (Таблица 3), [21]. Таким образом, концепция «обычного человека» была внедрена в процесс получения информированного согласия [22].

Однако очевидно, что врачи «не сильны» в обсуждении с пациентами реальных последствий СЛР, а также ее рисков и выгоды в отношении конкретного пациента или других лиц, принимающих решение, поэтому ситуация этической дилеммы сохраняется до сих пор.

DNR — это врачебный запрос. Он записан в медицинской карте пациента после того, как вся информация о СЛР полностью предоставлена пациенту или другим лицам, принимающим решение, включая обсуждение рисков и выгоды СЛР, а также возможные альтернативы, их риски и выгоду [23]. DNR — запрос предохраняет от нарушения права пациентов на отказ от лечения, в особенности от СЛР, но при этом не препятствует получению любых медицински обоснованных вмешательств, таких, например, как инъекции препаратов или антибиотиков, до тех пор пока пациент намеренно не отказался от них.

Руководство, изданное Американской Медицинской Ассоциацией (АМА), предполагает, что внимательное отношение к желаниям и потребностям пациента в финальной стадии заболевания на основании отчета [24] ведет к улучшению качества помощи больным в терминальных состояниях [24]. Рекомендации АМА включают несколько заявок и аббревиатур, которые могут быть внедрены для выявления предпочтений пациента при согласии либо отказе от лечения, которые в экстренных ситуациях могут помочь избежать нежелательного лечения лицами, не

Medical Ethics Opinions on Seriously Ill Newborns and Do-Not-Resuscitate Orders], the AMA guidelines propose that paying closer attention to patients' wishes and desires during end stage disease can lead to better end-of-life care [24]. The AMA opinion statement goes into multiple aspects of end-of-life care planning but specifically addresses the DNR orders [24]. The AMA recommendations include a series of orders and abbreviations for those orders that could be employed to designate patients' preferences for treatment or non treatment and to help avoid such treatments being given during emergencies by personnel not aware of the patients' status [24].

The AMA «Treatment avoidance orders might include, along with a Do Not Resuscitate (DNR) order, some of the following: Full Comfort Care Only (FCCO); Do Not Intubate (DNI); Do Not Defibrillate (DND); Do Not Leave Home (DNLH); Do Not Transfer (DNT); No Intravenous Lines (NIL); No Blood Draws (NBD); No Feeding Tube (NFT); No Vital Signs (NVS); and so forth» [24]. In order to avoid confusion the designation Do Not Treat (DNT), is discouraged, since it implies that no care should be given including unintentionally the comfort care that the dying patient requires; Full comfort care only (FCCO) serves the same purpose without the likely misinterpretation [24].

Since the condition of patients tend to change, particularly with patients in the intensive care unit, all treatment avoidance orders including DNR, should be reviewed frequently to ensure that they still conform to the patients' wishes [21].

Mr. Bartling's case confirmed that an adult who has «capacity» (which is different from «competency» in the context of medical decision making) may refuse medical treatment even if, in so doing, refusal of treatment may lead to death [25].

Capacity means that at the time of the discussion about DNR, the patient is able to understand the risks and benefits and alternatives of treatment

установившими заранее статус пациента по этому вопросу [24].

По предложению АМА, отказ от нежелательного лечения может включать не только запрос «Не реанимировать» (DNR), а также любое из следующего:

«Только уход и комфорт» (Full Comfort Care Only – FCCO)

«Не интубировать трахею» (Do Not Intubate – DNI)

«Не применять дефибриллятор» (Do Not Defibrillate – DND)

«Не оставлять дома» (Do Not Leave Home – DNLH)

«Не транспортировать» (Do Not Transfer – DNT)

«Не использовать венозные линии» (No Intravenous Lines – NIL)

«Не брать кровь» (No Blood Draws – NBD)

«Не ставить желудочный зонд» (No Feeding Tube – NFT)

«Не осматривать» (No Vital Signs – NVS) и так далее [24].

Чтобы избежать путаницы, запрос «Не лечить» (Do Not Treat – DNT) был отменен, поскольку он предполагал, что никакого лечения вообще не может быть применено, включая уход и создание комфорта, в котором нуждаются умирающие пациенты. Запрос «Только уход и комфорт» служит тем же целям, но без возможности быть неверно истолкованным [24].

Поскольку состояние пациента может меняться, особенно у пациентов в ОРИТ, все запросы на отказ от лечения, включая «Не реанимировать» (DNR), должны часто пересматриваться, чтобы убедиться, что они все еще соответствуют желаниям пациента [21].

Случай г-на Бартлинга подтверждает, что взрослый человек имеет право отказаться от лечения, даже если такой отказ может привести к смерти, если имеет такую способность, (это не то же самое, что «правомочность» в контексте принятия медицинского решения). [25]. В случае принятия решения «не реанимировать» термин «способность» означает, что пациент после адекватного разъяснения осознал риски, выгоды и альтернативы лечения, и принял решение об отказе от лечения [9]. Для определения Правомочности решений пациента, включая финансовых обязательств и недвижимостью, обычно требуется оценка психиатра или судьи [9]. Человек может обладать способностью решения в отсутствие его правомочности [9].

Право отказа от лечения отличается от права требования всего возможного лечения [25]. Этой проблемы касается четвертый принцип медицинской этики. Это принцип справедливости, который говорит о честном распределении ресурсов

offered adequately to make a decision about refusing treatment [9]. It does not require memory of that conversation later, and it is determined by the judgment of the physician.⁹ Competency usually requires evaluation by a psychiatrist or Judge to determine if a patient can make decisions about his/her financial affairs or estate [9]. One can have Capacity without having competency [9].

The right to refuse medical treatments is different from the right to demand all treatments [25]! The forth principle of medical ethics deals with this issue. That is, the principle of «Justice» deals with the fair distribution of resources between the individual patient and society at large [8]. In their study entitled «Do Not Resuscitate Orders and the Cost of Death,» Maksud and his associates examined whether implementation of advance directives lead to reductions in health care costs near the end of life, depending on when the orders were written and applied [26]. They reviewed the hospital charts of 852 of the 953 deaths that occurred in the hospital. The data they reviewed included resuscitation status, timing of DNR orders, participants in decision making, and physician and hospital charges [26].

Of the 852 patient records they reviewed, 73% had a DNR order at the time of death [26]. Interestingly, they found a wide range of use of DNR orders according to hospital service, 97% of those who died on the oncology service, while only 43% of the deaths on the cardiology services [26]. Seventeen percent of the patients who died in the hospital had DNR orders in place prior to admission [26]. Patients who died with a DNR order had longer hospital stays (median, 11.0 days) compared with those who died without a DNR order (6.0 days), indicating that implementing a DNR order does not lead to earlier deaths [26].

Overall average hospital charges for all patients who died were \$61,215. But the average hospital charges for those who were admitted to the hospital with a prior DNR order were \$10,631 and \$73,055 for those who had a DNR order instituted in hospital [26]. This study provides support for having discussions about DNR and advanced directives for patients with end stage diseases who might likely be admitted to the hospital. It clearly also demonstrated that patients with DNR orders prior to admission had lower overall hospital charges, it was not due to shorter length of stay or earlier deaths [26].

It is clear that obtaining consent from patients for DNR orders has not been used nor should it be used to decrease hospital costs but rather to decrease utilization of interventions such as CPR for cases in which cardiac arrest can be anticipated. In this light, as a final consideration in any discussion of DNR orders one must examine the maintenance or suspension of the DNR order when a severely ill or terminally ill patient must undergo a surgical procedure

Case Law Example (Bartling v. Glendale Adventist Medical Center) (1984) [Civ. No. B007907. Court of Appeals of California, Second Appellate District, Division Five. December 27, 1984.]

| | | | | |
|------|--|--|--|---|
| 1984 | William Bartling Calif. Appeals Court | 70 y/o male on ventilator support for pulmonary aspiration. He had a history of terminal cancer. He signed a living will and medical durable power of attorney requesting withdrawal of life support. His Family concurred. The Hospital and caregivers refused claiming the patient's mood changed according to his degree of depression. | The Appeals Court upheld Mr. Bartling's right to self – determination reversing a lower court support of the hospital. | This decision actually Upheld an 1891 Supreme Court Decision upholding common law right of self-determination; every individual has possession and control of his own person. An adult who has «capacity» may refuse medical treatment even if in so doing, refusal leads to death. Different from right to demand all treatments! |
|------|--|--|--|---|

Пример юридического случая. Вильям Бартлинг, 1984 [Civ. No. B007907. Court of Appeals of California, Second Appellate District, Division Five. December 27, 1984.].

| Год | Случай | Судебный орган | Описание случая | Постановление суда | Вывод |
|------|--|----------------------------------|--|--|--|
| 1984 | Вильям Бартлинг в Адвентистском Медицинском Центре в Глендейле, Калифорния | Калифорнийский апелляционный суд | 70-ти летний мужчина на ИВЛ по поводу аспирации с терминальной стадией рака в анамнезе. Он подписал завещание и медицинскую доверенность на отключение аппаратов поддержания жизни. Семья также согласилась. В госпитале отказались утверждать запрос, ссылаясь на то, что больного настроение постоянно меняется в зависимости от уровня депрессии. | Апелляционный суд постановил отменить в силе право г-на Бартлинга на отключение аппарата ИВЛ, в то время как суд нижней инстанции поддерживал госпиталь. | Это решение в действительности составляет в силе решение Высшего суда от 1891 года, устанавливающее право каждого на самоопределение. Каждый человек имеет право распоряжаться и контролировать свою личность и тело. Взрослый человек, способный отказаться от лечения, может это сделать, даже если это ведет к неминуемой смерти. В отличие от права требовать все возможные процедуры! |

между индивидуальными пациентами и обществом в целом [8]. В своем исследовании «Запрос «Не реанимировать» и цена смерти» Максуд и коллеги оценивали, ведет ли внедрение запросов DNR к уменьшению затрат здравоохранения на лечение безнадежных пациентов в зависимости от сроков их написания и применения [26].

Был проведен анализ 852 медицинских карт в 953 случаях смерти в госпитале. Анализировали частоту применения СЛР, время подачи заявки «Не реанимировать», участие пациентов в принятии решения и расходы на оплату врачам и госпиталю [26].

Из 852-х пациентов 73% сформулировали запрос «Не реанимировать» к моменту смерти [26]. Интересной находкой явилось то, что частота запроса «Не реанимировать» широко варьируется в зависимости от места нахождения пациента. Она составила 97% у пациентов, умерших в отделении онкологии и только 43% у умерших в отделении кардиологии [26]. 17% пациентов, умерших в госпитале, имели запрос DNR еще до поступления в госпиталь [26]. Пациенты, погибшие и имевшие DNR-запрос, в среднем дольше находились в госпитале (медиана 11 дней), чем те, кто не имели этого запроса (медиана 6 дней). Это показывает, что наличие запроса DNR не ведет к более ранней смерти [26].

Средняя сумма, списанная госпиталем за лечение умерших пациентов, составила 61 тысячу 215 долларов США. Однако, средняя стоимость

with general anesthesia with or without regional anesthesia.

In his review article Robert M. Walker examined the question of whether DNR orders should be routinely suspended when terminally ill patients undergo palliative surgery, as the situation existed in 1991 [27]. If the orders were to automatically be discontinued, he opines that patients (in 1991) would be forced to balance the benefits of having palliative surgery against the risks of unwanted resuscitation [27]. On the other hand, if physicians were constrained to honor DNR orders intra-operatively, they may also feel unacceptably restrained from correcting adverse effects for which they felt responsible for creating. [27].

Truog, Weisel, and Burns, in their article in the journal *Anesthesiology* in 1999, discussed the new guidelines of the American Society of Anesthesiology (ASA) dealing with the suspension or continuance of DNR orders when patients came for surgery and anesthesia [28]. The ASA guidelines were put forward because of «concerns that automatic suspension of DNR orders in the operating room did not sufficiently address a patient's rights to self determination in a responsible and ethical manner» [28]. The American College of Surgeons also addressed this same issue [28].

According to Truog, Weisel, and Burns the DNR status of patients requiring surgery needs to be better categorized to different scenarios which may occur in the operating room [28].

лечения для тех, кто поступил в госпиталь, имея DNR — запрос, составила 10 тысяч 631 доллар США, и 73 тысячи 55 долларов США для пациентов, подавших запрос DNR, находясь в госпитале [26]. Это исследование подтверждает необходимость продолжения дискуссии о целесообразности подачи запроса DNR и других запросов для пациентов в терминальной стадии заболевания, которые с большой вероятностью могут попасть в госпиталь в ближайшее время. Кроме того, исследование ясно показывает, что ранняя подача запроса «Не реанимировать» уменьшает затраты здравоохранения, не влияя на сроки госпитализации или наступления смерти [26].

Конечно же, согласие на запрос «Не реанимировать» не получают и оно не должно быть получено с целью экономии средств, а используется преимущественно для уменьшения частоты использования тщетной СЛР, в тех случаях, когда ожидаема остановка сердца. В свете этого, окончательное решение при любой дискуссии о формулировке запросе DNR должно приниматься на основании постоянного пересмотра необходимости поддержания или отмены этого запроса в случае, если пациенту планируется проведение операции под общей анестезией и/или региональной анестезией.

В своем обзоре Роберт Валкер изучает — стоит ли рутинно приостанавливать запрос DNR, когда пациенту проводится паллиативное оперативное вмешательство, как это было описано в 1991 году [27]. Роберт Валкер полагает, что если бы такие запросы автоматически отменялись, то это заставило бы пациентов сравнивать выгоду от паллиативной хирургии с рисками нежелательной СЛР [27]. С другой стороны, если врачи будут ограничены запросом DNR интраоперационно, то они могут чувствовать себя неприемлемо при коррекции тех осложнений во время операции, за которые они чувствуют себя ответственными [27].

Труог, Вейзель и Бернс в статье, опубликованной в журнале *Анестезиология* в 1999 году, обсуждают новые рекомендации Американского Общества Анестезиологов (ASA), в которых говорится об отмене или продлении запроса DNR, когда пациенты поступают в операционную и/или проводится анестезия [28]. ASA публикует рекомендации с «...беспокойством, что автоматическая отмена запроса DNR в операционной не отвечает праву пациента на самоопределение» [28]. Американский Колледж Хирургов также обсуждал эту проблему [28].

В соответствии с мнением авторов, статус DNR у пациентов, нуждающихся в хирургическом лечении, должен предусматривать различные сценарии, возможные в операционной [28].

В 2009 году в исследовании Вайзеля и других обнаружено, что только половина от опро-

в 2009 году, Вайзел et al found that only half of the anesthesiologists they surveyed were familiar with the ASA's current guidelines requiring reconsideration of DNR orders for patients coming to surgery [29]. Furthermore, unless it were possible to honor the DNR order intraoperatively at the request of the patient or surrogate, rescinding the order would eliminate its expressed intentions-to support patient autonomy and to prevent non-beneficial interventions [29].

These failures lead to serious consequences. Patients are deprived of the opportunity to make informed decisions regarding resuscitation, and CPR is performed causing harm to patients who would not have wanted it [29]. Waisel et al, highlight the persistent problems with today's use of inpatient DNR orders. For example DNR discussions do not occur frequently enough, or occur too late in the course of patients' illnesses to allow their participation in resuscitation decisions [29]. Furthermore, they maintain that many physicians fail to provide adequate information to allow patients or surrogates to make informed decisions and inappropriately apply the DNR orders to limit other treatments [29].

Jung et al proposed «strategies to target these factors including changing the hospital culture, reforming hospital policies on DNR discussions, mandating provider communication skills training, and using financial incentives» [30]. These suggestions are designed to promote the application of the Patient self-determination Act of 1990.

Now it is obvious that the induction of general anesthesia including endotracheal intubation may be necessary in order for surgeons to perform palliative surgical procedures, and chemical resuscitation may be necessary to combat the effects of anesthesia and the surgical trespass. Anesthesiologists and surgeons feel uncomfortable about not treating something they feel they may have caused. But anesthesiologists and surgeons accept the wishes of Jehovah's Witnesses who refuse transfusions and are willing to die rather than accept blood [27]. They also are aware that not resuscitating a patient in the operating room in accordance with the patient's wishes, is not tantamount to physician assisted suicide [27].

It is also possible that the patient may not be able to be extubated at the end of the surgery. The patient, family, and or surrogate must be informed that these measures alone do not constitute cardiopulmonary resuscitation. It therefore requires full discussion with the patient, family or surrogate decision makers and the surgeon, anesthesiologist, and primary care physician about informed consent, and whether CPR would be used intraoperative if a cardiac arrest were to occur. How long a patient would remain intubated post-operatively if the condition of the patient were to deteriorate to a persistent vege-

Case Law Example (The Patient Self-Determination Act (PSDA), United States Congress 1990)

| | | | | | |
|--|---|------------------|---|--|--|
| 1990 effective as of Dec. 1991 | The Patient Self-deter- mination Act | U.S. Congress | All institutionalized adults receiving medical care supported by federal funding such as Medicare or Medicaid, must be given information explaining their legal rights under State law to accept or refuse medical/surgical treatments and the right to formulate advance directives. | Confirms every adult's right to privacy, not to be invaded or treated against his/her will. This includes feeding tubes. | NOT ABSOLUTE The State may limit the right of personal liberty on the basis of several concepts: a) Preservation of life b) Prevention of suicide c) Protection of innocent third parties (minor children) d) Protection of ethical integrity and professional discretion of the medical profession |
|--|---|------------------|---|--|--|

Пример юридического случая. Акт о праве пациентов на самоопределение, принят Конгрессом США в 1990 году, вступил в силу с декабря 1991 года.

| Год | Случай | Судебный орган | Описание случая | Постановление суда | Вывод |
|------|---|----------------|---|---|--|
| 1990 | Акт о праве пациента на самоопределение | Конгресс США | Все взрослые граждане США, получающие медицинскую помощь за счет федеральных средств, таких как Medicare или Medicaid должны получить информацию, объясняющую их законные права, согласно закону Штата, согласиться или отказаться от медицинского / хирургического лечения и права на вынесение таких запросов, как «Не реанимировать» | Подтверждено право каждого индивида на неприкосновенность частной жизни, индивид не может подвергаться лечению против его воли, что включает установку желудочного зонда и искусственное питание. | Не абсолютно! Штат может ограничить свободу пациента на основании некоторых принципов: 1. Сохранение жизни. 2. Предотвращение суицида. 3. Защита третьей стороны. 4. Защита этической целостности и профессионального благоразумия в медицинской среде. |

шенных ими анестезиологов была знакома с текущими рекомендациями ASA, требующими пересмотра запроса DNR для всех пациентов перед операцией [29]. Более того, если не было возможности получить согласие DNR от пациента или родственников интраоперационно, то отмена запроса может противоречить их намерениям поддержки автономии пациента и предотвращения ненужных вмешательств [28].

Такой «провал» ведет к серьезным последствиям. Пациенты ограничены в возможности принять информированное решение, и СЛР причиняет вред пациентам, который они не хотели бы испытывать [29].

Вайзель подчеркивает актуальность проблемы с использованием запроса DNR в госпитале. Например, в процессе развития заболевания обсуждение запроса DNR проводится недостаточно часто или проводится слишком поздно, чтобы принять взвешенное решение [29]. Более того, авторы отмечают, что многие врачи не могут предоставить адекватную, необходимую для принятия осознанного решения информацию пациенту или другим лицам, принимающим решение; врачи также не всегда правильно применяют запрос DNR, ограничивая другое лечение [29].

Юнг и другие предложили «стратегии, нацеленные на различные факторы, включая изменение внутренней культуры госпиталей, реформирование политики госпиталя в обсуждении запроса DNR, проведение коммуникационных тренингов для персонала и использование финан-

tative state must also be clarified before proceeding to surgery.

In 2013 American Society of Anesthesiologists issued revised «Ethical guidelines for the anesthesia care of patients with do-not-resuscitate orders or other directives that limit treatment». Authors postulate that despite the variety of opinions, Do-Not-Resuscitate (DNR) orders or other directives that limit treatment, are an essential element of preoperative care and should be communicated among involved parties. Furthermore, guideline emphasizes that policies automatically suspending DNR orders or other directives that limit treatment prior to procedures involving anesthetic care may violate a patient's rights to self-determination and they should be reviewed and revised. Prior to procedures requiring anesthetic care, any existing directives to limit the use of resuscitation procedures should, when possible, be reviewed with the patient or designated surrogate. The patient's decision should be documented. The special attention is paid to a moral dilemma for anesthesiologist. Guideline says: «When an anesthesiologist finds the patient's or surgeon's/proceduralist's limitations of intervention decisions to be irreconcilable with one's own moral views, then the anesthesiologist should withdraw in a nonjudgmental fashion, providing an alternative for care in a timely fashion» [32].

Some hospitals developed unilateral DNR policies when a conflict arises because a family declines to sign DNR order even though CPR would be medically inappropriate. Massachusetts general hospital

совых стимулов» [30]. Эти рекомендации созданы для выполнения Акта о праве пациента на самоопределение (1990).

Очевидно, что индукция в анестезию, включая интубацию трахеи, может быть необходима для проведения паллиативного хирургического вмешательства, для устранения последствий анестезии и операции требуются химические агенты. Анестезиологи и хирурги ощущают значительный дискомфорт, когда они не вправе лечить осложнения, возникшие, как они считают, по их вине. Но анестезиологи и хирурги также воспринимают, например, желание Свидетелей Иеговы, отказывающихся от переливания крови и готовых скорее умереть, чем принять чужую кровь [27]. Они также осведомлены, что «непроведение» реанимации пациента в операционной в соответствии с его желанием не равнозначно врач-ассистированному самоубийству [27].

Кроме того, возможно, что нельзя будет экстубировать трахею пациента по окончании операции. Пациент, его семья и другие люди, принимающие решение, должны быть информированы, что подобные меры сами по себе не являются СЛР. Поэтому при отдельном обсуждении и с хирургом, анестезиологом, терапевтом требуется информированное согласие пациента, в том числе и на то, стоит ли использовать СЛР, если во время операции случится остановка сердца. То, как долго пациент будет получать ИВЛ после операции, если разовьется персистирующее вегетативное состояние, также должно обсуждаться до операции.

В 2013 году Американское общество анестезиологов выпустило обновленные рекомендации по анестезии у пациентов, подавших запрос «не реанимировать». В рекомендациях отмечается, что, несмотря на все разнообразие мнений и суждений о запросе «не реанимировать», он является существенной частью лечения и должен обязательно обсуждаться с пациентом (родственниками). Кроме того, другие рекомендации, автоматически отменяющие этот запрос, прямым образом нарушают право пациента на самоопределение и должны быть пересмотрены. Основными действиями, обозначенными в рекомендациях являются обсуждение и документирование.

Предлагается обсуждать запрос «не реанимировать» и другие ограничивающие директивы на всех этапах лечения с пациентом, с его законными представителями и с врачебной командой. А также документировать решения после каждого обсуждения [32]. Отдельным пунктом выделяются ситуации конфликта, в том числе морального. Если анестезиолог понимает, что ограничения в лечении, обозначенные пациентом, противоречат морали врача, то он должен

has had such policy since 2006. Ethical conflicts normally referred to ethics committee for its recommendation. Between 2006 and 2014 there were 147 investigations regarding disagreements about DNR status. The committee recommended writing a DNR order without family consent in about 35%, and physicians followed most of the recommendations (85%). Most of the recommendations involved irreversible fatal conditions, and most of these patients died before discharge [33].

In Russian Federation a DNR order and other advanced directives are regulated by Federal law №322 «About the health care for Russian citizens» and in particular, article №20 «Informed consent to medical intervention and a refusal of medical intervention». This article defines that patient and/or designated surrogate have a right to deny medical intervention or to stop it in any time except some cases. Those «some cases» include emergency medical treatment aimed to eliminate life threat of an unconscious patient. Thus, regardless the previous expressions of will done by patient his right to decline CPR are violated in this situation [34]. It looks like a misconception regarding the ASA guideline.

In conclusion, if early DNR policies tended to restrict the DNR order to terminally ill patients, newer policies acknowledge the first role of patients in decision-making in DNR order regardless the severity of illness or the situation if imminent death [33]. This conclusion is relevant for American clinical practice.

Neville Goodman stated that «Words are all we have to describe what we do, the way we do it, and what we infer from clinical research. We must use them carefully and properly» [31]. Ethical conduct in medicine is all about communicating with our patients, their families, and our colleagues.

немедленно отказаться от лечения такого пациента, предоставив достаточно времени для поиска замены [32].

Некоторые госпитали разработали юнилатеральную политику запроса «не реанимировать», когда конфликты в основном возникают из-за нежелания семьи подписывать запрос, хотя СЛР не имеет смысла.

Как описано в одном юридическом издании, Главный госпиталь Массачуссетса имеет такую политику с 2006 года. Возникающие конфликты рассматриваются этическим комитетом госпиталя. Так, между 2006 и 2014 годом комитетом было рассмотрено 147 разногласий относительно DNR статуса. Комитет рекомендовал написание запроса «не реанимировать» без согласия семьи в 35% случаев и врачи следовали этим рекомендациям в большинстве случаев (85%). Большинство рассмотренных случаев ка-

салось пациентов с необратимыми состояниями, которые умерли до выписки из госпиталя [33].

В Российской Федерации вопрос отказа от реанимации и других ограничивающих директив регулируется федеральным законом от 21.11.2011 N 323-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации», а именно, его статьей 20 «Информированное добровольное согласие на медицинское вмешательство и на отказ от медицинского вмешательства». Пункт 3 данной статьи говорит о том, что «Гражданин, один из родителей или иной законный представитель..., имеют право отказаться от медицинского вмешательства или потребовать его прекращения, за исключением случаев, предусмотренных частью 9 настоящей статьи. Такими исключениями является медицинское вмешательство, необходимое по экстренным показаниям для устранения угрозы жизни человека, если его состояние не позволяет выразить свою волю или отсутствуют законные представители, а также в отношении определенного круга лиц [34]. То есть, независимо от волеизъявления пациента до момента наступления бессознательного состояния, ему автоматически отказывается в праве на удовлетворение запроса «не реанимировать».

Таким образом, такая директива не соответствует рекомендациям, принятым Американским обществом анестезиологов.

Подытоживая сказанное — если ранние рекомендации относительно DNR запроса старались ограничить его только пациентами в терминальном состоянии, то есть ситуациями, когда смерть неминуема в ближайшее время, то новые рекомендации признают первостепенную роль пациента в принятии решения. В настоящее время принято принимать отказ пациента от СЛР также, как отказ от любого другого вмешательства — операции или химиотерапии, то есть пациент не обязательно должен быть в терминальном состоянии, но на любом этапе лечения [33]. Вывод релевантен относительно американской клинической практики.

Невиль Гудман утверждал, что слова — это все, что мы имеем для описания наших действий и выводов, получаемых из клинического исследования. Использовать их мы должны осторожно и надлежащим образом [31]. Этичное поведение в медицине — это искусство коммуникации, как с пациентами, так и с их семьями и коллегами.

References

1. Kouwenhoven W.B., Jude J.R., Knickerbocker G.G. Closed-chest cardiac massage. *JAMA*. 1960; 173: 1064–1067. <https://doi.org/10.1001/jama.1960.03020280004002>. PMID: 14411374
2. Jude J.R., Kouwenhoven W.B., Knickerbocker G.G. Cardiac arrest: report of application of external cardiac massage in 118 patients. *JAMA*. 1961; 178: 1063–1070. <https://doi.org/10.1001/jama.1961.03040500005002>. PMID: 14452697
3. Burns J.P., Edwards J., Johnson J., Cassem N.H., Truog R.D. Do-not-resuscitate order after 25 years. *Crit. Care Med*. 2003; 31 (5): 1543–1550. <http://dx.doi.org/10.1097/01.CCM.0000064743.44696.49>. PMID: 12771631
4. Symmers W.S. Not allowed to die. *Br. Med. J.* 1968; 1 (5589): 442. <https://doi.org/10.1136/bmj.1.5589.442>. PMID: 5639634
5. Spiegel D., Stroud P., Fyfe A. Complementary medicine. *West. J. Med.* 1998; 168 (4): 241–247. PMID: 9584661
6. Waisel D.B., Truog R.D. The cardiopulmonary resuscitation not indicated order: futility revisited. *Ann. Intern. Med.* 1995; 122 (4): 304–308. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-122-4-199502150-00011>. PMID: 7825768
7. Weindling P. Nazi medicine and the Nuremberg Trials: from medical war crimes to informed consent. New York: Palgrave MacMillan; 2004: 482.
8. Gillon R. Medical ethics: four principles plus attention to scope. *Br. Med. J.* 1994; 309 (6948): 184–188. <https://doi.org/10.1136/bmj.309.6948.184>. PMID: 8044100
9. Berger J.M. Ethics in palliative and end of life care. In: *Vadivelu N., Berger J.M., Kaye A. (eds.). Essentials of palliative and end of life care.* Yale University: Springer N.Y.; 2012: 518.
10. Cassel E.J. Nature of suffering and the goals of medicine. *N. Engl. J. Med.* 1982; 306 (11): 639–645. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJM198203183061104>. PMID: 7057823
11. Truog R.D., Brett A.S., Frader J. The problem with futility. *N. Engl. J. Med.* 1992; 326 (23): 1560–1564. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJM199206043262310>. PMID: 1285741
12. Hackler J.C., Hiller C. Family consent to orders not to resuscitate. *JAMA*. 1990; 264 (10): 1281–1283. <https://doi.org/10.1001/jama.1990.03450100071028>. PMID: 2388380
13. Diem S.J., Lantos J.D., Tulskey J.A. Cardiopulmonary resuscitation on television — miracles and misinformation. *N. Engl. J. Med.* 1996; 334 (24): 1578–1582. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJM199606133342406>. PMID: 8628340
14. Sasson C., Rogers M.A., Dahl J., Kellermann A.L. Predictors of survival from out-of hospital cardiac arrest: a systematic review and meta-analysis. *Circ. Cardiovasc. Qual. Outcomes*. 2010; 3 (1): 63–81. <http://dx.doi.org/10.1161/CIRCOUTCOMES.109.889576>. PMID: 20123673
15. Shmerling R.H. Medical myths: CPR: less effective than you might think. October 2012. On-line (search term «CPR»)
16. Gilgunn v Massachusetts General Hospital, the Suffolk County Superior Court (42) in Boston (1995).
17. Fine R.L. Medical futility and the Texas Advance Directives Act of 1999. *Proc. (Bayl. Univ. Med. Cent.)* 2000; 13 (2): 144–147. PMID: 16389368
18. Hippocratic corpus. The Art. In: *Reiser S.J., Dyck A.J., Curran W.J. (eds.). Ethics in medicine: historical perspectives and contemporary concerns.* Cambridge, Mass: MIT Press; 1977: 6–7.
19. Raffin T.A. Withdrawing life support. How is the decision made? *JAMA*. 1995; 273 (9): 738–739. <https://doi.org/10.1001/jama.1995.03520330068040>. PMID: 7853634
20. Asch D.A., Hansen-Flaschen J., Lanke P.N. Decisions to limit or continue life sustaining treatment by critical care physicians in the United States: conflicts between physicians' practices and patients' wishes. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1995; 151 (2 Pt 1): 288–292. <http://dx.doi.org/10.1164/ajrcm.151.2.7842181>. PMID: 7842181
21. Salgo v Trustees of Leland Stanford Hospital, California Appeals Court 1957. (Court ruled that physicians must inform patients of the risks, benefits and alternatives of treatment).
22. Canterbury v Spence, D.C. Circuit Court, 1972 (Concept of reasonable person).
23. The AMA Code of Medical Ethics Opinions on seriously ill newborns and do-not-resuscitate orders. *Virtual Mentor*. 2010; 12 (7): 554–557. <http://dx.doi.org/10.1001/virtualmentor.2010.12.7.coet1-1007>. PMID: 23182203
24. The AMA Code of Medical Ethics Opinions on seriously ill newborns and do-not-resuscitate orders. *Virtual Mentor*. 2010; 12 (7): 555. <http://dx.doi.org/10.1001/virtualmentor.2010.12.7.coet1-1007>. PMID: 23182203
25. California Appeals Court 1984 decision in case of William Bartling.
26. Mahsoud A., Jahnigen D.W., Skibinski C.I. Do not resuscitate orders and the cost of death. *Arch. Intern. Med.* 1993; 153 (10): 1249–1253. <https://doi.org/10.1001/archinte.1993.00410100075011>. PMID: 8494477
27. Walker R.M. DNR in the OR. Resuscitation as an operative risk. *JAMA*. 1991; 266 (17): 2407–2412. <https://doi.org/10.1001/jama.1991.03470170095031>. PMID: 1717723

Ethics in Intensive Care

28. *Truog R.D., Waisel D.B., Burns J.P.* DNR in the OR: a goal directed approach. *Anesthesiology*. 1999; 90 (1): 289–295. <https://doi.org/10.1097/00000542-199901000-00034>. PMID: 9915337
29. *Waisel D.B., Simon R., Truog R.D., Baboolal H., Raemer D.B.* Anesthesiologist management of perioperative do-not-resuscitate orders: a simulation-based experiment. *Simul. Healthc.* 2009; 4 (2): 70–76. <http://dx.doi.org/10.1097/SIH.0b013e31819e137b>. PMID: 19444043
30. *Yuen J.K., Reid M.C., Feters M.D.* Hospital do-not-resuscitate orders: Why they have failed and how to fix them. *J. Gen. Intern. Med.* 2011; 26 (7): 791–797. <https://doi.org/10.1007/s11606-011-1632-x>. PMID: 21286839
31. *Goodman N.W.* Neither obsession nor distraction: words must be chosen well. *Anesth. Analg.* 1998; 87 (3): 743–744. PMID: 9728870
32. Ethical guidelines for the anesthesia care of patients with do not-resuscitate orders or other directives that limit treatment. 2013. n.d. <http://www.asahq.org/-/media/Sites/ASAHQ/Files/Public/Resources/standards-guidelines/ethical-guidelines-for-the-anesthesia-care-ofpatients.pdf>.
33. *Devettere R.J.* Practical decision making in health care ethics: cases, concepts, and the virtue of prudence. 4-th ed. Washington, DC: Georgetown University Press; 2016: 657.
34. <http://publication.pravo.gov.ru/Document/View/0001201607040116> (accessed April, 2017)

Received 23.02.17



НСР

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СОВЕТ
ПО РЕАНИМАЦИИ



**European
Resuscitation
Council**

Курсы Европейского совета по реанимации

Курсы по навыкам оказания помощи
при внезапной сердечной смерти проводятся
на регулярной основе
в НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского
совместно с Российским Национальным советом по реанимации
и Европейским советом по реанимации

Контактное лицо – директор курса,
д. м. н. Кузовлев Артем Николаевич
Тел.: 8 (926) 188-76-41

E-mail: artemkuzovlev@gmail.com

www.niiorramn.ru/council/courses.php
Адрес: 107031, Москва, ул. Петровка, дом 25, стр. 2
Сайт Национального Совета по реанимации
www.rusnrc.com

О 18-й Всероссийской конференции с международным участием «Жизнеобеспечение при критических состояниях»

On 18th All-Russian Scientific Conference with International Participation «Life Support for Critical States»

Ежегодная 18-я Всероссийская конференция с международным участием «Жизнеобеспечение при критических состояниях» состоялась в Москве 1–2 декабря 2016 г.

Организаторами конференции выступили: Федеральное агентство научных организаций, Российская академия наук, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей реаниматологии им. В. А. Неговского», Национальный совет по реанимации, Российское общество по изучению шока, кафедра анестезиологии-реаниматологии ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А. И. Евдокимова» Министерства здравоохранения РФ, Совет молодых ученых Научно-исследовательского института общей реаниматологии им. В. А. Неговского.

В конференции приняли участие более 700 научных и практических специалистов в области анестезиологии-реаниматологии из России, Белоруссии, Украины и Узбекистана.

Участников конференции приветствовали: руководитель отдела фундаментальной и прикладной нейробиологии Государственного научного центра социальной и судебной психиатрии им. В. П. Сербского, заведующий кафедрой медицинских нанобиотехнологий Российского государственного медицинского университета, академик РАН, академик-секретарь отделения медико-биологических наук РАМН В. П. Чехонин; заведующий отделом анестезиологии-реаниматологии Российского научного центра хирургии им. Б. И. Петровского, профессор кафедры анестезиологии-реаниматологии Первого Московского государственного медицинского университета им. И. М. Сеченова, академик РАН, А. А. Бунятян; заведующий кафедрой хирургии Московского государственного медико-стоматологического университета, член-корреспондент РАН, профессор И. В. Ярема; директор ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей реаниматологии им. В. А. Неговского», Заслуженный деятель науки РФ, член-корреспондент РАН, профессор В. В. Мороз (фото 1 б, з).

Профессор В. В. Мороз в своем докладе «Современная реаниматология: достижения и перспективы» отметил ключевое значение анестезиологии-реаниматологии в медицине, обозначил основные научные достижения и перспективы развития ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей реаниматологии им. В. А. Неговского».



а



б



в



з

Фото 1. На заседаниях и в кулуарах конференции: профессор Р. Н. Акалаев (а); член-корреспондент РАН, профессор И. В. Ярема (б); профессор В. М. Писарев и профессор А. М. Голубев (в); член-корреспондент РАН, профессор В. В. Мороз и академик РАН, профессор В. П. Чехонин (з).

Программа конференции включала:

- пленарные и секционные доклады по актуальным вопросам анестезиологии-реаниматологии;
- лекционные курсы, направленные на повышение квалификации в области анестезиологии-реаниматологии;
- мастер-класс Национального совета по реанимации «Сердечно-легочная реанимация: современные алгоритмы» (Фото 2), в рамках которого был прочитан лекционный курс по современным алгоритмам сердечно-легочной реанимации и были продемонстрированы алгоритмы базовой, расширенной реанимации и использования устройства для механических компрессий грудной клетки;
- конференции молодых ученых «Современные методы диагностики и лечения в реаниматологии» совместно с заседанием студенческого научного кружка кафедры анестезиологии-реаниматологии МГМСУ им. А. И. Евдокимова «Анестезиолог-реаниматолог и центральная гемодинамика»;
- лекционный цикл ведущих специалистов анестезиологов-реаниматологов и неврологов: глотание, постреанимационные повреждения структуры мозга: динамика, механизмы, закономерности; новые антибиотики для лечения сепсиса;
- гемотрансфузия: показания и альтернативы; интенсивное лечение тяжелой сочетанной травмы; чреспищеводная эхокардиография в анестезиологии-реаниматологии; современные подходы к лечению нозокомиальной пневмонии; проблема сердечной недостаточности в некардиальной хирургии и др.
- выставку медицинского оборудования и расходного материала.

Секционные заседания конференции были посвящены проблемам острой дыхательной недостаточности, острым расстройствам гемодинамики, современным аспектам анестезиологии и экстракорпоральной детоксикации, травме и кровопотере, диагностике и лечению инфекционных осложнений критических состояний, гемостазиологии.

По мнению В. Т. Долгих, заведующего кафедрой клинической патофизиологии Омского государственного медицинского университета, целесообразно и в дальнейшем проводить широкоформатные



Фото 2. Мастер-класс Национального совета по реанимации «Сердечно-легочная реанимация: современные алгоритмы».

конференции по теме «Жизнеобеспечение при критических состояниях» с привлечением молодых ученых. Непосредственный обмен научным и врачебным опытом в рамках конференции позволяет не только повысить квалификацию специалистов, но и получить аттестационные баллы, поскольку 18-я Всероссийская конференция с международным участием «Жизнеобеспечение при критических состояниях» включена в систему непрерывного медицинского образования.

Программа и конференции доступна на сайте www.niiotramn.ru.

д. м. н. А. Н. Кузовлев

**Приглашение на XIII Всероссийскую конференцию
с международным участием
«Проблема инфекции при критических состояниях»**

**Invitation to XIII All Russian Scientific Conference
with International Participation
«The Problem of Infections in Critical States» (in Rus)**

Глубокоуважаемые коллеги!

Приглашаем Вас принять участие в работе XIII Всероссийской ежегодной конференции с международным участием «Проблема инфекции при критических состояниях» (Проблема «ИКС»), которая состоится 1 и 2 июня 2017 года.

Общая информация:

Участие для врачей бесплатное

Место проведения: Актовый зал ФНКЦ реаниматологии и реабилитологии, НИИ Общей реаниматологии им. В. А. Неговского

Адрес: г. Москва, ул. Петровка 25, стр. 2

Проезд: метро «Чеховская» или «Пушкинская», далее пешком.

Организаторы конференции проблема «ИКС»:

Федеральный научно-клинический центр реаниматологии и реабилитологии (директор, профессор А. В. Гречко),

НИИОР им. В. А. Неговского (руководитель, профессор И.В. Молчанов)

МГМСУ им. А. И. Евдокимова (зав. каф. анестезиологии-реаниматологии, член-корр. РАН, профессор В. В. Мороз)

Российская Ассоциация детских хирургов

РНИМУ им. Н.И. Пирогова (зав. каф. детской хирургии, член-корр. РАН, профессор А. Ю. Разумовский)

НИИ НДХиТ ДЗ г. Москвы (президент, профессор Л. М. Рошаль)

Координатор научной программы: д.м.н., проф. Н.В. Белобородова. Тел.: +7 (916) 131-74-54. E-mail: nvbeloborodova@yandex.ru

Ответственный за связь с регионами: к.м.н. О. С. Горбачев. Тел.: +7 (499) 254-29-17; +7 (903) 176-27-50. Факс: +7 (499) 254-29-17. E-mail: raps@telemednet.ru

Ответственный за публикацию материалов конференции: к.б.н. Е. А. Черневская. Тел.: +7 (906) 792-70-41. E-mail: problema-x@yandex.ru

Ответственный за информационную и спонсорскую поддержку: к.м.н. О. Н. Хабиб. Тел.: +7 (903) 755-73-53, +7 (495) 755-73-53. E-mail: alchemist755@yandex.ru

Ответственный исполнитель: ООО «Референс» Е. А. Макаренко. Тел.: +7 (903) 500-75-10. E-mail: buhaudit@gmail.com

Информационная поддержка: Русский Медицинский Сервер. <http://rusmedserv.com>

Основные темы конференции

«Проблема ИКС-2017»:

Теоретические вопросы

- Сепсис-3: опыт внедрения новых критериев
- Механизмы полиорганной недостаточности (ПОН)

- Септический шок
- Стратегии антибиотикотерапии в реаниматологии

- Новое в профилактике госпитальных инфекций

Нозологии

- ИВЛ-ассоциированная пневмония
- Сепсис-ассоциированная энцефалопатия (SAE)

- Абдоминальный сепсис
- Инфекции мягких тканей, раневая инфекция
- Инфекции при тяжелой и/или сочетанной травме

- Полиорганная недостаточность (ПОН)

Проблемные возбудители инфекций

- Этиология инфекционных осложнений/сепсиса
- Возбудители, устойчивые к карбапенемам
- Неферментирующие грамотрицательные бактерии

- Проблемные грамположительные кокки (MRSA, MRSE, VRE)

- Полирезистентные *Candida* spp.

Диагностика

- Микробиологический мониторинг в реаниматологии

- Биомаркеры сепсиса
- ОМИК — технологии (метабономика, ГХМС)

- ПЦР диагностика госпитальных инфекций

Антимикробная терапия

- Новые антибиотики для лечения грам(+), грам(-) и грибковых инфекций
- Противогрибковые препараты — оценка эффективности

- Ингаляционный путь введения антибиотиков

- Алгоритмы лечения под контролем биомаркеров

- Антисептики для местного лечения

Роль микробиоты

- Участие в механизмах развития критических состояний

- Микробиота и сепсис
- Микробиота как терапевтическая мишень
Метаболическая коррекция
- Конъюгация и экскреция токсических метаболитов
- Экстракорпоральная детоксикация
- Препараты для лечебного питания

Формы проведения конференции

Первый день — 1 июня (четверг)

- Лекции: А.Кumar (Canada), J.-M.Cavaillon (France), J.Odarjuk (Germany)
- Интерактивные симпозиумы.
- Научные доклады
- Выставка

Второй день — 2 июня (пятница)

Мастер-класс: Оптимизация диагностики и лечения инфекций

- Новые технологии и оборудование
- Интерпретация результатов лабораторной диагностики
- Разбор клинических случаев

Формы участия в конференции

- Посещение заседаний
- Обучение на Мастер-классе
- Заявка на научный доклад
- Демонстрация клинического случая
- Публикация в сборнике — тезисы (1–2 стр.) и /или статья (не более 5–10 стр.)

Требования к тезисам

Тезисы объемом не более 2-х страниц текста (формат А4, шрифт Times New Roman размер 12 пт, через 1,5 интервала, поля по краям 2,5 см) принимаются

в формате Word for Windows по электронной почте problema-x@yandex.ru в виде вложенного файла:

- Название
- Фамилия, И.О. авторов
- Учреждение, город, страна
- Цель. Материалы и методы. Результаты. Выводы.
- ФИО, почтовый адрес ответственного автора, телефон, факс, e-mail
- Текст должен быть тщательно выверен автором и правильно отформатирован.
- Файл с тезисом называют фамилией первого автора.

Для участия в конференции необходимо направить в Оргкомитет заявку, указать ФИО, организацию, подразделение, адрес, телефон, E-mail для обратной связи, а также желаемую форму участия.

Если автору требуется официальное приглашение — просьба указать.

Правильно оформленные, принятые Оргкомитетом тезисы и статьи будут опубликованы БЕСПЛАТНО в официальном Сборнике конференции. Сборнику будет присвоен код ISBN, обеспечена рассылка в библиотеки РФ и Российскойскую книжную палату.

ВНИМАНИЕ!

Электронная почта Оргкомитета — для тезисов и заявок на участие: problema-x@yandex.ru

Направляемые материалы должны быть получены Оргкомитетом не позднее 17 апреля 2016 г.

ОБЩАЯ РЕАНИМАТОЛОГИЯ

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

Тематика журнала: патогенез, клиника, диагностика, лечение, профилактика и патологическая анатомия критических, терминальных и постреанимационных состояний; оказание догоспитальной помощи при критических состояниях; обучение населения и медицинского персонала приемам оказания неотложной помощи при критических состояниях; оптимизация работы ОРИТ; юридические и этические вопросы в области анестезиологии-реаниматологии.

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 «Книга-Сервис»

- индекс 46338 — для индивидуальных подписчиков

Информация для авторов журнала «Общая реаниматология»

Правила подготовки, подачи и публикации рукописи, дополненные в соответствии с рекомендациями АНРИ (Ассоциации Научных Редакторов и Издателей, РФ) и ICMJE (International Committee of Medical Journal Editors) для научных изданий, входящих в международные базы данных, в редакции от 17.02.2017 г.

Information for English-Speaking Authors

Requirements for publication in the journal General Reanimatology based on «International Committee of Medical Journal Editors. Recommendations for the Conduct, Reporting, Editing and Publication of Scholarly Work in Medical Journals», which is available at <http://www.ICMJE.org>.

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

Предоставленная в редакцию рукопись полностью оригинальна. Использование любых материалов других авторов допускается только с их разрешения и при обязательной ссылке на этих авторов.

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.

Рукопись не содержит материалов, запрещенных в открытой печати действующим законодательством России.

Гарантии редакции

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

Неопубликованные материалы, находящиеся в предоставленной статье, не будут использованы в собственном исследовании научного редактора и рецензентов без письменного разрешения автора.

Рецензент не будет допущен к рассмотрению рукописи, если имеет место конфликт интересов в его конкурентных, партнерских либо других отношениях 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, регуливающими публикацию рукописей в медицинских журналах.

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

Формы письма:

1) Авторы не имеют замечаний после ознакомления с версткой и согласны на публикацию материала в представленном виде.

2) Авторы согласны на публикацию материала после внесения в верстку следующих правок и/или замечаний (далее следует перечень).

3) Авторы не согласны на публикацию материала в представленном виде в связи... (объяснение причины отказа).

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 рабочих дней с момента поступления рукописи в редакцию.

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

— Ответ автора рецензентам — не более 7-и рабочих 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 рабочих дней с момента выхода соответствующей информации.

Отправка материалов для публикации

Материалы для публикации на русском и английском языках следует направлять в виде электронных файлов на сайт журнала: www.reanimatology.com, или по адресу редакции: journal_or@mail.ru. Формат подписи файлов: фамилия первого автора, обозначение материала (текст, иллюстрации и др.), дата (число, месяц, год). Внимание: полностью автоматизированный перевод с русского языка на английский имеет низкое качество и не принимается. НКО Фонд «Медицина критических состояний» оказывает содействие в переводе материалов для публикации с русского языка на английский (справки по адресу редакции: journal_or@mail.ru).

Материал статей включает: 1) титульный лист; 2) резюме и ключевые слова; 3) полный текст рукописи с подписями всех авторов, под-

тверждающими участие в выполнении представляемой работы и удостоверяющими согласие с содержанием рукописи (в виде скана страницы); 4) таблицы и иллюстрации (графики, диаграммы, фотографии, рисунки и т. п.) с номером, названием и примечанием; 5) библиографический список; 6) сопроводительное письмо на русском языке на имя главного редактора журнала, подписанное руководителем учреждения, в котором выполнена работа.

Форма сопроводительного письма

Главному редактору журнала
«Общая реаниматология»
Заслуженному деятелю науки России,
член-корреспонденту РАН, профессору
В. В. Морозу

Просим рассмотреть вопрос о публикации ... (вид рукописи; Фамилии, Имена, Отчества всех авторов; название рукописи).

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

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

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

Подпись руководителя учреждения.

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

Требования к печати

Вид: ориентация книжная, выравнивание по ширине, формат А4.

Шрифт: Times New Roman 12-го размера черного цвета.

Интервалы и отступы: межстрочный интервал в тексте — 1,5; межстрочный интервал в подписях к таблицам и иллюстрациям, в примечаниях — 1; интервал до и после абзаца — нет; отступ первой строки — 1,25 см; поля — 2,5 см со всех сторон.

Нумерация страниц: в правом нижнем углу.

Формат файлов: текст, таблицы, подписи к таблицам и иллюстрациям — Word; графики, диаграммы — Excel; рисунки — jpeg; фотографии — высокого разрешения, сохраненные в любом формате.

Рекомендуемое разрешение при сканировании: изображения с использованием линий и рисунки — 1200 dpi; фотографии, радиографии — не менее 300 dpi; фотографии, радиографии с текстом — не менее 600 dpi.

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

Далее см. www.reanimatology.com

ПЛАН МЕРОПРИЯТИЙ – 2017

ФГБНУ «НИИ Общей реаниматологии им. В. А. Неговского»
г. Москва, ул. Петровка, д. 25, стр. 2.
Телефон: +7 (495) 650-25-17
E-mail: niiorramn@niiorramn.ru
<http://www.niiorramn.ru/>

XIII Всероссийская ежегодная конференция с международным участием
«Проблема инфекции при критических состояниях»

01.06.2017

(продолжительность: 2 дня)

Сертификационный цикл повышения квалификации врачей
по специальности «Анестезиология-реаниматология»

20.11.2017

(продолжительность: 144 часа = 20 дней)

XIX Всероссийская конференция с международным участием
«Жизнеобеспечение при критических состояниях»

30.10.2017

(продолжительность: 2 дня)

Ежегодная конференция молодых ученых
«Современные методы диагностики и лечения в реаниматологии»

01.11.2017

Институт Пастера (Париж, Франция)
проводит открытые бесплатные курсы по теме:
Врожденный иммунитет и инфекционные болезни
(Innate immunity and infectious diseases)

Срок проведения курсов: 02 мая 2017 г. – 11 июня 2017 г.

Продолжительность обучения: 2,5 часа в неделю, 6 недель

Форма проведения курсов: online, язык – английский

По завершению курсов участникам высылается
Сертификат института Пастера.

Ознакомиться с программой курсов

и получить более подробную информацию можно по ссылке:

<https://www.fun-mooc.fr/courses/course-v1:pasteur+96004+session01/about>



Join us, Paris,
Sept. 13th-15th 2017

- ❖ Good or bad gases
- ❖ Hemorrhagic shock
- ❖ Non-bacterial sepsis
- ❖ Biomarkers of infection
- ❖ Resolution of inflammation
- ❖ New tracks for new therapies
- ❖ Physiopathology of sepsis and MODS
- ❖ Antibiotics and anti-microbial strategies
- ❖ Consequences of shock and sepsis on brain
- ❖ Animal models for human shock and sepsis
- ❖ Long term consequences of trauma and sepsis
- ❖ Metabolic changes during sepsis/critical illness
- ❖ Immune dysregulation during sepsis and shock
- ❖ Revisiting sepsis definitions: impact and consequences
- ❖ Role of comorbidities in the danger responses to shock

15 SESSIONS

FIRST TIME

An ESS Summer school on sepsis
during the World Sepsis Day

A joint session with the
US shock Society

A joint session with the
Chinese Shock Society



XVIIth CONGRESS OF
THE EUROPEAN SHOCK SOCIETY

<http://www.essparis2017.org>