



www.reanimatology.com

ISSN 1813-9779 (print)

ISSN 2411-7110 (online)

ОБЩАЯ РЕАНИМАТОЛОГИЯ GENERAL REANIMATOLOGY

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ
Scientific-and-Practical Journal

Том 16

Volume 16

№ 3

Москва
Moscow
2020



ВСЕРОССИЙСКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ

ЖИЗНЕОБЕСПЕЧЕНИЕ ПРИ КРИТИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЯХ

13-14 ноября 2020 года, Москва, Российский университет дружбы народов

В рамках Конференции пройдут пленарные и секционные заседания, мастер-классы по следующим тематикам:

- Механизмы развития критических состояний.
- Травма, кровопотеря, шок.
- Острая дыхательная недостаточность. ИВЛ, экстракорпоральная оксигенация.
- Острые расстройства гемодинамики, вспомогательное кровообращение.
- Структурно-функциональные и метаболические изменения ЦНС при критических состояниях.
- Инфекционные осложнения в реаниматологии. Сепсис.
- Экстракорпоральные методы детоксикации в реаниматологии.
- Анестезиология-реаниматология в специализированных областях (педиатрия, акушерство и гинекология, сердечно-сосудистая хирургия, нейрохирургия и др.).
- Проблема гемостаза в анестезиологии-реаниматологии.
- Экспериментальные исследования в анестезиологии-реаниматологии.
- Образовательные технологии в анестезиологии-реаниматологии.
- Организационные и правовые вопросы анестезиологии-реаниматологии.

Планируется проведение спутниковых симпозиумов и совместных заседаний с медицинскими научными обществами:

- Обществом по изучению шока (Россия)
- Национальным Советом по реанимации,

а также представление результатов фундаментальных и прикладных научных исследований, проводимых на базе Федерального научно-клинического центра реаниматологии и реабилитологии (г. Москва, Россия).

К участию приглашаются **анестезиологи-реаниматологи, инфекционисты, нейрохирурги, специалисты скорой помощи, акушер-гинекологи**. Участие в Конференции — бесплатное. Мероприятие подано на аккредитацию в системе НМО.

По вопросам научной программы:

ЮРИЙ ГУСЕВ

Тел.: +7 (495) 650-96-77

E-mail: conference_fnkc@fnkcr.ru

По вопросам участия:

ИННОКЕНТИЙ КУЗНЕЦОВ

Тел.: +7 (495) 646-01-55, доб. 162

Моб.: +7 (925) 166-93-72

E-mail: spasti_zhizn@ctogroup.ru

ОБЩАЯ РЕАНИМАТОЛОГИЯ

научно-практический рецензируемый журнал

- охватывает вопросы медицины критических состояний
- публикует рукописи на русском и английском языках бесплатно
- включен в базы данных SCOPUS (с 2015 г.), РИНЦ, RSCI на платформе WoS CA, DOAJ и др. базы данных; Перечень изданий, рекомендованных ВАК для публикации результатов диссертационных работ

Свидетельство о регистрации: ПИ № ФС77-18690 от 02 ноября 2004 г. Печатное издание журнала «Общая реаниматология» зарегистрировано Федеральной службой по надзору за соблюдением законодательства в сфере массовых коммуникаций и охране культурного наследия.

Периодичность: 6 раз в год

Учредитель: © Фонд «Медицина критических состояний»



Издатель:
Федеральный научно-клинический центр реаниматологии и реабилитологии, Москва, Россия
Publisher:
Federal Research and Clinical Center of Intensive Care Medicine and Rehabilitology, Moscow, Russia

При поддержке Общероссийской общественной организации
«Федерация анестезиологов и реаниматологов»
Supported by Russian Federation of Anesthesiologists and Reanimatologists

РЕДАКТОРЫ

В. В. МОРОЗ, главный редактор, член-корр. РАН, профессор, ФНКИЦ реаниматологии и реабилитологии (г. Москва, Россия)
Г. А. РЯБОВ, зам. главного редактора, академик РАН, профессор, НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского ФНКИЦ реаниматологии и реабилитологии (г. Москва, Россия)
А. М. ГОЛУБЕВ, зам. главного редактора, д.м.н., профессор, ФНКИЦ реаниматологии и реабилитологии (г. Москва, Россия)
Д. А. ОСТАПЧЕНКО, научный редактор, д.м.н., Городская клиническая больница №1 им. Н. И. Пирогова (г. Москва, Россия)
В. М. ПИСАРЕВ, научный редактор, д.м.н., профессор, НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского ФНКИЦ реаниматологии и реабилитологии (г. Москва, Россия)

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

А. БАКУРИДЗЕ, д. фарм. наук, профессор, Государственный медицинский университет (г. Тбилиси, Грузия)
С. БАРАМИ, профессор, Международное общество по изучению шока, Институт экспериментальной и клинической травматологии им. Л. Больцмана (г. Вена, Австрия)
И. Г. БОБРИНСКАЯ, д.м.н., профессор (г. Москва, Россия)
Л. БОССАРТ, профессор, Консультативный комитет Европейского совета по реанимации (г. Антверпен, Бельгия)
Г. А. БОЯРИНОВ, д.м.н., профессор, Нижегородская государственная медицинская академия (Россия)
Ж.-Л. ВИНСЕНТ, профессор, Больница Эрасме Университет Либре (г. Брюссель, Бельгия)
Г. В. ГВАК, д.м.н., Областная детская клиническая больница (г. Иркутск, Россия)
Г. А. ГОРОДНИК, д.м.н., профессор, Национальный медицинский университет им. М. Горького, Донецкое клиническое территориальное медицинское объединение (Украина)
А. В. ГРЕЧКО, член-корр. РАН, профессор, ФНКИЦ реаниматологии и реабилитологии (г. Москва, Россия)
Е. В. ГРИГОРЬЕВ, д.м.н., профессор, НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний СО РАН (г. Кемерово, Россия)
А. И. ГРИЦАН, д.м.н., профессор, Красноярский государственный медицинский университет (Россия)

GENERAL REANIMATOLOGY

Scientific-and-Practical Peer-Reviewed Journal

- It is covering questions of medicine of critical states
 - Manuscripts in Russian and English are published free-of-charge
 - It is indexed in SCOPUS (Since 2015), РИНЦ, RSCI (WoS CA), DOAJ, 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
- Registration certificate** of the Journal «Obshchaya reanimatologiya» (General Reanimatology): ПИ № ФС77-18690, November 2, 2004, Federal Service for Supervision of Compliance with Legislation in the Sphere of Mass Communications and Protection of Cultural Heritage
Publication Frequency: 6 numbers per year.
Founder: © «Emergency Medicine» Fund

Издатель:
Федеральный научно-клинический центр реаниматологии и реабилитологии, Москва, Россия
Publisher:
Federal Research and Clinical Center of Intensive Care Medicine and Rehabilitology, Moscow, Russia

При поддержке Общероссийской общественной организации
«Федерация анестезиологов и реаниматологов»
Supported by Russian Federation of Anesthesiologists and Reanimatologists

EDITORS

Viktor V. MOROZ, Editor-in-Chief, MD, PhD, DSc, Professor, Corr. Member of RAS, Federal Research and Clinical Center of Intensive Care Medicine and Rehabilitology (Moscow, Russia)
Gennady A. RYABOV, Deputy Editor-in-Chief, MD, PhD, DSc, Professor, Member of RAS, V. A. Negovsky Scientific Research Institute of General Reanimatology, Federal Research and Clinical Center of Intensive Care Medicine and Rehabilitology (Moscow, Russia)
Arkady M. GOLUBEV, Deputy Editor-in-Chief, MD, PhD, DSc, Professor, Federal Research and Clinical Center of Intensive Care Medicine and Rehabilitology (Moscow, Russia)
Dmitry A. OSTAPCHENKO, Scientific Editor, MD, PhD, DSc, N. I. Pirogov Moscow City Hospital №1 (Moscow, Russia)
Vladimir M. PISAREV, Scientific Editor, MD, PhD, DSc, Professor, V. A. Negovsky Scientific Research Institute of General Reanimatology, Federal Research and Clinical Center of Intensive Care Medicine and Rehabilitology (Moscow, Russia)

EDITORIAL BOARD

Aliosha BAKURIDZE, Professor, PhD, Tbilisi State Medical University (Georgia)
Soheyl BAHRAMI, Professor, PhD, The International Federation of Shock Society (IFSS), Ludwig Boltzmann Institute of Experimental and Clinical Traumatology (Vienna, Austria)
Irina G. BOBRINSKAYA, MD, PhD, DSc, Professor (Moscow, Russia)
Leo L. BOSSAERT, MD, Professor, Board of Advisory Committee, European Resuscitation Council University of Antwerpen (Belgium)
Gennady A. BOYARINOV, MD, PhD, DSc, Professor, Nizhny Novgorod State Medical Academy (Nizhny Novgorod, Russia)
Jean-Louis VINCENET, Professor, Erasme Hospital, Universite Libre de Bruxelles (Belgium)
Gennady V. GVAK, MD, PhD, DSc, Regional Children Hospital (Irkutsk, Russia)
Georgy A. GORODNIK, DSc, Professor, Corr. Member of RAS, M. Gorky National Medical University; Donetsk Territorial Medical Association (Ukraine)
Andrey V. GRECHKO, PhD, DSc, Professor, Corr. Member of RAS, Federal Research and Clinical Center of Intensive Care Medicine and Rehabilitology (Moscow, Russia)
Evgeny V. GRIGORYEV, MD, PhD, DSc, Professor, Research Scientific Institute of Clinical Studies of complex problems of cardiovascular diseases, Siberian Branch, RAS (Kemerovo, Russia)

В. Т. ДОЛГИХ, д.м.н., профессор, НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского ФНКИЦ реаниматологии и реабилитологии (г. Москва, Россия)

И. Б. ЗАБОЛОТСКИХ, д.м.н., профессор, Кубанский государственный медицинский университет (г. Краснодар, Россия)

М. Н. ЗАМЯТИН, д.м.н., профессор, Институт усовершенствования врачей Национального медико-хирургического центра им. Н. И. Пирогова (г. Москва, Россия)

В. Л. ЗЕЛЬМАН, академик РАН, профессор, Медицинская школа Кекс (г. Лос Анджелес, США)

Ж.-М. КАВАЙОН, Европейское общество по изучению шока, Институт Пастера (г. Париж, Франция)

Н. А. КАРПУН, д.м.н., Городская клиническая больница № 68 (г. Москва, Россия)

И. А. КОЗЛОВ, д.м.н., профессор, Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М. Ф. Владимирского (г. Москва, Россия)

П. КОХАНЕК, профессор, Центр исследований проблем реаниматологии им. П. Сафара, Университет Питтсбурга (США)

А. Н. КУЗОВЛЕВ, д.м.н., НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского Федерального научно-клинического центра реаниматологии и реабилитологии (г. Москва, Россия)

В. В. ЛИХВАНЦЕВ, д.м.н., профессор, Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М. Ф. Владимирского (г. Москва, Россия)

Д. П. НОЛАН, профессор, Королевский объединенный госпиталь (г. Бат, Великобритания)

И. Ф. ОСТРЕЙКОВ, профессор, Российская медицинская академия непрерывного последипломного образования (г. Москва)

В. И. РЕШЕТНЯК, д.м.н., профессор, Московский государственный медико-стоматологический университет (Россия)

Д. М. САБИРОВ, д.м.н., профессор, Ташкентский институт усовершенствования врачей (Узбекистан)

Е. А. СПИРИДОНОВА, д.м.н., профессор, Национальный научно-практический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Д. Рогачева (г. Москва, Россия)

Н. Д. УШАКОВА, д.м.н., профессор, Научно-исследовательский онкологический институт (г. Ростов-на-Дону, Россия)

А. М. ХАДЖИБАЕВ, д.м.н., профессор, Республиканский научный центр экстренной медицинской помощи (г. Ташкент, Узбекистан)

С. Е. ХОРОШИЛОВ, д.м.н., Главный военный клинический госпиталь им. Н. Н. Бурденко (г. Москва, Россия)

А. М. ЧЕРНЫШ, д.м.н., профессор, НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского ФНКИЦ реаниматологии и реабилитологии (г. Москва, Россия)

Ю. Л. ШЕВЧЕНКО, академик РАН, профессор, Национальный медико-хирургического центр им. Н. И. Пирогова (г. Москва, Россия)

И. В. ЯРЕМА, член-корр. РАН, профессор, Московский государственный медико-стоматологического университет (Россия)

Технический секретарь Н. В. Голубева

Оригинал-макет: Н. В. Голубева

Верстка: С. В. Шишков

Типография: «Advanced Solutions», 119071, г. Москва, Ленинский пр-т, д. 19, стр. 1. E-mail: om@aov.ru

Контакты с редакцией:

Россия, 107031, г. Москва, ул. Петровка, 25, стр. 2.
Тел.: +7-495-650-25-20; +7-495-694-17-73.

E-mail: journal_or@mail.ru;

сайт: www.reanimatology.com

Подписка и распространение: индекс издания по каталогу «Книга-Сервис» — 46338.

Цена свободная

Подписано в печать: 02.07.2020

Alexey I. GRITSAN, MD, PhD, DSc, Professor, Krasnoyarsk State Medical University (Krasnoyarsk, Russia)

Vladimir T. DOLGIH, MD, PhD, DSc, Professor, V. A. Negovsky Scientific Research Institute of General Reanimatology, Federal Research and Clinical Center of Intensive Care Medicine and Rehabilitation (Moscow, Russia)

Igor B. ZABOLOTSKIY, MD, PhD, DSc, Professor, Kuban State Medical University (Krasnodar, Russia)

Michael N. ZAMYATIN, MD, PhD, DSc, Professor, Institute of Advanced Medical Studies, N. I. Pirogov National Medical Surgery Center (Moscow, Russia)

Vladimir L. ZELMAN, Member of RAS, Professor, Keck School of Medicine (Los Angeles, USA)

Jean-Marc CAVAILLON, DSc, European Shock Society (ESS), Institute Pasteur (Paris, France)

Nikolai A. KARPUN, MD, PhD, DSc, City Hospital № 68 (Moscow, Russia)

Igor A. KOZLOV, MD, PhD, DSc, Professor, M. F. Vladimirsky Moscow Regional Research Clinical Institute (Moscow, Russia)

Patrick M. KOCHANNEK, MD, FCCM, Professor, P. Safar Center for Resuscitation Research, University of Pittsburgh School of Medicine (USA)

Artem N. KUZOVLEV, MD, DSc, V. A. Negovsky Research Institute of Reanimatology, Federal Research and Clinical Center of Intensive Care Medicine and Rehabilitation (Moscow, Russia)

Valery V. LIKHVANTSEV, MD, PhD, DSc, Professor, M. F. Vladimirsky Moscow Region Clinical Research Institute (Moscow, Russia)

Jerry P. NOLAN, Professor, Royal United Hospital (Bath, UK)

Ivan F. OSTREYKOV, MD, PhD, DSc, Professor, Medical Academy of Continuous Postgraduate Education, (Moscow, Russia)

Vasily I. RESHETNYAK, MD, PhD, DSc, Professor, Moscow Medical Dental University (Russia)

Djurabay M. SABIROV, DSc, Professor, Tashkent Institute of Postgraduate Medical Education (Tashkent, Uzbekistan)

Elena A. SPIRIDONOVA, MD, PhD, DSc, Professor, D. Rogachev National Scientific Practical Centre of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology (Moscow, Russia)

Natalia D. USHAKOVA, MD, PhD, DSc, Professor, Rostov Cancer Research Institute, (Rostov-on-Don, Russia)

Abdukhakim M. KHADJIBAEV, MD, Professor, Republican Research Center of Emergency Medicine, (Tashkent, Uzbekistan)

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

Alexander M. CHERNYSH, PhD, DSc., Professor, V. A. Negovsky Scientific Research Institute of General Reanimatology, Federal Research and Clinical Center of Intensive Care Medicine and Rehabilitation (Moscow, Russia)

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

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

Technical Secretary: Natalia V. Golubeva

Artwork: Natalia V. Golubeva

Page-proof: Sergey V. Shishkov

Printing House:

«Advanced Solutions» 19, Leninsky Prospekt, Build. 1, Moscow 119071, Russia, E-mail: om@aov.ru

Contacts: 25 Petrovka Str., Build. 2, Moscow 107031, Russia.

Tel. +7-495-650-25-20; +7-495-694-17-73.

E-mail: journal_or@mail.ru;

Web: www.reanimatology.com

Subscription: Index 46338, refer to catalog of «Книга-Сервис»

Signed for printing: 02.07.2020

СОДЕРЖАНИЕ

CONTENTS

РЕДАКЦИОННЫЕ СТАТЬИ

EDITORIAL

Коронавирус SARS-CoV-2: гипотезы влияния на кровеносную систему, перспективы использования перфторуглеродной эмульсии, возможности биофизических методов исследования

В. В. Мороз, А. М. Черныш, Е. К. Козлова

COVID-19-ассоциированный тромбовоспалительный статус: гипотеза MicroCLOTS и ее перспективы

П. Нарделли, Дж. Ландони

КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ И ПРАКТИКА

CLINICAL STUDIES AND PRACTICE

Прогностическое значение генетического полиморфизма промоторной области AQP5 при сепсисе с различными очагами

В. М. Писарев, А. Г. Чумаченко, И. Н. Турин, Р. А. Черпаков, Е. В. Елисина, Е. К. Григорьев, И. А. Александров, А. В. Тутельян

Молекулярные маркеры геморрагического инсульта

А. М. Голубев, А. В. Гречко, М. А. Говорухина, В. Е. Захарченко, А. Н. Кузовлев, М. В. Петрова

Усвоение сердцем ритма блуждающего нерва при пароксизмальной фибрилляции предсердий

А. А. Нечепуренко, В. М. Покровский, Д. Г. Тарасов, И. З. Китиашвили, В. Г. Абушкевич

Особенности развития и течения синдрома десеминированного внутрисосудистого свертывания при хирургических вмешательствах у детей с онкологическими заболеваниями

Н. П. Леонов, В. В. Щукин, Г. А. Новичкова, М. А. Масчан, Ф. И. Атауллаханов, С. С. Яшин, А. М. Зейналов, Е. А. Спиридонова

Лекарственный анафилактический шок

А. В. Матвеев, А. Е. Крашенинников, А. В. Белостоцкий, Д. М. Андреева, С. Д. Марченко, Е. А. Егорова

Оптимизация интенсивной терапии делириозного синдрома при отравлениях 1,4-бутаноном

А. Г. Синенченко, А. Н. Лодягин, Б. В. Батоцыренов

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

EXPERIMENTAL STUDIES

Протективный эффект лития хлорида на эндотелиоциты при септическом шоке

О. А. Гребенчиков, В. Т. Долгих, М. Д. Прокофьев, И. С. Касаткина, А. В. Еришов

ОБЗОРЫ

REVIEWS

Профилактика венозного тромбоемболизма в отделениях реанимации (обзор)

Л. В. Попова, Т. Б. Кондратьева, М. З. Каневская, Т. Л. Алейникова, Е. С. Зыкова, А. В. Кривова, А. М. Кузнецов

4 Coronavirus SARS-CoV-2: Hypotheses of Impact on the Circulatory System, Prospects for the Use of Perfluorocarbon Emulsion, and Feasibility of Biophysical Research Methods
Viktor V. Moroz, Alexander M. Chernysh, Elena K. Kozlova

14 COVID-19-Related Thromboinflammatory Status: MicroCLOTS and Beyond
Pasquale Nardelli, Giovanni Landoni

16 Prognostic Value of a Genetic Polymorphism in Promotor Region of AQP5 in Sepsis Depends on the Source of Infection
Vladimir M. Pisarev, Anastasiya G. Chumachenko, Igor N. Turin, Rostislav A. Cherpakov, Elizaveta V. Elisina, Evgeny K. Grigoriev, Ivan A. Aleksandrov, Aleksey V. Tutelyan

34 Molecular Markers of Hemorrhagic Stroke
Arkady M. Golubev, Andrey V. Grechko, Mariya A. Govorukhina, Vladislav E. Zakharchenko, Artem N. Kuzovlev, Marina V. Petrova

46 Hearing the Vagus Nerve's Rhythm in Patients with Paroxysmal Atrial Fibrillation
Anatoly A. Nechepurenko, Vladimir M. Pokrovsky, Dmitriy G. Tarasov, Heraclius Z. Kitiashvili, Valery G. Abushkevich

54 Features of Development and Course of Disseminated Intravascular Coagulation Syndrome During Surgical Interventions in Children with Oncological Diseases
Nikolay P. Leonov, Vladislav V. Schukin, Galina A. Novichkova, Mikhail A. Maschan, Fazoil I. Ataullakhanov, Sergey S. Yashin, Azer M. Zeynalov, Elena A. Spiridonova

76 Drug-Induced Anaphylactic Shock
Alexander V. Matveev, Anatoly E. Krashenninikov, Andrew V. Belostotsky, Dilbar M. Andreeva, Sevara D. Marchenko, Elena A. Egorova

85 Optimizing the Intensive Care Treatment of Delirium in Patients with 1,4-butanediol Intoxication
Andrey G. Sinenchenko, Alexey N. Lodyagin, Bair V. Butotsyrenov

94 Protective Effect of Lithium Chloride on Endothelial Cells in Septic Shock
Oleg A. Grebenchikov, Vladimir T. Dolgikh, Maxim D. Prokofiev, Irina S. Kasatkina, Anton V. Ershov

106 Venous Thromboembolism Prophylaxis in Intensive Care Units (Review)
Lyudmila V. Popova, Tatyana B. Kondratieva, Marina Z. Kanevskaya, Tatyana L. Aleinikova, Elena S. Zyкова, Anastasiya V. Krivova, Alexey M. Kuznetsov

Коронавирус SARS-CoV-2: гипотезы влияния на кровеносную систему, перспективы использования перфторуглеродной эмульсии, возможности биофизических методов исследования (редакционная статья)

В. В. Мороз¹, А. М. Черныш¹, Е. К. Козлова^{1,2}

¹ НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского ФНКИЦ РР,

Россия, 107031, 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. Большая Пироговская, д. 2, стр. 4

Coronavirus SARS-CoV-2: Hypotheses of Impact on the Circulatory System, Prospects for the Use of Perfluorocarbon Emulsion, and Feasibility of Biophysical Research Methods (Editorial)

Viktor V. Moroz¹, Alexander M. Chernysh¹, Elena K. Kozlova^{1,2}

¹ V. A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology,

Federal Research and Clinical Center of Intensive Care Medicine and Rehabilitology,

25 Petrovka Str., Bldg. 2, 107031 Moscow, Russia

² I. M. Sechenov First Moscow State Medical University, Ministry of Health of Russia,

2 Bolshaya Pirogovskaya Str., Bldg. 4, 119991 Moscow, Russia

Для цитирования: В. В. Мороз, А. М. Черныш, Е. К. Козлова. Коронавирус SARS-CoV-2: гипотезы влияния на кровеносную систему, перспективы использования перфторуглеродной эмульсии, возможности биофизических методов исследования. *Общая реаниматология*. 2020; 16 (3): 4–13. DOI: 10.15360/1813-9779-2020-3-0-1 [На русск. и англ.]

For citation: Viktor V. Moroz, Alexander M. Chernysh, Elena K. Kozlova. Coronavirus SARS-CoV-2: Hypotheses of Impact on the Circulatory System, Prospects for the Use of Perfluorocarbon Emulsion, and Feasibility of Biophysical Research Methods. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2020; 16 (3): 4–13. DOI: 10.15360/1813-9779-2020-3-0-1 [In Russ. and Engl.]

Резюме

В данной статье освещены опубликованные гипотезы, связанные с возможностью проникновения коронавируса SARS-CoV-2 в кровеносное русло, его взаимодействия с эндотелием сосудов, эритроцитами, гемоглобином и его фрагментами. В результате такого взаимодействия возможен выход иона железа в кровеносное русло и, как следствие, возникновение цитокинового шторма. В этом контексте представляется важным поиск цитопротекторов, которые могут блокировать такие процессы. Одним из таких препаратов может явиться перфторуглеродная эмульсия.

Цель работы — показать возможности биофизических методов для исследования молекулярных механизмов действия SARS-CoV-2 на эритроциты и гемоглобин человека и восстанавливающее и цитопротекторное действие перфторуглеродной эмульсии при окислении иона железа в геме.

Материалы и методы. Использовали спектроскопию высокого разрешения, атомную силовую микроскопию, атомно-силовую спектроскопию, электропорацию. Действовали на кровь окисляющими агентами различной природы. Добавляли перфторуглеродную эмульсию в различных концентрациях и исследовали ее действие при различном времени инкубации. Концентрацию производных гемоглобина, рассчитывали с учетом мультиколлинеарности, проводили статистический анализ результатов.

Результаты. Показали, что при окислении иона железа в геме перфторуглеродная эмульсия вызывает эффективное восстанавливающее и цитопротекторное действие: Fe^{3+} восстанавливался до Fe^{2+} . Степень восстановления MetHb до HbO₂ и Hb зависела от концентрации окисляющего агента и времени инкубации. Наблюдали изменение содержания MetHb от (80–90)% до (5–12)%. Перфторуглеродная эмульсия в клинических концентрациях способствовала устранению локальных дефектов мембран и восстанавливала нормальную морфологию эритроцитов.

Заключение. В фокусе рассмотренных гипотез использование перфторуглеродной эмульсии может стать эффективным методом для блокирования последствий воздействия коронавируса на элементы кровеносной системы и восстановления функционального газообмена.

Ключевые слова: эритроцит; мембраны; производные гемоглобина; перфторан; цитопротекторное действие

Адрес для корреспонденции:

Александр Михайлович Черныш
E-mail: amchernysh@mail.ru

Correspondence to:

Alexander M. Chernysh
E-mail: amchernysh@mail.ru

Summary

This paper highlights published hypotheses on the possibility of coronavirus SARS-CoV-2 entry into the bloodstream, its interaction with vascular endothelium, red blood cells, hemoglobin and its fragments. As a result of such interaction, iron ions may be released into the bloodstream and, subsequently, a cytokine storm may occur. In this context, it is important to find a cytoprotective agent capable of blocking such processes. The perfluorocarbon emulsion could be a candidate for this role.

The aim of the paper is to show the feasibility of biophysical methods to study the molecular mechanisms of action of SARS-CoV-2 on human red blood cells and hemoglobin as well as the restorative and cytoprotective effect of the perfluorocarbon emulsion during Fe^{2+} oxidation in heme.

Materials and methods. High resolution spectroscopy, atomic force microscopy, atomic force spectroscopy, electroporation were used. Blood was exposed to oxidizing agents of different nature. Perfluorocarbon emulsion was added in various concentrations and its effect at various incubation times was studied. Concentration of hemoglobin derivatives was calculated considering multicollinearity, and statistical analysis of the results was performed.

Results. The perfluorocarbon emulsion was shown to have an effective restorative and cytoprotective action in iron ion oxidation in the heme: Fe^{3+} was restored to Fe^{2+} . The degree of MetHb reduction to HbO_2 and Hb depended on the concentration of the oxidizing agent and incubation time. We observed a change in MetHb content from 80–90% to 5–12%. The perfluorocarbon emulsion in clinical concentrations helped eliminate local membrane defects and restored normal erythrocyte morphology.

Conclusion. In the light of the studied hypotheses, the use of perfluorocarbon emulsion can become an effective method for blocking the consequences of coronavirus effect on the blood cells and restoring a normal gas exchange.

Keywords: erythrocyte; membranes; hemoglobin derivatives; perfloran; cytoprotective action

DOI: 10.15360/1813-9779-2020-3-0-1

Введение (гипотезы)

Пандемия COVID-19 поставила перед наукой новые задачи, решение которых, по очевидным причинам (короткий временной интервал, недостаточность исходных сведений), на сегодня не представляется возможным. Данные о происхождении новой модификации коронавируса пока ограничены и продолжают пополняться. Большое количество вопросов возникает по поводу особенностей его существования в кровеносном русле человека, молекулярных механизмов взаимодействия с эндотелием кровеносных сосудов, с клетками крови, с гемоглобином. Знания в этой области — скорее отдельные гипотезы, пока практически лишенные системных научных обоснований.

Коронавирус SARS-CoV-2. Новый коронавирус SARS-CoV-2 — один из семейства *Coronaviridae*, включающее на январь 2020 года более 40 видов РНК-содержащих вирусов, которые поражают человека и животных. В феврале 2020 г. китайские ученые выделили штамм коронавируса и впервые продемонстрировали изображения SARS-CoV-2 с помощью электронного микроскопа. Снимки получены в национальном хранилище патогенных микроорганизмов, были опубликованы на сайте ведомства, представлены ВОЗ и широко иллюстрируются в открытой печати. В литературе появились и другие изображения вируса, полученные на электронном микроскопе [1]. Исследователи из Университета Гонконга получили изображение выхода коронавируса

Introduction (Hypotheses)

The COVID-19 pandemic has set new challenges for science which, for obvious reasons (short time interval, lack of initial data), cannot be solved today. Data on the origin of the new coronavirus modification are still limited and continue to be updated. Many questions arise about the pattern of its existence in the human bloodstream, molecular mechanisms of interaction with the endothelium of blood vessels, blood cells, hemoglobin. The knowledge in this field is mostly represented by isolated hypotheses, which so far have practically no systematic scientific rationale.

Coronavirus SARS-CoV-2. The new coronavirus SARS-CoV-2 is a member of the *Coronaviridae* family, which as of January 2020 includes more than 40 species of RNA-containing viruses affecting humans and animals. In February 2020, Chinese scientists isolated the coronavirus strain and demonstrated SARS-CoV-2 electronic microscope images for the first time. The images were obtained from the national repository of pathogens and published on the agency's website, presented to WHO and are widely used by mass media. Other virus images from the electron microscope have appeared in the literature [1]. Researchers from the University of Hong Kong received an image of coronavirus exiting from an infected cell. The obtained images suggest that the size of SARS-CoV-2 practically does not differ from the other coronaviruses and is 100–125 nm [2], and its peplomers (club-shaped «spikes») have a height of about 10 nm. While passing through the cell membrane, the virus «stretches out» and changes its shape.

из зараженной клетки. Из полученных изображений следует, что размеры SARS-CoV-2 практически не отличаются от размеров других коронавирусов и составляют 100–125 нм [2], а его пепломеры (булавовидные «шипы») имеют высоту около 10 нм. При прохождении через мембрану клетки вирус «вытягивается» и меняет форму.

SARS-CoV-2, эритроцит, гемоглобин. Приводятся гипотезы о взаимодействии SARS-CoV-2 с эритроцитами, о его влиянии на гемы и порфирин. Рассматриваются 2 возможных пути взаимодействия белков вируса с гемоглобином [3].

Первый — связан с выходом гемоглобина из эритроцита и его попаданием в кровеносное русло. Это может происходить в результате гемолиза эритроцитов, например — иммунологического. События, развивающиеся после попадания гема и иона Fe^{+2} в кровеносное русло и дальнейшее развитие оксидативного стресса, описаны ранее [4, 5].

Второй путь предполагает проникновение вируса или его белков через плазматическую мембрану в эритроцит и дальнейшее взаимодействие белков вируса с гемом и порфирином. Отмечается, что дезоксигемоглобин более подвержен вирусным атакам, чем оксигенированный гемоглобин — HbO_2 [3]. Атакующее действие вирусных белков вызывает уменьшение содержания HbO_2 , реализующего газообмен в организме, и как следствие — дыхательную недостаточность.

SARS-CoV-2, кровеносная система. Рассматриваются и иные механизмы. В частности — связывание SARS-CoV-2 с клетками эндотелия кровеносной сети человека [1]. Такое взаимодействие имеет достаточно высокую вероятность существования и подтверждается фактом возникновения тромбоза у заболевших COVID-19 пациентов [6]. Возможно взаимодействие вируса не только с сосудистой стенкой, но с мембранами эритроцитов в микрососудах. Вирусные белки, проникшие в клетку, взаимодействуют с 1 бета цепью гемоглобина [3], вызывают эффект экранирования части молекул гемоглобина Hb (screening effect), уменьшая поток кислорода из эритроцита в ткани через капиллярную стенку и, соответственно, из альвеол в капилляр.

В некоторых работах отмечается, что SARS-CoV-2, связываясь с клеточными рецепторами АПФ2 и CD 147, имеет возможности для проникновения в клетку и на стадиях выхода вириона из клетки разрушать ее мембраны [7, 8]. Нарушение целостности мембран может стать причиной внутрисосудистого гемолиза (intravascular hemolysis), выхода свободного гемоглобина (cell-free Hb) эритроцита в кровеносную систе-

SARS-CoV-2, erythrocyte, and hemoglobin.

Various hypotheses on the interaction of SARS-CoV-2 with erythrocytes and its effect on hems and porphyrin have been suggested. Two possible ways of interaction of virus proteins with hemoglobin are considered [3].

The first one is related to hemoglobin exit from erythrocyte and its entry into bloodstream. This may occur as a result of erythrocyte hemolysis, e.g. immunological. The events occurring after hem and Fe^{+2} ion enter the bloodstream and further oxidative stress development have been previously described [4, 5].

The second way assumes penetration of the virus or its proteins through plasma membrane into erythrocyte and further interaction of viral proteins with hem and porphyrin. Deoxyhemoglobin has been noted to be more susceptible to viral attacks than the oxygenated hemoglobin HbO_2 [3]. The onslaught of viral proteins causes a decrease in the content of HbO_2 , a major contributor to gas exchange in the body, and results into respiratory failure.

SARS-CoV-2 and circulatory system. Other mechanisms are also under consideration. In particular, the binding of SARS-CoV-2 to endothelial cells of human circulation system may be relevant [1]. Such interaction is highly likely and was confirmed by thrombosis occurrence in COVID-19 patients [6]. The virus may interact not only with the vascular wall, but also with RBC membranes in microvasculature. The viral proteins penetrating the cell interact with 1-beta hemoglobin chain [3], cause the screening effect of part of hemoglobin molecules, which reduces the oxygen flow from erythrocyte to tissues through the capillary wall and, accordingly, from alveoli to capillaries.

In some works, SARS-CoV-2 binding to ACE2 and CD 147 cell receptors was noted to enable viral penetration into the cell and destruction of cell membranes during virion exit [7, 8]. The destruction of membrane integrity may cause intravascular hemolysis and release of the cell-free Hb into the blood system [9, 10]. Release of Hb into plasma significantly reduces the bioavailability of nitrogen oxide (NO) in the vessel, promoting vasoconstriction, endothelial dysfunction and platelet activation. Vasoconstriction (including that in micro vessels) and thrombosis are typical for Covid-19 patients [6].

Filtration-reabsorption equilibrium in the microvasculature and surrounding tissues may be disturbed if the cell structure of capillary walls is impaired [11]. As a result, interstitial edema, alveolar hemorrhage and microvascular lung thrombosis occur [12]. Progressive endothelial thrombo-inflammatory syndrome may also include microvasculature of brain and other vital organs, resulting in multi-organ failure observed in patients with Covid-19 [1, 2].

му [9, 10]. Декомплементация Hb в плазму значительно ухудшает биодоступность оксида азота (NO) в сосуде, способствуя вазоконстрикции, вызывая эндотелиальную дисфункцию и активацию тромбоцитов. У пациентов с Covid-19 обнаруживается сужение сосудов, в том числе и микрососудов, образование тромбов [6].

При нарушениях структуры клеток стенок капилляров может нарушиться фильтрационно-реабсорбционное равновесие в микрососуде и окружающих тканях [11]. В результате возникает интерстициальный отек, alveolar hemorrhage (кровоизлияние в альвеолу) и микрососудистый тромбоз легких [12]. Прогрессирующий эндотелиальный тромбо-воспалительный синдром может также включать микрососудистое русло мозга и других жизненно важных органов, приводя к полиорганной недостаточности, что наблюдается у пациентов с Covid-19 [1, 2].

Опасность представляет взаимодействие SARS-CoV-2 с клетками костного мозга. В работе [13] описан случай leukoerythroblastosis при Covid-19, связанный с нарушением костного мозга и выходом модифицированных эритроцитов.

Описанные гипотезы предполагают взаимодействие коронавируса или его белков со стенками кровеносных сосудов, эритроцитами, гемоглобином. В них рассматривается взаимодействие белков SARS-CoV-2 с гемом и порфирином, попадание ионов Fe^{+2} в кровеносное русло и дальнейшее их окисление до Fe^{+3} . Такие патологические процессы могут блокироваться и/или восстанавливаться с помощью антиоксидантов и цитопротекторов [14]. Использование препаратов этого класса может способствовать разработке методов борьбы с Covid-19.

Цель работы — показать возможности биофизических методов для исследования молекулярных механизмов действия SARS-CoV-2 на эритроциты и гемоглобин человека и восстанавливающее и цитопротекторное действие перфторуглеродной эмульсии при окислении иона железа в геме.

Материал и методы

Схема опытов. Забор крови производили в микроветты с ЭДТА (Sarstedt AG and Co., Germany) во время профилактического осмотра доноров. В соответствии с требованиями этического комитета НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского РАМН получили согласие всех доноров на проведение исследований. Схему опытов представили на рис. 1. На кровь (150 мкл) воздействовали окисляющим агентом, в качестве которого использовали либо раствор $NaNO_2$, либо ультрафиолетовое излучение (UV). В опытах для промывки клеток и разбавления суспензии использовали буфер PBS tablets (MP Biomedicals,

The SARS-CoV-2 interaction with bone marrow cells is dangerous. A paper [13] describes a case of leukoerythroblastosis in Covid-19 associated with bone marrow damage and release of modified red blood cells.

The described hypotheses suggest that the coronavirus or its proteins interact with the walls of blood vessels, erythrocytes, and hemoglobin. They consider the interaction of SARS-CoV-2 proteins with heme and porphyrin, the entry of Fe^{+2} ions into the bloodstream and their further oxidation to Fe^{+3} . Such pathological processes can be blocked and/or restored with antioxidants and cytoprotectors [14]. The use of drugs of this class may help develop methods to control Covid-19.

The aim of the paper is to show the feasibility of biophysical methods to study the molecular mechanisms of impact of SARS-CoV-2 on human red blood cells and hemoglobin and the restorative and cytoprotective effect of perfluorocarbon emulsion during the iron oxidation in heme.

Materials and Methods

Scheme of experiments. Blood was drawn in EDTA microvettes (Sarstedt AG and Co., Germany) during a routine screening of donors. In accordance with the requirements of the ethics committee of the V. A. Negovsky Scientific Research Institute of General Reanimatology the consent of all donors for the study participation was obtained. The scheme of experiments is shown in fig. 1. Blood (150 μ l) was exposed to an oxidizing agent which was either $NaNO_2$ solution or ultraviolet radiation (UV). The PBS tablets buffer (MP Biomedicals, USA), (pH 7,4) was used in experiments for cell washing and suspension dilution. Micro-22R centrifuge (Hettich-Zentrifugen GMBH&Co. KG, Germany) was used for cell separation and sedimentation. The UNICO 2800 (USA) digital automatic spectrophotometer was used to record optical spectra. The method of calculation of hemoglobin derivatives concentrations, the solution of multicollinearity problem, and relevant statistical analysis were described elsewhere [15, 16].

Atomic force microscopy and spectroscopy. Images of RBC morphology were obtained using the atomic force microscope (AFM) NTEGRA Prima (NT-MDT, Russian Federation) in a resonance mode on monolayers prepared using the sedimentation method. Cantilevers NSG01 ($R=10$ nm, coefficient of elasticity $K=5$ N/m) were used. The number of scanning points was 512, 1024. Scanning fields were $100 \times 100 \mu m^2$, $30 \times 30 \mu m^2$. 2D and 3D images were obtained using AFM software [15]. Statistical analysis of the obtained results was performed using the Origin Lab software (USA).

Electroporation (USA). Laboratory electroporator provides pulse duration 3–5 ms, pulse amplitude 3×10^3 V. A cuvette 30×30 mm was equipped with flat titanium electrodes mounted on opposite walls. The intensity of the generated field was 1040 V/cm [17].

Results and Discussion

The development of oxidation processes in blood caused by $NaNO_2$ and ultraviolet radiation ($\lambda=254$ nm) was simulated using in vitro experi-

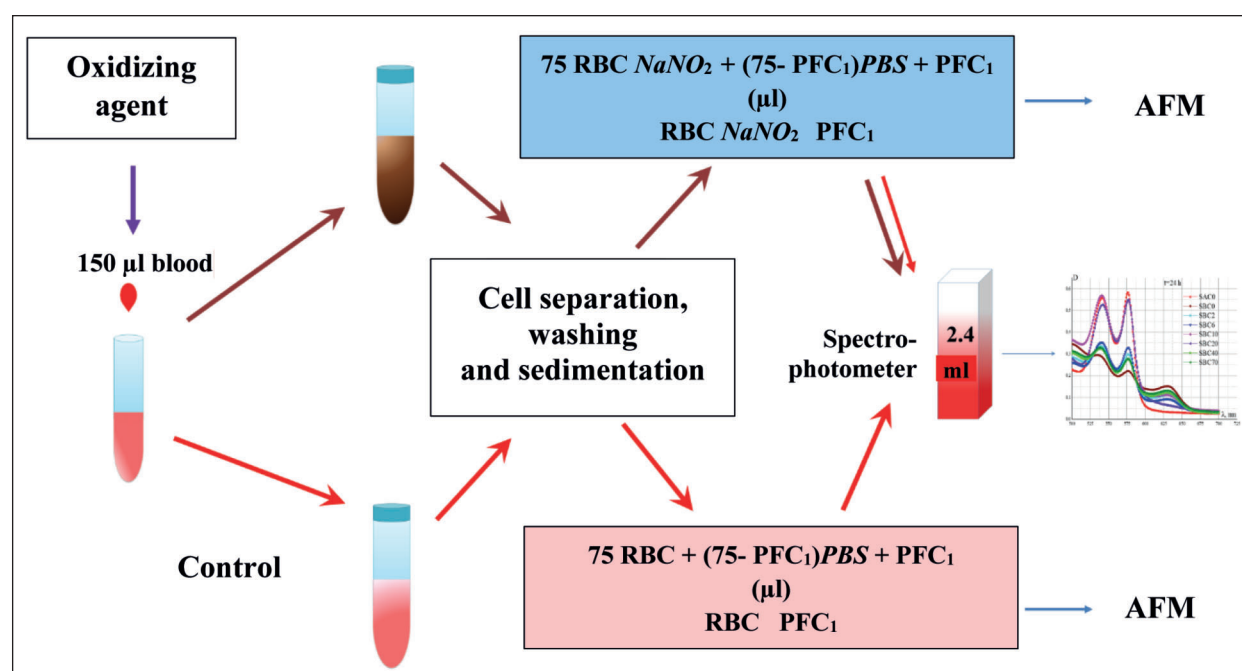


Рис. 1. Стадии экспериментов: воздействие окисляющим агентом на кровь, добавление PFC или цитофлавина в различной концентрации, измерение оптических спектров, расчет концентраций производных гемоглобина, получение АСМ изображения клеток и наноповерхности мембран.

Fig. 1. Stages of the experiments: blood exposure to the oxidizing agent, addition of PFC or cytoflavin in various concentrations, measurement of optical spectra, calculation of concentrations of hemoglobin derivatives, obtaining an AFM image of cells and membrane nano-surface.

Примечание. Oxidizing agent — окисляющий агент; blood — кровь; cell separation, washing and sedimentation — центрифугирование, промыв клеток, осаждение; RBC — эритроциты; PFC — перфторуглеродная эмульсия; AFM — АСМ.

USA), pH 7,4. Для разделения и осаждения клеток использовали центрифугу Micro-22R (Hettich-Zentrifugen GmbH&Co.KG, Germany). Для регистрации оптических спектров использовали цифровой автоматический спектрофотометр UNICO 2800 (USA). Методика расчета концентраций производных гемоглобина, решения проблемы мультиколлинеарности, статистического анализа описана ранее [15, 16].

Атомная силовая микроскопия и спектроскопия. Изображения морфологии эритроцитов получали с помощью атомного силового микроскопа (АСМ) NTEGRA Prima, (NT-MDT, Российская Федерация) в резонансном режиме на монослоях приготовленных с помощью метода оседания. Использовали кантилеверы NSG01, $R = 10$ нм, коэффициент упругости $K = 5$ N/m. Число точек сканирования — 512, 1024. Поля сканирования: 100×100 мкм², 30×30 мкм². Получали изображения 2D и 3D форматах, используя программное обеспечение АСМ [15]. Проводили статистическую обработку полученных результатов, используя программное обеспечение «Origin Lab» (USA).

Электропорация. Лабораторный электропоратор реализует длительность импульса (3–5) мс, амплитуду импульса 3×10^3 В. Кювета 30×30 мм, оснащена плоскими титановыми электродами, закрепленными на противоположных стенках. Напряженность создаваемого поля в объеме 1040 В/см [17].

Результаты и обсуждение

В экспериментах *in vitro* моделировали развитие окислительных процессов в крови,

Fe^{2+} turned into an oxidized form (Fe^{3+}) in the molecules of hemoglobin, which was evidenced by the transformation of oxyhemoglobin HbO_2 into methemoglobin MetHbO_2 . The concentration and dose dependence of these processes was established. Fe^{+3} is known to prevent gas exchange between blood and tissues. Therefore, the appearance of MetHb in the blood leads to tissue hypoxia, and in high concentrations can even be fatal.

Perfluorocarbon compound «Perftoran» (Russian Federation) [18, 19] and cytoflavin (Polysan, Russian Federation) [15] were used to reduce Fe^{+3} to Fe^{+2} and, accordingly, to transform MetHb to HbO_2 . At the same time, methemoglobin was reduced to oxyhemoglobin depending on the concentrations of these substances and incubation time. Concentrations of perftoran (PFC) were recorded later as indices (μl PFC per 200 μl of erythrocyte suspension). Cytoflavin concentrations were recorded as volume of cytoflavin (μl) per 150 μl of cell suspension. Fig. 2 shows MetHb concentrations on UV exposure and after introduction of Perftoran emulsion, the optical spectra, as well as the AFM field erythrocyte images under the same conditions.

Initially, 90–98% of erythrocytes were discocytes (fig. 2, a). After UV exposure, the number of discocytes decreased, and stomatocytes, echinocytes, spherocytocytes, ghost cells ap-

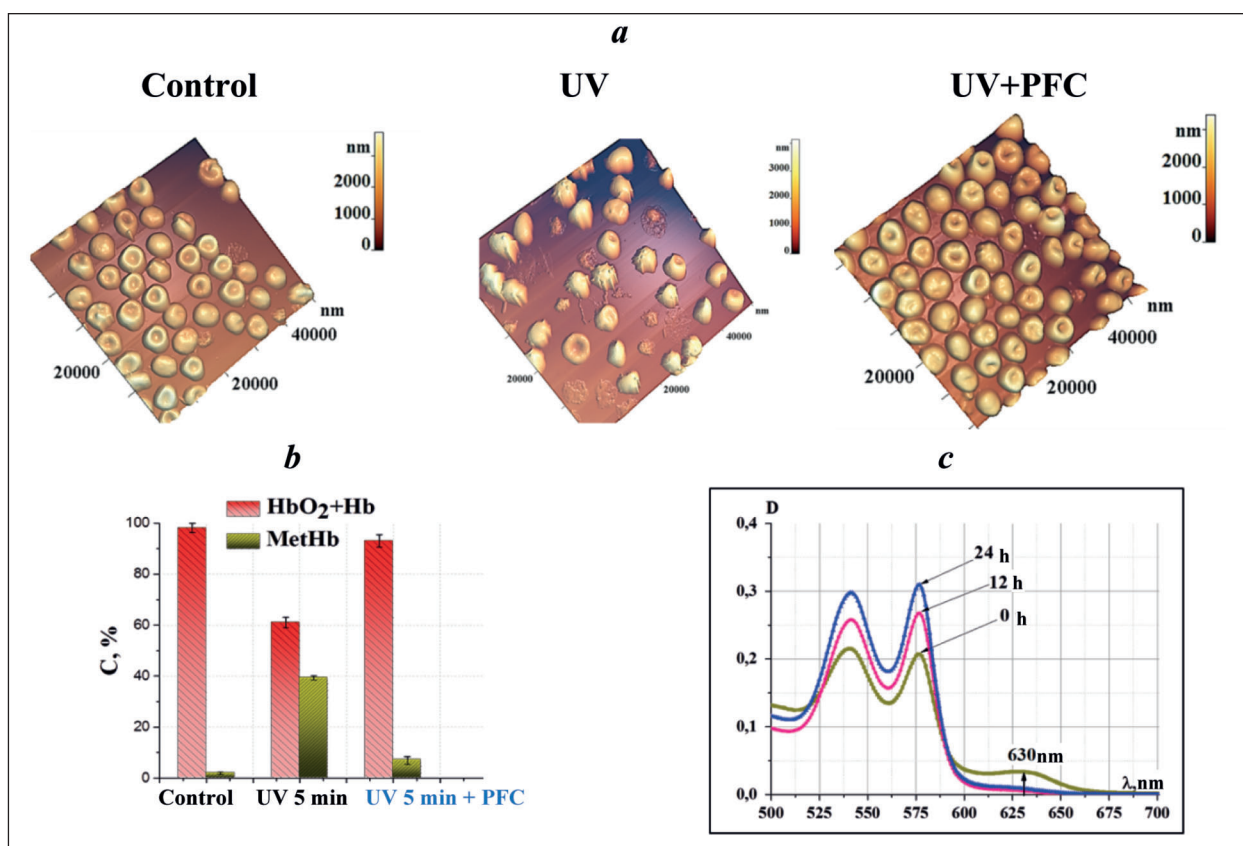


Рис. 2. Восстанавливающее действие PFC в суспензии эритроцитов.

Fig. 2. The reducing effect of PFC in erythrocyte suspensions.

Note. *a* — AFM 3D cell images: initial (control cells) on the left, the cells damaged by the UV exposure are in the middle, on the right are the cells damaged by UV and subsequently exposed to PFC for 24 hours; *b* — percentage of MetHb, HbO₂, Hb in the control, after UV exposure and subsequent PFC exposure, PFC incubation time was 24 hours; *c* — absorption spectrum changes after UV exposure and subsequent PFC action (*t*=0, 12, 24 hours).

Примечание. *a* — АСМ 3D-изображения клеток: слева — исходные (контрольные) клетки, в середине — клетки, поврежденные в результате действия UV излучения, справа — клетки после UV воздействия и последующего действия PFC в течение 24 час; *b* — процентное содержание MetHb, HbO₂, Hb в контроле, после воздействия UV и последующего действия PFC, время инкубации PFC 24 часа; *c* — динамика изменений спектра поглощения после воздействия UV излучения и последующего действия PFC50 (*t*=0, 12, 24 часа).

вызванное NaNO₂ и ультрафиолетовым излучением ($\lambda=254$ nm). В молекулах гемоглобина Fe²⁺ переходил в окисленную форму — Fe³⁺, о чем свидетельствовало превращение оксигемоглобина HbO₂ в метгемоглобин MetHbO₂. Установили концентрационную и дозовую зависимости этих процессов. Известно, что Fe³⁺ не позволяет осуществлять газообмен между кровью и тканями. Поэтому появление MetHb в крови ведет к гипоксии тканей, а при высокой концентрации может приводить даже к летальному исходу.

Для восстановления Fe³⁺ в Fe²⁺ и, соответственно, для превращения MetHb в HbO₂ использовали перфлюорокарбоновое соединение «Перфторан» (РФ) [18,19] и цитофлавин (Полисан, РФ) [15]. При этом метгемоглобин восстанавливался до оксигемоглобина в зависимости от концентраций этих веществ и времени инкубации. Концентрации перфторана (PFC) записывали далее в виде индексов (мкл PFC в 200 мкл суспензии эритроцитов). Концентрации

appeared (fig. 2, *b*). As a result of subsequent PFC exposure, the percentage of discocytes recovered to 80–90%. The change in erythrocyte shapes associated with changes in concentrations of hemoglobin derivatives (fig. 2, *b, c*). The initial content of MetHb was about 0.5%. After UV exposure it increased to 35–40%, and after PFC exposure it was 2–5%. Thus, in vitro experiments showed that perflorane can be effectively used to restore MetHb to HbO₂.

These experimental data demonstrate the restorative effect of PFC on erythrocytes both in damage to membranes and cell structure, and in abnormal hemoglobin molecules.

The effect of agents on the system can be demonstrated by time and concentration dependence. Absorption spectra of hemoglobin derivatives solutions for different incubation times with PFC are shown in fig. 2, *c*. With increasing incubation time, peak at wavelength 630 nm dropped, and peaks at 542 nm and 577 nm grew, which indicates a decrease in MetHb content and, consequently, an increase in HbO₂+Hb.

цитофлавина записывали как объем цитофлавина (мкл) в 150 мкл суспензии клеток. На рис. 2 представили концентрации MetHb при действии UV и после введения эмульсии «Перфторан», оптические спектры, а также изображения эритроцитов в поле АСМ в тех же условиях.

Исходно 90–98% эритроцитов были дискоцитами (рис. 2, *a*). После воздействия UV количество дискоцитов уменьшалось, при этом появлялись стоматоциты, эхиноциты, сфероэхиноциты, тени (рис. 2, *b*). В результате последующего действия PFC процентное содержание дискоцитов восстанавливалось до 80–90%. Изменение форм эритроцитов сопровождалось изменением концентраций производных гемоглобина (рис. 2, *b, c*). Исходное количество MetHb было около 0,5%. После воздействия UV оно возросло до 35–40%, а после действия PFC составило 2–5%. Таким образом, в экспериментах *in vitro* показали, что можно эффективно использовать перфторан для восстановления MetHb в HbO₂.

The concentration dependence of the PFC exposure is shown in fig. 2, *a* (*left*). As early as at the concentration of PFC 5–10 µl/ml of the suspension there was a significant reduction of Fe³⁺ to Fe²⁺, i. e., MetHb to HbO₂ + Hb.

The qualitative result of transformation of methemoglobin into oxyhemoglobin is presented in the photo (fig. 2, *a, right*). The dark brown suspension after UV exposure changed its color to red after 24 hours of incubation with PFC.

Cytoflavin was also used as a reducing agent (fig. 3, *b*). In these cases the dependence of effect on concentration was also observed. Cytoflavin allowed reducing MetHb concentration from 80–90% to 20–25%.

Exposure of RBCs to oxidizing agents can produce two effects: 1) oxidation of iron, Fe²⁺ to Fe³⁺, and, accordingly, increase of MetHb concentration in them; 2) erythrocyte hemolysis.

Depending on the nature of the agent, the ratio of these biophysical processes was different (fig. 3, *c, d*). Thus, if the oxidizing agent was ionizing

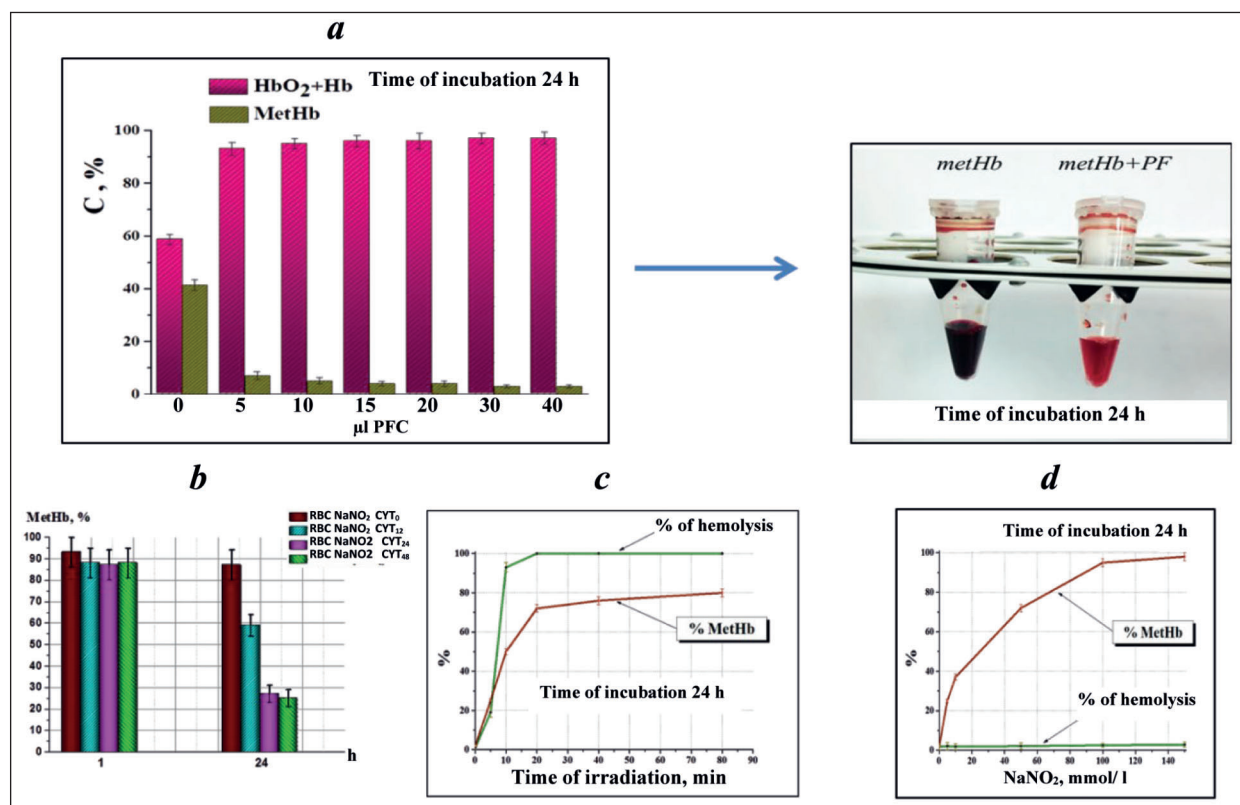


Рис. 3. Производные гемоглобина.

Fig. 3. Hemoglobin derivatives.

Note. *a* — Suspension after UV irradiation and subsequent PFC exposure in various concentrations (concentration dependence) on the left, photos of suspension after UV irradiation and subsequent incubation with PFC for 24 hours on the right; *b* — MetHb formation as a result of NaNO₂ exposure and reduction of Fe³⁺ to Fe²⁺ after exposure to cytoflavin in different concentrations (concentration dependence); *c* and *d* — correlation of biological effects (iron oxidation and hemolysis) after exposure to different agents: *c* — UV irradiation; *d* — addition of NaNO₂.

Примечание. *a* — слева — суспензия после UV облучения и последующего действия PFC в различных концентрациях (концентрационная зависимость); справа — фотографии суспензии после UV облучения и последующей инкубации с PFC в течение 24 час; *b* — образование MetHb в результате действия NaNO₂ и восстановление Fe³⁺ до Fe²⁺ под действием цитофлавина различной концентрации (концентрационная зависимость); *c* и *d* — соотношение биологических эффектов (окисление железа и гемолиз) при действии различных агентов: *c* — UV облучение; *d* — добавление NaNO₂.

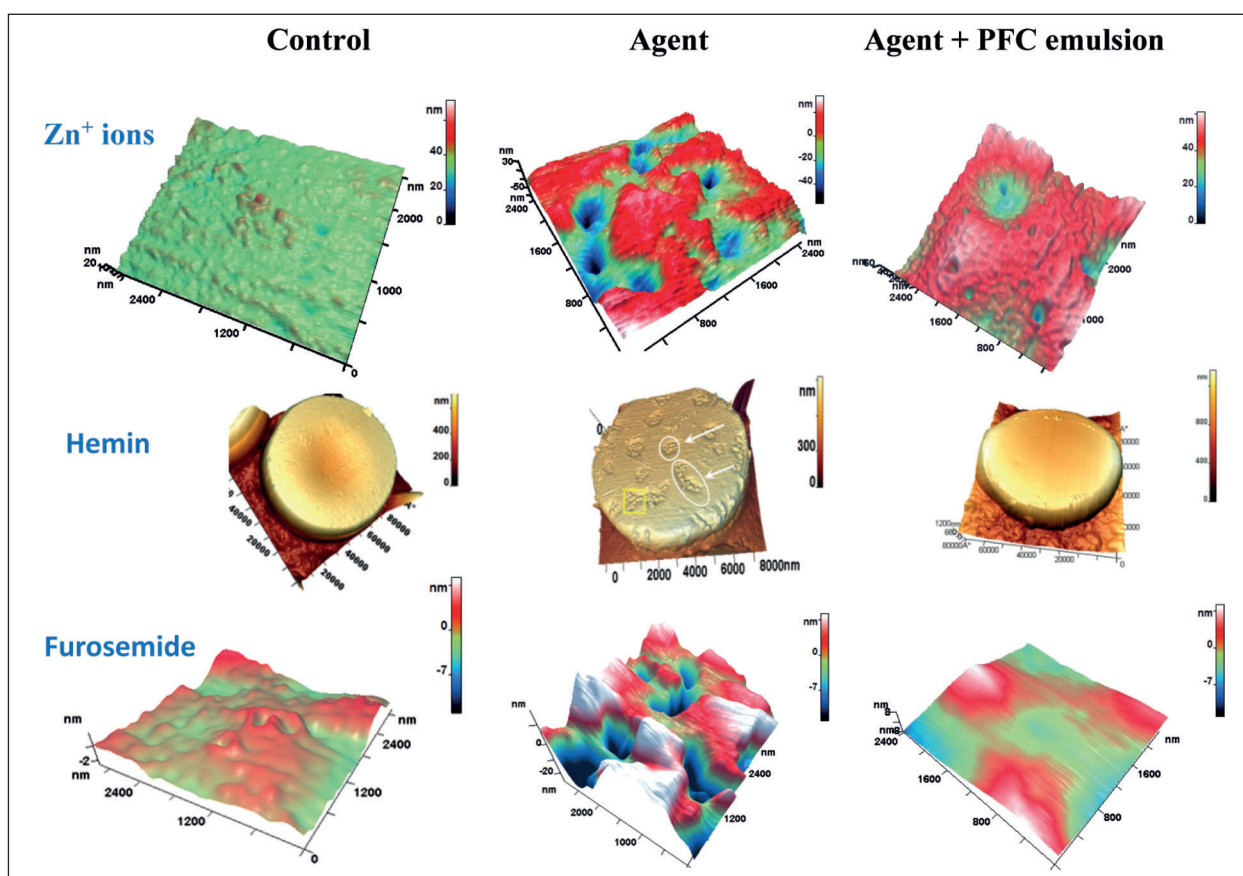


Рис. 4. Дефекты мембран эритроцитов в поле атомного силового микроскопа при действии фармакохимических агентов различной природы и протекторный эффект перфторуглеродной эмульсии «Перфторан».

Fig. 4. Defects of erythrocyte membranes in the field of atomic force microscope after exposure to various chemical agents and the protective effect of the Perftoran perfluorocarbon emulsion.

Эти экспериментальные данные свидетельствуют о восстанавливающем действии PFC на эритроциты как при повреждениях мембран и структуры клеток, так и при нарушении состояния молекул гемоглобина.

Показателем действия агентов на систему является временная и концентрационная зависимости. На рис. 2 с привели спектры поглощения растворов производных гемоглобина для различного времени инкубации с PFC. С увеличением времени инкубации пик на длине волны 630 нм уменьшался, а на 542 нм и 577 нм пики увеличивались, что свидетельствовало об уменьшении содержания MetHb и, соответственно, об увеличении HbO₂+Hb.

Концентрационную зависимость действия PFC представили на рис. 2, а (слева). Уже при концентрации PFC 5–10 мкл/мл суспензии происходило значительное восстановление Fe⁺³ до Fe⁺², то есть MetHb до HbO₂+Hb.

Качественно результат превращения метгемоглобина в оксигемоглобин представили на фотографии (рис. 2, а, справа). Темнокоричневая суспензия после UV воздействия меняла цвет на красную после 24 часов инкубации с PFC.

radiation, UV radiation, both processes occurred with the same intensity, and the dose dependence and irradiation time dependence was observed (fig. 3, c). When using the NaNO₂ agent (depending on the concentration), the content of MetHb in erythrocytes was intensively increased, but their hemolysis was practically absent (fig. 3, d). This interesting fact is important to consider when analyzing the effect of factors of different nature, including viruses and bacteria, on red blood cells.

In a number of experiments, the protective effect of the Perftoran emulsion on erythrocyte membranes was shown using AFM method (fig. 4). Hemin, ZnSO₄ and furosemide were used as membrane damaging agents. As a result of blood exposure to these agents, topological nanodefects of cell membranes in the range of 20–200 nm were found. Subsequent exposure to PFC led to a reduction in the size of membrane defects or to their complete «healing».

If the virus causes structural disorders and local cell defects, Perftoran is very likely to have a protective effect and prevent damage to both cells and cell membranes.

A major problem with the Covid-19 pandemic is the high mortality rate of the elderly, with less

В качестве восстанавливающего агента использовали также цитофлавин (рис. 3, *b*). В этих случаях также наблюдали концентрационную зависимость действия. Цитофлавин позволил уменьшить концентрацию MetHb с 80–90% до 20–25%.

При воздействии окисляющих агентов на эритроциты могут возникнуть два эффекта: 1) окисление железа, Fe^{2+} до Fe^{3+} , и, соответственно, увеличение содержания в них MetHb; 2) гемолиз эритроцитов.

В зависимости от природы агента, соотношение этих биофизических процессов было разным (рис. 3, *c, d*). Так, если окисляющим агентом являлось ионизирующее излучение, UV излучение, то одновременно интенсивно протекали оба эти процесса, причем наблюдали дозовую зависимость — зависимость от времени облучения (рис. 3, *c*). При использовании агента NaNO_2 , (в зависимости от концентрации) интенсивно увеличивалось содержание MetHb в эритроцитах, но практически не наблюдали их гемолиз (рис. 3, *d*). Этот интересный факт важно учитывать при анализе действия факторов различной природы, в том числе и вирусов, и бактерий на красные клетки крови.

В ряде экспериментов методом АСМ показали протекторное действие эмульсии «Перфторан» на мембраны эритроцитов (рис. 4). В качестве повреждающих мембрану агентов использовали ZnSO_4 , гемин, фуросемид. В результате действия этих агентов на кровь наблюдали появление топологических нанодфектов мембран клеток в диапазоне 20–200 нм. Последующее воздействие PFC приводило к уменьшению, размеров мембранных дефектов, либо к их полному «залечиванию».

Если вирус вызывает нарушения структуры и локальные дефекты клеток, то перфторан с большой вероятностью может оказать протекторное действие и предотвратить повреждение как самих клеток, так и клеточных мембран.

Тяжелой проблемой при пандемии Covid-19 является высокая смертность заболевших пожилых людей, при том, что инфицирование зависит от возраста людей в меньшей степени. Возможно, что высокая смертность людей пожилого возраста связана с исходным состоянием сосудов и мембран эритроцитов.

Используя метод мягкой электропорации (обратимый пробой мембран) мы показали ранее, что мембраны пожилых людей (65–74 лет) действительно более уязвимы, имеют большее количество потенциальных дефектов по сравнению с таковыми у людей молодого и среднего возраста [17]. Этот метод может способствовать выявлению пациентов

age-dependent infection susceptibility. The high mortality in older persons is probably due to the initial condition of blood vessels and red blood cell membranes.

Using a soft electroporation method (reversible membrane perforation), we have previously shown that membranes of older persons (65–74 years old) are indeed more vulnerable and have more potential defects than those of young and middle-aged people [17]. This method can help identify patients with increased risk of SARS-CoV-2 adverse effect on blood cells.

Conclusion

Perfluorocarbon emulsion Perftoran has a cytoprotective effect, provides additional capacity for the transfer of O_2 by blood, and contributes to the reduction of Fe^{3+} to Fe^{2+} in the heme. This emulsion is promising compound that promotes gas exchange in patients in critical conditions and can be used to protect blood cells. In the light of the hypotheses presented, perfluorocarbon emulsion (Perftoran) can be effectively used to control Covid-19. Atomic force microscopy, high-resolution optical spectroscopy and electroporation methods can be successfully used to study the molecular mechanisms of SARS-CoV-2 action on blood cells. Studies using such methods can provide a scientific rationale for the hypotheses currently presented.

с повышенным риском действия SARS-CoV-2 на клетки крови.

Заклучение

Перфторуглеродная эмульсия «Перфторан» обладает цитопротекторной функцией, предоставляет дополнительную емкость для переноса O_2 кровью, способствуют восстановлению Fe^{3+} до Fe^{2+} в гемах гемоглобина, поэтому она является перспективным соединением, способствующим газообмену у больных в критических состояниях, и может быть применима для защиты клеток крови.

В свете представленных гипотез, перфторуглеродная эмульсия («Перфторан»), может эффективно использоваться для борьбы с Covid-19. Методы АСМ, оптической спектроскопии высокого разрешения и электропорации могут быть успешно использованы для изучения молекулярных механизмов действия коронавируса SARS-CoV-2 на клетки крови. Исследования с использованием подобных методов могут способствовать научному обоснованию гипотез, выдвигаемых сегодня.

Литература

1. Varga Z., Flammer A.J., Steiger P., Haberecker M., Andermatt R., Zinkernagel A.S., Mehra M.R., Schuepbach R.A., Ruschitzka F., Moch H. Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19. *Lancet*. 2020; 395 (10234): 1417–1418. DOI: 10.1016/S0140-6736 (20)30937-5. PMID: 32325026.
2. Cyranoski D. Profile of a killer: the complex biology powering the coronavirus pandemic. *Nature*. 2020; 581 (7806): 22–26. DOI: 10.1038/d41586-020-01315-7.
3. Liu W., Li H. COVID-19: Attacks the 1-Beta Chain of Hemoglobin and Captures the Porphyrin to Inhibit Human Heme Metabolism. *ChemRxiv*. 2020; preprint. DOI: 10.26434/chemrxiv.11938173.v8.
4. Janz D.R., Ware, L.B. The role of red blood cells and cell-free hemoglobin in the pathogenesis of ARDS. *J Intensive Care* 2015; 3 (20). DOI: 10.1186/s40560-015-0086-3
5. Schaer D.J., Buehler P.W. Cell-free hemoglobin and its scavenger proteins: new disease models leading the way to targeted therapies. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2013; 3 (6): a013433. PMID: 23645855 PMCID: PMC3662353 DOI: 10.1101/cshperspect.a013433.
6. Klok EA., Kruijpb M.J.H.A., Meerc N.J.M., Arbousd M.S., Gommerse D.A.M.P.J., Kantf K.M., Kapteina F.H.J., Paassend J., Stalsa M.A.M., Huismana M.V., Endemane H. Incidence of Thrombotic Complications in Critically Ill ICU Patients With COVID-19. *Thromb. Res*. 2020; S0049-3848 (20)30120-1. DOI: 10.1016/j.thromres.2020.04.013. PMID: 32291094.
7. Ulrich H., Pillat M.M.. CD147 as a Target for COVID-19 Treatment: Suggested Effects of Azithromycin and Stem Cell Engagement. *Stem Cell Reviews and Reports*, 2020 DOI: 10.1007/s12015-020-09976-7
8. Cohen F.S. How Viruses Invade Cells. *Biophys J*. 2016; 110 (5): 1028–1032. DOI: 10.1016/j.bpj.2016.02.006
9. Orlov Y.I. Intravascular Hemolysis of Red Blood Cells in the Development of Organ Dysfunctions in Critical Conditions. *General Reanimatology*. 2008; 4 (2): 88. [In Russ.] DOI: 10.15360/1813-9779-2008-2-88.
10. Conran N., Almeida C.B. Hemolytic vascular inflammation: an update. *Rev. Bras. Hematol. Hemoter*. 2016; 38 (1): 55–57. DOI: 10.1016/j.bjhh.2015.10.004. PMID: 26969775.
11. Kozlova E.K., Chernysh A.M., Matteys T.N. Modeling of blood flow as the result of filtration-reabsorption processes in capillaries. *Adv. Physiol. Educ*. 2000; 23 (1): 32–39. DOI: 10.1152/advances.2000.23.1.S32. PMID: 10902525.
12. Park M.S. Diffuse alveolar hemorrhage. *Tuberc. Respir. Dis. (Seoul)*. 2013; 74 (4): 151–162. DOI: 10.4046/trd.2013.74.4.151. PMID: 23678356.
13. Mitra A., Dwyer D.M., Schivo M., Thompson G.R., Cohen S.H., Ku N. Graff J.P. Leukoerythroblastic reaction in a patient with COVID-19 infection. *American Journal of Hematology*. 2020, Mar 25. DOI: 10.1002/ajh.25793. [Epub ahead of print]
14. Cheng R. Hospital treatment of serious and critical COVID-19 infection with high-dose Vitamin C. Cheng Integrative Health Center Blog <http://www.drwlc.com/blog/2020/03/18/hospital-treatment-of-serious-and-critical-covid-19-infection-with-high-dose-vitamin-c/?fbclid=IwAR3qzrI-tjYloYMIqQQRWUfoionQPWNyJFrRyv-GQ18Rg3GSG9Sn-Z7Ln58>
15. Kozlova E., Chernysh A., Sergunova V., Gudkova O., Manchenko E., Kozlov A. Atomic force microscopy study of red blood cell membrane nanostructure during oxidation-reduction processes. *J. Mol. Recognit*. 2018; 31 (10): e2724. DOI: 10.1002/jmr.2724. PMID: 29740886.
16. Jensen F.B. Nitric oxide formation from nitrite in zebrafish. *J. Exp. Biol*. 2007; 210 (19): 3387–3394. DOI: 10.1242/jeb.008748. PMID: 17872992
17. Moroz V.V., Kozlova E.K., Bogushevich M.S., Chernysh A.M., Bliznyuk U.A., Kozlov A.P., Alekseyeva P.Y. Red Blood Cell Membranes in Donors of Different Age Groups. *General Reanimatology*. 2006; 2 (3): 9–11. [In Russ.] DOI: 10.15360/1813-9779-2006-3-9-11.
18. Maevsky E., Ivanitsky G., Bogdanova L., Axenova O., Karmen N., Zhiburt E., Senina R., Pushkin S., Maslennikov I., Orlov A., Marinicheva I. Clinical results of perforan application: present and future. *Artif. Cells Blood Substit. Immobil. Biotechnol*. 2005; 33 (1): 37–46. DOI: 10.1081/bio-200046654. PMID: 15768564
19. 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. PMID: 15557364 DOI: 10.1161/01.CIR.0000148782.37563.F8

Поступила 30.04.2020

References

1. Varga Z., Flammer A.J., Steiger P., Haberecker M., Andermatt R., Zinkernagel A.S., Mehra M.R., Schuepbach R.A., Ruschitzka F., Moch H. Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19. *Lancet*. 2020; 395 (10234): 1417–1418. DOI: 10.1016/S0140-6736 (20)30937-5. PMID: 32325026.
2. Cyranoski D. Profile of a killer: the complex biology powering the coronavirus pandemic. *Nature*. 2020; 581 (7806): 22–26. DOI: 10.1038/d41586-020-01315-7.
3. Liu W., Li H. COVID-19: Attacks the 1-Beta Chain of Hemoglobin and Captures the Porphyrin to Inhibit Human Heme Metabolism. *ChemRxiv*. 2020; preprint. DOI: 10.26434/chemrxiv.11938173.v8.
4. Janz D.R., Ware, L.B. The role of red blood cells and cell-free hemoglobin in the pathogenesis of ARDS. *J Intensive Care* 2015; 3 (20). DOI: 10.1186/s40560-015-0086-3
5. Schaer D.J., Buehler P.W. Cell-free hemoglobin and its scavenger proteins: new disease models leading the way to targeted therapies. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2013; 3 (6): a013433. PMID: 23645855 PMCID: PMC3662353 DOI: 10.1101/cshperspect.a013433.
6. Klok EA., Kruijpb M.J.H.A., Meerc N.J.M., Arbousd M.S., Gommerse D.A.M.P.J., Kantf K.M., Kapteina F.H.J., Paassend J., Stalsa M.A.M., Huismana M.V., Endemane H. Incidence of Thrombotic Complications in Critically Ill ICU Patients With COVID-19. *Thromb. Res*. 2020; S0049-3848 (20)30120-1. DOI: 10.1016/j.thromres.2020.04.013. PMID: 32291094.
7. Ulrich H., Pillat M.M.. CD147 as a Target for COVID-19 Treatment: Suggested Effects of Azithromycin and Stem Cell Engagement. *Stem Cell Reviews and Reports*, 2020 DOI: 10.1007/s12015-020-09976-7
8. Cohen F.S. How Viruses Invade Cells. *Biophys J*. 2016; 110 (5): 1028–1032. DOI: 10.1016/j.bpj.2016.02.006
9. Orlov Y.I. Intravascular Hemolysis of Red Blood Cells in the Development of Organ Dysfunctions in Critical Conditions. *General Reanimatology*. 2008; 4 (2): 88. [In Russ.] DOI: 10.15360/1813-9779-2008-2-88.
10. Conran N., Almeida C.B. Hemolytic vascular inflammation: an update. *Rev. Bras. Hematol. Hemoter*. 2016; 38 (1): 55–57. DOI: 10.1016/j.bjhh.2015.10.004. PMID: 26969775.
11. Kozlova E.K., Chernysh A.M., Matteys T.N. Modeling of blood flow as the result of filtration-reabsorption processes in capillaries. *Adv. Physiol. Educ*. 2000; 23 (1): 32–39. DOI: 10.1152/advances.2000.23.1.S32. PMID: 10902525.
12. Park M.S. Diffuse alveolar hemorrhage. *Tuberc. Respir. Dis. (Seoul)*. 2013; 74 (4): 151–162. DOI: 10.4046/trd.2013.74.4.151. PMID: 23678356.
13. Mitra A., Dwyer D.M., Schivo M., Thompson G.R., Cohen S.H., Ku N. Graff J.P. Leukoerythroblastic reaction in a patient with COVID-19 infection. *American Journal of Hematology*. 2020, Mar 25. DOI: 10.1002/ajh.25793. [Epub ahead of print]
14. Cheng R. Hospital treatment of serious and critical COVID-19 infection with high-dose Vitamin C. Cheng Integrative Health Center Blog <http://www.drwlc.com/blog/2020/03/18/hospital-treatment-of-serious-and-critical-covid-19-infection-with-high-dose-vitamin-c/?fbclid=IwAR3qzrI-tjYloYMIqQQRWUfoionQPWNyJFrRyv-GQ18Rg3GSG9Sn-Z7Ln58>
15. Kozlova E., Chernysh A., Sergunova V., Gudkova O., Manchenko E., Kozlov A. Atomic force microscopy study of red blood cell membrane nanostructure during oxidation-reduction processes. *J. Mol. Recognit*. 2018; 31 (10): e2724. DOI: 10.1002/jmr.2724. PMID: 29740886.
16. Jensen F.B. Nitric oxide formation from nitrite in zebrafish. *J. Exp. Biol*. 2007; 210 (19): 3387–3394. DOI: 10.1242/jeb.008748. PMID: 17872992
17. Moroz V.V., Kozlova E.K., Bogushevich M.S., Chernysh A.M., Bliznyuk U.A., Kozlov A.P., Alekseyeva P.Y. Red Blood Cell Membranes in Donors of Different Age Groups. *General Reanimatology*. 2006; 2 (3): 9–11. [In Russ.] DOI: 10.15360/1813-9779-2006-3-9-11.
18. Maevsky E., Ivanitsky G., Bogdanova L., Axenova O., Karmen N., Zhiburt E., Senina R., Pushkin S., Maslennikov I., Orlov A., Marinicheva I. Clinical results of perforan application: present and future. *Artif. Cells Blood Substit. Immobil. Biotechnol*. 2005; 33 (1): 37–46. DOI: 10.1081/bio-200046654. PMID: 15768564
19. 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. PMID: 15557364 DOI: 10.1161/01.CIR.0000148782.37563.F8

Received 30.04.2020

COVID-19-ассоциированный тромбовоспалительный статус: гипотеза MicroCLOTS и ее перспективы (редакционная статья)

П. Нарделли¹, Дж. Ландони^{1,2}

¹ Отделение анестезиологии-реаниматологии, Научно-исследовательский институт San Raffaele, Милан, Италия

² Университет Vita-Salute San Raffaele, Милан, Италия

COVID-19-Related Thromboinflammatory Status: MicroCLOTS and Beyond (Editorial)

Pasquale Nardelli¹, Giovanni Landoni^{1,2}

¹ Anesthesia and Intensive Care Department, IRCCS San Raffaele Scientific Institute, Milan, Italy

² Vita-Salute San Raffaele University, Milan, Italy

Для цитирования: П. Нарделли, Дж. Ландони. COVID-19-ассоциированный тромбовоспалительный статус: гипотеза MicroCLOTS и ее перспективы. Общая реаниматология. 2020; 16 (3): 14–15. DOI: 10.15360/1813-9779-2020-3-0-2 [На англ.]

For citation: Pasquale Nardelli, Giovanni Landoni. COVID-19-Related Thromboinflammatory Status: MicroCLOTS and Beyond. Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology. 2020; 16 (3): 14–15. DOI: 10.15360/1813-9779-2020-3-0-2 [In Engl.]

DOI: 10.15360/1813-9779-2020-3-0-2

The COVID-19 global pandemic, infecting over 3.5 million people and killing over a quarter of a million in the first 4 months of 2020 [1], required physicians all over the world to suddenly face a completely new nosological identity, with unknown characteristics and clinical challenges.

Italy was the first Western country hardly hit by the epidemic, with the region of Milan being in the epicenter of the phenomenon. San Raffaele Scientific Institute was one of the first centers to organize an all-out response to the virus [2]. Our multidisciplinary scientific team was the first to hypothesize and publish a theory about acute respiratory distress syndrome (ARDS) pathogenesis in COVID-19, accounting for the peculiar clinical and radiological presentation [3]. The syndrome was called MicroCLOTS (microvascular COVID-19 lung vessels obstructive thromboinflammatory syndrome): the replication of SARS-CoV-2 in cells expressing the surface receptor angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) may stimulate innate immune responses and complement activation, causing a massive local release of pro-inflammatory cytokines ultimately resulting in severe tissue injury and microvascular thrombosis.

As cells expressing ACE2 include lung epithelial cells, but also arterial and venous endothelial cells and arterial smooth muscle cells of multiple organs [4], MicroCLOTS theory may explain also the high incidence of both venous and arterial thromboembolism in COVID-19 patients. In fact,

up to 1/3 of critically ill patients with COVID-19 appears to develop thrombotic complications [5] in spite of adequate thromboprophylaxis protocols. Thromboembolic complication ranged from deep venous thrombosis to ischemic stroke to the detection of thrombi in the lungs.

The presence of MicroCLOTS in the lungs may also explain the inefficacy or even the harm of high PEEP ventilation and excessive negative fluid balance, which are constricting pulmonary arterioles already partially obstructed by clots

Renal involvement also has a major role in COVID19: preliminary reports from Wuhan, China indicate that acute kidney injury occurred in 25 to 29 percent of critically ill patients [6, 7]. While Western world data on this topic are still lacking, the issue is being investigated [8]: autopsies reported peritubular erythrocyte aggregation and glomerular fibrin thrombi with ischemic collapse in kidneys of deceased COVID19 patients [9], possibly implying a similar etiology to pulmonary MicroCLOTS.

Managing a wide range of COVID-19 patients over the last two months, it appears we've been two different entities: an inflammatory phase, which responds well when targeting interleukins [10, 11] or complement [12] and a thrombotic phase which seems to respond well to thromboprophylaxis with low molecular weight heparin started early (at home or at hospital arrival) and to full anticoagulation in intensive care unit patients [13] and in selected patients in the main wards.

Адрес для корреспонденции:

Дж. Ландони
E-mail: landoni.giovanni@hsr.it

Correspondence to:

Giovanni Landoni
E-mail: landoni.giovanni@hsr.it

References

1. <https://gisanddata.maps.arcgis.com/apps/opsdashboard/index.html#/bda7594740fd40299423467b48e9ecf6>
2. Zangrillo A., Beretta L., Silvani P., Colombo S., Scandroglio M., Dell'acqua A., Fominskiy E., Landoni G., Monti G., Azzolini M.L., Monaco F., Oriani A., Belletti A., Sartorelli M., Pallanch O., Saleh O., Sartini C., Nardelli P., Lombardi G., Morselli F., Scquizzato T., Frontera A., Ruggeri A., Scotti R., Scotti A., Dagna L., Rovere-Querini P., Castagna A., Scarpellini P., Di Napoli D., Ambrosio A., Ciceri F., Tresoldi M. Fast reshaping of intensive care unit facilities in a large metropolitan hospital in Milan, Italy: facing the COVID-19 pandemic emergency. *Crit Care Resusc* 2020. Epub ahead of print
3. Ciceri F., Beretta L., Scandroglio A.M., Colombo S., Landoni G., Ruggeri A., Peccatori J., D'Angelo A., De Cobelli F., Rovere-Querini P., Tresoldi M., Dagna L., Zangrillo A. Microvascular COVID-19 lung vessels obstructive thromboinflammatory syndrome (MicroCLOTS): an atypical acute respiratory distress syndrome working hypothesis. *Crit Care Resusc* 2020. Epub ahead of print
4. Hamming I., Timens W., Bulthuis M.L.C., Lely A.T., Navis G., van Goor H. Tissue distribution of ACE2 protein, the functional receptor for SARS coronavirus. A first step in understanding SARS pathogenesis. *J Pathol* 2004; 203: 631-637. DOI: 10.1002/path.1570
5. Klok EA., Kruip M.J.H.A., van der Meer N.J.M., Arbous M.S., Gommers D.A.M.P.J., Kant K.M., Kaptein F.H.J., van Paassen J., Stals M.A.M., Huisman M.V., Endeman H. Incidence of thrombotic complications in critically ill ICU patients with COVID-19. *Thromb Res* 2020; S0049-3848 (20)30120-1. DOI: 10.1016/j.thromres.2020.04.013
6. Chen T., Wu D., Chen H., Yan W., Yang D., Chen G., Ma K., Xu D., Yu H., Wang H., Wang T., Guo W., Chen J., Ding C., Zhang X., Huang J., Han M., Li S., Luo X., Zhao J., Ning Q. Clinical characteristics of 113 deceased patients with coronavirus disease 2019: retrospective study. *BMJ* 2020; 368: m1091. DOI: 10.1136/bmj.m1091
8. Yang X., Yu Y., Xu J., Shu H., Xia J., Liu H., Wu Y., Zhang L., Yu Z., Fang M., Yu T., Wang Y., Pan S., Zou X., Yuan S., Shang Y. Clinical course and outcomes of critically ill patients with SARS-CoV-2 pneumonia in Wuhan, China: a single-centered, retrospective, observational study. *Lancet Respir Med* 2020; 8 (5): e26. DOI: 10.1016/S2213-2600(20)30079-5
8. Battle D., Soler M.J., Sparks M.A., Hiremath S., South A.M., Welling P.A., Swaminathan S. and on behalf of the COVID-19 and ACE2 in Cardiovascular, Lung, and Kidney Working Group. Acute Kidney Injury in COVID-19: Emerging Evidence of a Distinct Pathophysiology. *JASN* May 2020, ASN.2020040419 DOI: 10.1681/ASN.2020040419
9. Su H., Yang M., Wan C., Yi L.X., Tang F., Zhu H.Y., Yi F., Yang H.C., Fogo A.B., Nie X., Zhang C. Renal histopathological analysis of 26 postmortem findings of patients with COVID-19 in China. *Kidney International*. Epub ahead of print PMID: 32327202
10. Cavalli G., De Luca G., Campochiaro C., Della Torre E., Ripa M., Cannetti D., Oltolini C., Castiglioni B., Tassan Din C., Boffini N., Tomelleri A., Farina N., Ruggeri A., Rovere-Querini P., Di Lucca G., Martinenghi S., Scotti R., Tresoldi M., Ciceri F., Landoni G., Zangrillo A., Scarpellini P., Dagna L. Interleukin 1 blockade with high dose intravenous anakinra in patients with COVID-19, acute respiratory distress syndrome, and hyper-inflammation: a retrospective cohort study. *Lancet Rheumatol*. Published online 7 May 2020, 2020 DOI: 10.1016/S2665-9913(20)30127-2
11. Piemonti L., Landoni G. COVID-19 and islet transplantation: different twins. *Am J Transplant* 2020. In press
12. Risitano A., Mastellos D., Huber-Lang M., Yancopoulou D., Garlanda C., Ciceri F., Lambris J. Complement as a Target in COVID-19? *Nat Rev Immunol* 2020. DOI: 10.1038/s41577-020-0320-7. Epub ahead of print
13. Zangrillo A., Beretta L., Scandroglio A.M., Monti G., Fominskiy E.V., Colombo S., Morselli F., Belletti A., Silvani P., Crivellari M., Monaco F., Azzolini M.L., Reineke R., Nardelli P., Sartorelli M., Votta C.D., Ruggeri A., Ciceri F., De Cobelli F., Dagna L., Rovere-Querini P., Neto A.S., Bellomo R., Landoni G., Tresoldi M. Characteristics, treatment, outcomes and cause of death of invasively ventilated patients with COVID-19 ARDS in Milan, Italy. *Crit Care Resusc* 2020. Epub ahead of print

Поступила 07.05.2020

Прогностическое значение генетического полиморфизма промоторной области AQP5 при сепсисе с различными очагами

В. М. Писарев¹, А. Г. Чумаченко¹, И. Н. Тюрин², Р. А. Черпаков², Е. В. Елисина¹,
Е. К. Григорьев¹, И. А. Александров³, А. В. Тутельян^{3,4}

¹ НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского, ФНКЦ РР,
Россия, 107031, г. Москва, ул. Петровка, 2, д. 5, стр. 2

² Городская клиническая больница № 40 Департамента здравоохранения г. Москвы,
Россия, 127083, Москва, ул. Касаткина, д. 7

³ Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии,
онкологии и иммунологии им. Д. Рогачева Минздрава России,
Россия, 117997, г. Москва, ул. Саморы Машела, д. 1

⁴ Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора,
Россия, 111123, г. Москва, ул. Новогиреевская, д. 3а

Prognostic Value of a Genetic Polymorphism in Promotor Region of AQP5 in Sepsis Depends on the Source of Infection

Vladimir M. Pisarev¹, Anastasiya G. Chumachenko¹, Igor N. Turin², Rostislav A. Cherpakov²,
Elizaveta V. Elisina¹, Evgeny K. Grigoriev¹, Ivan A. Aleksandrov³, Aleksey V. Tutelyan^{3,4}

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

² City Clinical Hospital № 40,
7 Kasatkina Str, 127083 Moscow, Russia

³ D. Rogachev Federal Scientific Clinical Centre of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Health of Russia,
1 Samora Mashela Str., 117997 Moscow, Russia

⁴ Central Research Institute of Epidemiology of Rosпотребнадзор,
3a Novogireyevskaya Str., 111123 Moscow, Russia

Для цитирования: В.М. Писарев, А.Г. Чумаченко, И.Н. Тюрин, Р.А. Черпаков, Е.В. Елисина, Е.К. Григорьев, И.А. Александров, А.В. Тутельян. Прогностическое значение генетического полиморфизма промоторной области AQP5 при сепсисе с различными очагами. *Общая реаниматология*. 2020; 16 (3): 16–33. DOI: 10.15360/1813-9779-2020-3-16-33 [На русск. и англ.]

For citation: Vladimir M. Pisarev, Anastasiya G. Chumachenko, Igor N. Turin, Rostislav A. Cherpakov, E. V. Elisina, Evgeny K. Grigoriev, Ivan. A. Aleksandrov, Aleksey V. Tutelyan. Prognostic Value of a Genetic Polymorphism in Promotor Region of AQP5 in Sepsis Depends on the Source of Infection. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2020; 16 (3): 16–33. DOI: 10.15360/1813-9779-2020-3-16-33 [In Russ. and Engl.]

Резюме

Аквапорины — мембранные белки, играющие роль в транспорте молекул воды через клеточную мембрану и участвующие в формировании и разрешении отеков, миграции клеток, воспалительных реакциях. Имеются единичные исследования, свидетельствующие о связи генетического полиморфизма аквапорина 5 (rs3759129 AQP5) с течением сепсиса. Вместе с тем, очевидная гетерогенность пациентов по очагам инфекции может затруднить поиск наиболее выраженной ассоциации генотипов AQP5 с течением инфекционных осложнений критических состояний и дальнейшую разработку rs3759129 AQP5 как потенциально сильного маркера исхода сепсиса.

Цель исследования: выяснить связь аллельных вариантов сайта однонуклеотидного полиморфизма гена AQP5 (1364A/C, rs3759129) с исходами сепсиса (СЕПСИС-3, 2016) в зависимости от вероятного первичного очага инфекции.

Материалы и методы. С помощью тетрапраймерной полимеразной цепной реакции с последующей электрофоретической визуализацией продуктов проведено аллель-специфическое генотипирование ДНК, выделенной из образцов крови 339 пациентов отделений реанимации и интенсивной терапии двух лечебных учреждений.

Результаты. Выявлена тенденция к преимущественному выживанию пациентов с сепсисом с генотипами AQP5 «С+» (АС и СС) вне зависимости от источника инфекции ($p > 0,050$). Однако только в группе пациентов с генотипами AQP5 АС или СС и абдоминальным сепсисом (Sepsis-3, 2016) было вы-

Адрес для корреспонденции:

Владимир Митрофанович Писарев
E-mail: vpisarev@gmail.com

Correspondence to:

Vladimir M. Pisarev
E-mail: vpisarev@gmail.com

явлено значительное увеличение 30-дневной выживаемости по сравнению с гомозиготными пациентами генотипа *AQP5* AA ($p=0,002$).

Заключение. Информативная ценность выявления генотипов CC или AC *AQP5* для прогноза 30-дневной выживаемости по сравнению с гомозиготными пациентами с генотипом AA может быть выше у пациентов с абдоминальным сепсисом.

Ключевые слова: полиморфизм генов; *AQP5*; rs3759129; сепсис; абдоминальный сепсис; критические состояния

Summary

Aquaporins represent proteins contributed to water transport through cell membrane. They are involved in formation and resolution of edema, cell migration and inflammatory reaction. There are only few studies linking the genetic polymorphism of aquaporin 5 (rs3759129 *AQP5*) and sepsis. At the same time, the apparent heterogeneity of patients along the foci of infection may limit finding the most significant association of *AQP5* genotypes with the course of infectious complications of critical conditions and restrict further development of rs3759129 *AQP5* as a potentially strong marker of sepsis outcome.

The purpose of the study was to determine whether the preferential localization of the infection affects the prognostic value of the genetic marker *AQP5* (1364A/C, rs3759129) in outcome prediction in sepsis (SEPSIS-3, 2016) patients.

Materials and methods. Study groups ($n=339$) included ICU patients with abdominal sepsis (AS, including pancreatitis, peritonitis, cholecystitis, appendicitis; $n=94$) sepsis patients with other sources of infections ($n=65$) and ICU patients without sepsis ($n=180$). *AQP5* polymorphism was studied by analyzing PCR products in a 2% agarose gel using a *AQP5* 1364A/C specific tetra primer set.

Result. Distribution of alleles (A and C) and genotypes (AA, AC and CC) *AQP5* 1364A/C in patients with sepsis or sepsis subgroups (sepsis with no septic shock and sepsis shock patients) versus control group (healthy volunteers) did not differ. Although there was a trend to preferential survival of sepsis patients with genotype C *AQP5* despite the source of infection, only patients with *AQP5* CC or AC genotype and abdominal sepsis (Sepsis-3), or a subgroup of the same *AQP5* genotype experiencing septic shock, demonstrated increased 30-day survival versus AA homozygotic patients ($P=0.002$).

Conclusion. The informative value of detecting the *AQP5* CC or AC genotype for prognosis of 30-day survival versus AA homozygotic patients is most significant only in abdominal sepsis patients.

Keywords: SNP; genetic polymorphism; *AQP5*; aquaporins; sepsis; critical illness

DOI: 10.15360/1813-9779-2020-3-16-33

Введение

Сепсис является распространенным критическим состоянием, вносящим наиболее значительный вклад в летальность в отделениях интенсивной терапии в любой стране мира [1–3]. Развитие сепсиса сопровождается каскадом изменений в системах воспаления, коагуляции и фибринолиза, развивающихся с последующими нарушениями микроциркуляции и тканевой оксигенации, развитием митохондриальной дисфункции и метаболических расстройств [4, 5]. Существенная роль в регуляции воспаления, включая развитие отека и накопление клеток в очагах воспаления, принадлежит белкам клеточной мембраны — аквапоринам (AQP), регулирующим трансмембранный транспорт воды в тканях. В связи с ролью одного из аквапоринов — *AQP5* в развитии отеков и воспалительных реакций [6], а также миграции клеток иммунной системы [7], молекулы *AQP5* обладают потенциалом служить в качестве патогенетически значимых маркеров течения и исхода сепсиса [8].

Пациенты с сепсисом представляют собой достаточно гетерогенную группу, и индивиду-

Introduction

Sepsis is a common critical illness largely contributing to mortality in intensive care units worldwide [1–3]. Sepsis is accompanied by a series of changes in the inflammation, coagulation, and fibrinolysis systems with associated microcirculation and tissue oxygenation disorders, mitochondrial dysfunction, and metabolic disturbances [4, 5]. Cell membrane proteins, aquaporins (AQP), which regulate the transmembrane water transport in tissues, play key role in the control of inflammation. One of aquaporins, *AQP5*, is essential for the development of edema and inflammatory reactions [6] including migration of immune cells [7]. Therefore, *AQP5* molecules may serve as pathogenetically significant markers of the course and outcome of sepsis [8].

Patients with sepsis are a rather heterogeneous group, and personalized approaches using comprehensive high-tech treatment strategies of sepsis remain the challenges that has not yet been sufficiently addressed [9]. This heterogeneity of patients with sepsis may be caused by both variety of mechanisms leading to the same clinically abnormal condition in different patients, and genetic variability of key components of such mecha-

лизация подходов с использованием современных высокотехнологичных методов лечения сепсиса представляет одну из современных задач, реализуемых пока недостаточно [9]. Причины гетерогенности пациентов с сепсисом могут лежать как в разнообразии механизмов, приводящих к развитию сходного патологического состояния у разных пациентов, так и в области генетической вариабельности ключевых компонентов таких механизмов [10, 11]. Одним из наиболее распространенных методов изучения генетической вариабельности является исследование однонуклеотидного полиморфизма (SNP, single nucleotide polymorphisms), основанного на существовании в популяции аллельных вариантов одного и того же гена, отличающихся только по одному нуклеотиду в одном и том же участке хромосомы. Существуют лишь единичные работы, выявившие ассоциацию генетического полиморфизма *AQP5* с течением и исходами сепсиса [12, 13]. Так, Adamzik et al. показали, что пациенты генотипов AC и CC -1364 A/C *AQP5* сепсисом или острым респираторным дистресс-синдромом выживают чаще по сравнению с носителями альтернативного генотипа [13, 14]. Интересно, что сайт однонуклеотидной замены -1364 A/C (rs3759129) в промоторе гена аквапорина-5 (*AQP5*) определяет уровень экспрессии *AQP5*: в клетках пациентов генотипа *AQP5* AA экспрессия этого белка выше, чем в клетках носителей альтернативных генотипов [15]. При этом установили, что данные генетические варианты однонуклеотидной замены по-разному ассоциируются с контролем таких патогенетически значимых для развития сепсиса процессов, как активность ренин-ангиотензиновой системы и миграция клеток иммунной системы [7, 16]. Вместе с тем, экспериментальные данные на трансгенных по *AQP5* человека мышах показали неоднозначность связи генетически детерминированного уровня экспрессии *AQP5* и патогенетических механизмов, имеющих потенциальное отношение к развитию жизнеугрожающих инфекционных осложнений критических состояний при первичном источнике инфекции в легких [17]. В клинике значимость связи функционального полиморфизма в области промотора -1364 A/C *AQP5* (rs3759129) и первичного источника инфекции для прогноза сепсиса оставалась неисследованной.

Цель исследования — выявление связи генотипов однонуклеотидной замены -1364 A/C *AQP5* с исходами сепсиса в зависимости от первичного источника инфекции.

Материал и методы

Дизайн исследования. Проведено обсервационное, многоцентровое, проспективное, выборочное,

исследования [10, 11]. One of the most common methods of studying genetic variability is the analysis of single nucleotide polymorphisms (SNP) based on the parallel existence of several allelic variants of the same gene differing only by one nucleotide in the population. There are only few publications revealing association of genetic polymorphism *AQP5* with the course and outcome of sepsis [12, 13]. For example, Adamzik et al. have shown that patients with genotypes AC and CC-1364 A/C *AQP5* and sepsis or acute respiratory distress syndrome survive more often than those with an alternative genotype [13, 14]. Notably, the site of single-nucleotide polymorphism of -1364 A/C (rs3759129) in the promoter of the aquaporin-5 gene (*AQP5*) determines the level of *AQP5* expression: in cells of *AQP5* AA genotype patients, the expression of this protein is higher than in cells of alternative genotypes carriers [15]. At the same time, these genetic variants of single-nucleotide polymorphism were found to be associated in different ways with the control of renin-angiotensin system activity and migration of immune system cells, both playing a key role in sepsis development [7, 16]. Meanwhile, experimental data on *AQP5* transgenic mice have shown inconsistent association between the genetically determined level of *AQP5* expression and pathogenetic mechanisms potentially relevant to the development of life-threatening infection complications in critically ill patients with primary source of infection in the lungs [17]. No studies have been performed so far to find out if the prognostic value of linking sepsis outcome and functional polymorphism in the promoter area -1364 A/C *AQP5* (rs3759129) depends on the primary source of infection in sepsis patients.

The aim of the study was to identify the relationship between the genotypes of single-nucleotide polymorphism of -1364 A/C *AQP5* and the outcome of sepsis depending on the primary source of infection.

Materials and Methods

The study design. It was an observational, multi-centre, prospective, selective, uncontrolled genetic study based on two clinical hospitals. The study included patients of ICU ($n=339$) in whom genetic single-nucleotide polymorphism -1364 A/C of the promoter region of the *AQP5* gene (rs3759129) was evaluated. Depending on the detection of sepsis signs (according to the consensus definition SEPSIS-3, 2016) and the primary source of infection, patients were divided into groups (group 1 and group 2, depending on the presence of sepsis) and subgroups (depending on the primary focus of infection as well as the duration of hospitalization). A group of apparently healthy volunteers ($n=100$) living in Moscow was used as a population control.

Eligibility criteria.

Inclusion criteria. Inclusion criteria for the first group ($n=180$) were:

неконтролируемое генетическое исследование на базе двух клинических больниц. В исследование вошли пациенты ОРИТ ($n=339$), у которых был определен генетический однонуклеотидный полиморфизм -1364 A/C промоторной зоны гена AQP5 (rs3759129). В зависимости от выявления признаков сепсиса (согласно консенсусному определению СЕПСИС-3, 2016) и первичного источника инфекции, пациентов подразделяли на группы (группа 1 и группа 2, в зависимости от наличия сепсиса) и подгруппы (в зависимости от первичного очага инфекции, а также от длительности госпитализации). В качестве популяционного контроля использовали группу условно-здоровых доноров ($n=100$) московской популяции.

Критерии соответствия.

Критерии включения. Критерии включения в первую группу ($n=180$):

- возраст от 19 до 91 года,
- длительность нахождения в ОРИТ от 2 и более суток,
- принадлежность к европеоидной популяции (опрос, внешние признаки),
- отсутствие сепсиса по критериям СЕПСИС-3, 2016 [18] в течение всего срока госпитализации.

Критерии включения во вторую группу ($n=159$):

- возраст от 19 до 91 года,
- длительность нахождения в ОРИТ от 2 и более суток,
- принадлежность к европеоидной популяции (опрос, внешние признаки),
- развившийся в течение госпитализации сепсис (в соответствии с критериями SEPSIS-3) [18].

Критерии исключения. Критериями исключения являлись:

- длительность госпитализации менее, чем двое суток,
- хроническая интоксикация препаратами опиоидного и опиатного рядов, психостимуляторами, седативно-снотворными веществами,
- имеющиеся данные о воздействии вредных факторов окружающей среды (бензол, ртуть и пр.),
- лекарственная иммуносупрессия (по анамнестическим данным, имеющейся медицинской документации),
- наличие в прошлом или выявленных при госпитализации инфекций, вызванных возбудителями СПИД, вирусных гепатитов, менингита, сифилиса.

Условия проведения исследования. В работе исследовали пациентов ОРИТ городской клинической больницы им. В. М. Буянова Департамента здравоохранения г. Москвы и Федерального научно-клинического центра реаниматологии и реабилитологии Министерства науки и высшего образования. Всем пациентам, поступившим в ОРИТ, оказывали медицинскую помощь в соответствии с принятыми протоколами лечения, рекомендованными Минздравом РФ. Исследование проведено в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (ВМА) об этических принципах проведения исследований с участием человека в качестве субъекта, декларированных на 64-ой Генеральной ассамблее ВМА, Форталеза, Бразилия, 2013 и решением Этического комитета ФНКЦ РР (протокол № В 2.2.18 от 20.12.2018 г)

- age between 19 and 91 years,
- duration of stay in ICU two and more days,
- Caucasian race (defined by survey and appearance),
- no sepsis according to SEPSIS-3, 2016 [18] during the whole period of hospitalization.

Inclusion criteria for the second group ($n=159$):

- age between 19 and 91 years,
- duration of stay in ICU two and more days,
- Caucasian race (defined by survey and appearance),
- sepsis developed during hospitalization (according to SEPSIS-3 criteria) [18].

Exclusion criteria. The exclusion criteria were:

- the duration of hospitalization less than two days,
- Chronic intoxication by opiate and opiate-like drugs, stimulants, sedatives,
- available data on the environmental hazards exposure (benzene, mercury, etc.),
- medical immune suppression (based on history data and available medical documentation),
- previous or present infectious conditions such as AIDS, viral hepatitis, meningitis, syphilis.

Terms and conditions of the study. The patients hospitalized in the ICU of City Clinical Hospital named after V. M. Buyanov of the Moscow Department of Healthcare and the Federal Research and Clinical Centre of Critical Care medicine and Rehabilitology of the Ministry of Science and Higher Education participated in the study. All patients admitted to ICU were treated according to the treatment protocols recommended by the Ministry of Health of the Russian Federation. The study was conducted in accordance with the Helsinki Declaration of the World Medical Association (WMA) on Ethical Principles for Research Involving Human Subjects proclaimed at the 64th General Assembly of the WMA, Fortaleza, Brazil, 2013, and the decision of the Ethics Committee of the Federal Research and Clinical Centre of Critical Care and Rehabilitology (Protocol No. B 2.2.18 of 20.12.2018).

Duration of study. The study was conducted in 2018–2019. The average duration of hospital stay of patients was $15 \text{ days} \pm 15.2$.

Description of medical intervention. Venous blood was taken for molecular test in 5 ml EDTA tubes (Vacuette, Austria).

The main outcome of the study. The main outcome of the study was the 30-day survival rate of patients. The contribution of single-nucleotide polymorphism AQP5 rs3759129 to 30-day survival rate of ICU patients was assessed.

Analysis in subgroups. Patients with sepsis were divided into two subgroups depending on the suspected primary focus of sepsis (in the abdominal cavity, abdominal sepsis, or non-abdominal sepsis). Furthermore, a subgroup of patients with abdominal sepsis was divided into second order subgroups depending on the length of hospitalization: 1) 2–10 days, and 2) 11 days or more.

Outcome registration. A group of ICU patients was studied (aged 19 to 91 years, mean age — 59.8 ± 16.4 years). Sepsis and septic shock in patients were diagnosed according to the international consensus panel guidelines SEPSIS-3 (2016). DNA for genotyping was extracted from whole blood using Diatom DNA Prep 200 kits, according to the enclosed instructions (Isogen Lab,

Продолжительность исследования. Исследование проводилось в 2018–2019 году. Средняя длительность пребывания пациентов в стационаре составила 15 суток $\pm$ 15,2.

Описание медицинского вмешательства. Забор венозной крови для молекулярно-биологического исследования осуществляли в пробирки объемом 5 мл с ЭДТА производства компании Vacuette (Австрия). В ряде случаев для генотипирования использовали остатки крови, забранные в пробирки с ЭДТА, предназначенные для проведения медицинских анализов по медицинским показаниям.

Основной исход исследования. Основным исходом исследования являлась 30-дневная выживаемость пациентов. В работе оценивали вклад однонуклеотидного полиморфизма *AQP5* rs3759129 в 30-дневную выживаемость пациентов ОРИТ.

Анализ в подгруппах. Пациенты с сепсисом были разделены на две подгруппы в зависимости от предполагаемого первичного очага сепсиса (в абдоминальной полости — абдоминальный сепсис, или очаг инфекции иной локализации — неабдоминальный сепсис). Далее, подгруппу пациентов с абдоминальным сепсисом дополнительно разделяли на подгруппы второго порядка в зависимости от продолжительности госпитализации: 1) 2–10 дней, и 2) 11 дней и более.

Методы регистрации исходов. Исследовали группу пациентов ОРИТ (в возрасте от 19 до 91 года, средний возраст — 59,8 $\pm$ 16,4 года. Сепсис и септический шок у пациентов определяли в соответствии с рекомендациями международной консенсусной панели исследователей SEPSIS-3 (2016). ДНК для генотипирования выделяли из цельной крови с помощью наборов Diatom DNA Prep 200, согласно прилагаемой инструкции (ООО «Лаборатория Изоген», Россия). С помощью публично доступных данных сайта NCBI [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP] были проанализированы последовательности нуклеотидов в составе гена *AQP5* человека и синтезированы праймеры для генотипирования аллельных вариантов А и С промоторной области гена *AQP5* rs3759129:

1. Прямой внешний (F₁) —
5'-CTCCAGCCTCGTTCTCCACATG — 3',
2. Обратный внешний (R₁) —
5'-CTTGATCTCTCCCCTCGA — 3',
3. Прямой внутренний (F₂) —
5'-GACAGAGAGACTAAGACAGCAAC -3',
4. Обратный внутренний (R₂) —
5'-CTGTTTTCCTCCTGCCTT 3'.

Генотипирование ДНК проводили с помощью тетрапраймерной полимеразной цепной реакции (ПЦР) [19]. Принцип метода следующий: с помощью двух пар праймеров в одной пробирке одновременно амплифицируют фрагменты ДНК, соответствующие обоим аллелям — мутантному и нормальному. Аллель-специфичные ампликоны имеют разные длины и определяются с помощью гелеэлектрофореза. Аллель-специфическую ПЦР проводили в программируемом термостате GenAmp 9700 (Applied Biosystems, США). Использовали следующий режим постановки ПЦР: T₁ -95°C, 30 сек, T₂ — 61,9°C, 30 сек (32 цикла) T₃ - 72°C с последующей пролонгацией при 72°C в течении 7 минут. Продукты амплификации разделяли с помощью электрофореза

(Russia). Using publicly available data from the NCBI website [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP], sequences of nucleotides in the human *AQP5* gene were analyzed and primers were synthesized for genotyping the allele variants A and C of the promoter region of the *AQP5* gene rs3759129:

1. Forward external (F₁) —
5'-CTCCAGCCTCGTTCTCCACATG — 3',
2. Reverse external (R₁) —
5'-CTTGATCTCTCCCCTCGA — 3',
3. Forward internal (F₂) —
5'-GACAGAGAGACTAAGCAAC -3',
4. Reverse internal (R₂) —
5'-CTGTTTTCCTCCTGCCTT 3'.

DNA genotyping was performed using tetra-primer polymerase chain reaction (PCR) [19]. The principle of the method is as follows: using two pairs of primers in one tube, DNA fragments corresponding to both mutant and normal alleles are amplified simultaneously. The allele-specific amplicons have different lengths and are detected with gel electrophoresis. Allele-specific PCR was performed in a GenAmp 9700 programmable thermostat (Applied Biosystems, USA). The following PCR modes were used: T₁ — 95°C, 30 sec, T₂ — 61,9°C, 30 sec (32 cycles), T₃ — 72°C with subsequent prolongation at 72°C for 7 minutes. Amplification products were separated by electrophoresis in gel with 2% agarose followed by visualization of results in the passing UV light (fig. 1).

The correlation of survival rates in patients from different groups and subgroups with various variants of genetic polymorphism *AQP5* -1364 A/C was identified by analysis and statistical calculations.

Statistical analysis methods. The testing of allele frequencies distribution for compatibility with the Hardy-Weinberg equilibrium was done using the χ^2 test. The study compared *AQP5* AA homozygotes frequencies with other genotypes in the patient groups. Correlation of genotypes and diseases was characterized by odds ratio (OR) and 95 percent confidence intervals. Statistical processing was performed using GraphPad InStat (GraphPad Software Inc., La Jolla, CA, USA). The distribution of values in the samples was estimated using the Kolmogorov-Smirnov criterion. In subsequent calculations for binary parameters, the exact Fisher method was used. For quantitative parameters with normal distribution, the Student t criterion was used and the mean and the error of the mean were calculated. Differences between groups with $P < 0.05$ were considered significant.

Results and Discussion

The clinical characteristics of the groups are presented in tables 1 and 2. The groups ($n=339$) included ICU patients without sepsis ($n=180$), with abdominal sepsis (pancreatitis, peritonitis, cholecystitis, and appendicitis; $n=94$, table 1), and patients with sepsis with other sources of infection ($n=65$, table 2). Apparently healthy volunteers served as a control group ($n=100$).

The distribution of genotypes among all ICU patients is shown in fig. 2. As seen from the figure, the frequencies of genotypes were: AA — 74%, AC — 24%, CC — 2% ($n=339$, $P=0.532$), which was compatible with Hardy-Weinberg equilibrium. The

в геле с 2% агарозы с последующей визуализацией результатов в проходящем УФ-свете (рис. 1).

Связь выживаемости пациентов разных групп и подгрупп с тем или иным вариантом генетического полиморфизма *AQP5*-1364 A/C устанавливали путем анализа и статистических расчетов.

Статистический анализ. Методы статистического анализа данных: Распределение частот аллелей на соответствие закону Харди-Вайнберга проверяли с помощью теста χ^2 . В исследовании сравнивали частоты гомозигот *AQP5* AA с остальными генотипами в группах больных. Степень ассоциации генотипов и заболеваний характеризовали с помощью показателя отношения шансов (odds ratio, OR) и 95- процентные доверительные интервалы. Статистическую обработку осуществляли при помощи программы GraphPad InStat (GraphPad Software Inc., La Jolla, CA, USA). Характер распределения величин в выборках определяли с помощью критерия Колмогорова-Смирнова. В последующих расчетах для бинарных показателей применяли точный метод Фишера (ТМФ). Для количественных показателей в случаях с нормальным распределением величин использовали критерий *t* Стьюдента, рассчитывая среднее значение (M) и стандартное отклонение (σ). Достоверными считали различия между группами при значении $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Клиническая характеристика групп представлена в табл. 1 и 2. Группы ($n=339$) включали пациентов ОРИТ без сепсиса ($n=180$), с абдоминальным сепсисом (панкреатит, перитонит, холецистит, аппендицит; $n=94$, табл. 1) и пациентов с сепсисом, но с другими источниками инфекций ($n=65$, табл. 2). В качестве контрольной группы использовали условно-здоровых добровольцев ($n=100$).

Распределение генотипов среди всех пациентов ОРИТ представлено на рис. 2. Как видно из рисунка, частоты генотипов составили: AA — 74%, AC — 24%, CC — 2% ($n=339$, $p=0,532$), что соответствовало закону Харди-Вайнберга. Распределения частот генотипов среди пациентов достоверно не отличались от таковых в контрольной группе условно-здоровых добровольцев (AA — 70%, AC — 26%, CC — 4%, $n=100$, $p=0,431$). Величина p указывает на соответствие закону Харди-Вайнберга.

Распределения частот генотипов в группе пациентов с сепсисом составили: AA — 73,7%, AC — 23,7%, CC — 2,6%, что также соответствовало закону Харди-Вайнберга ($p=0,657$, $n=159$) и достоверно не отличались от распределения среди здоровых доноров (рис. 2).

Среди пациентов без сепсиса из носителей генотипа *AQP5* AA выжили — 121, умерли — 13, среди носителей генотипов *AQP5* AC и CC — 42 и 4, соответственно ($n=180$, $p=0,9113$, Хи-квадрат, рис. 3, а). Таким образом, показатели летальности в группе пациентов различных

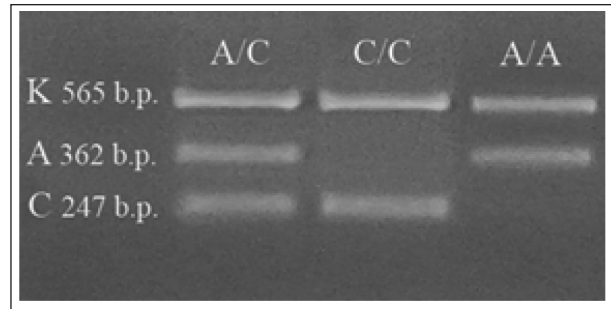


Рис. 1. Электрофореграмма продуктов амплификации *AQP5* rs3759129.

Fig. 1. *AQP5* rs3759129 amplification product electrophoregram.

Note. К — amplification control, 565 np; A — allele A, 362 np; C — allele C, 247 np.

Примечание. К — контроль амплификации, 565 п.н.; А — аллель А, 362 п.н.; С — аллель С, 247 п.н.

Таблица 1. Характеристика нозологической структуры группы пациентов с абдоминальным сепсисом, $n=94$ ($M \pm \sigma$).

Table 1. Parameters of group of patients with abdominal sepsis, $n=94$ ($M \pm \sigma$).

Parameters	Value
Age, years	58.6±14.8
Sex	
Male, n	52
Female, n	42
APACHE II on admission, score	14.8±5.9
SOFA on admission, score	3.6±2.3
Hospital stay, day	16.4±17.3
Lung ventilation duration, day	7.3±12.4
ICU stay, day	8.7±7.8
Pancreatic necrosis, pancreatitis, n	12
Peritonitis, n	22
Cholecystitis, cholangitis, biliary tract stones, n	11
Neoplastic diseases*, n	4
Appendicitis, n	24
Pyelonephritis, n	3
Mesenteric thrombosis, n	6
Other**, n	12

Note. * — sigmoid cancer, pancreatic cancer, gastric cancer, lung carcinoma with metastatic pleural effusion. ** — caecal perforation, sigmoid volvulus, renal cyst rupture, small bowel necrosis, spontaneous esophageal rupture, abdominal ischemic syndrome, colonic polyp, peptic ulcer disease.

Примечание. Для табл. 1, 2: Parameters — параметры; Value — значение; Age — возраст; Sex — пол; Male — мужчины; Female — женщины; on admission — при поступлении; Hospital stay — длительность пребывания в больнице; Lung ventilation duration — длительность ИВЛ; ICU stay — длительность пребывания в ОРИТ; pancreatic necrosis, pancreatitis — панкреонекроз, панкреатит; neoplastic diseases — онкологические заболевания; other — другое; Peritonitis — перитонит; cholecystitis, cholangitis, biliary tract stones — холецистит, холангит, холедохолитиаз; appendicitis — аппендицит; pyelonephritis — пиелонефрит; mesenteric thrombosis — мезентеральный тромбоз. * — рак сигмовидной кишки, поджелудочной железы, желудка, рак легкого с метастатическим плевритом. ** — перфорация купола слепой кишки, заворот сигмовидной кишки, разрыв кисты почки, некроз тонкой кишки, спонтанный разрыв пищевода, абдоминальный ишемический синдром, полип слепой кишки, язвенная болезнь.

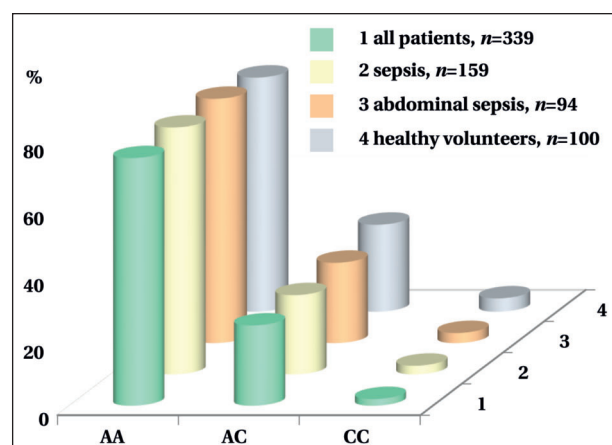


Рис. 2. Распределение всех пациентов ОРИТ (1), пациентов с сепсисом (2) и только с абдоминальным сепсисом (3) по частотам генотипов по сравнению с контрольной группой здоровых доноров (4).

Fig. 2. Distribution of all ICU patients (1), patients with sepsis (2) and patients with abdominal sepsis (3) by frequency of genotypes compared to the control group of healthy participants (4).

Примечание. All patients — все пациенты; sepsis — сепсис; abdominal sepsis — абдоминальный сепсис; healthy volunteers — условно-здоровые доноры.

генотипов *AQP5* без сепсиса практически одинаковы.

У 159 человек пациентов был диагностирован сепсис (СЕПСИС-3). Среди пациентов с сепсисом и генотипом *AQP5* AA выжили 53, умерли — 64, среди носителей альтернативных генотипов — 27 и 15, соответственно ($n=159$, $p=0,053$, $OR=2,174$, Хи-квадрат, рис. 3, *b*). Таким образом, выявлена тенденция лучшей выживаемости пациентов с сепсисом генотипов *AQP5* AC и CC по сравнению с септическими пациентами генотипа *AQP5* AA, однако различия между пациентами разных генотипов были всего лишь на уровне, близкой к маргинальной достоверности.

Таблица 2. Характеристика нозологической структуры группы пациентов с неабдоминальным сепсисом, $n=65$ ($M \pm \sigma$).

Table 2. Parameters of group of patients with sepsis due to non-abdominal causes, $n=65$ ($M \pm \sigma$).

Parameters	Value
Age, years	62±18.3
Sex	
Male, <i>n</i>	35
Female, <i>n</i>	30
APACHE II on admission, score	14.6±5.4
SOFA on admission, score	3.6±2.1
Hospital stay, day	19.8±8.4
Lung ventilation duration, day	11.7±19.2
ICU stay, day	19.4±28.3
Pneumonia, <i>n</i>	18
Trauma, <i>n</i>	6
Stroke, <i>n</i>	11
Hypoxic brain injury, <i>n</i>	4
Neoplastic diseases*, <i>n</i>	7
Cardiovascular diseases, <i>n</i>	6
Non-viral hepatitis, <i>n</i>	5
Pancreatic necrosis, pancreatitis, <i>n</i>	4
Other**, <i>n</i>	4

Note. * — adrenal neoplasm, laryngeal neoplasm, glioblastoma, cervical cancer, lung carcinoma, craniopharyngioma. ** — gastritis, multiple sclerosis, peptic ulcer disease.

Примечание. * — новообразования надпочечников, гор-тани, глиобластома, рак шейки матки, рак легкого, кра-ниофарингиома. ** — гастрит, рассеянный склероз, яз-венная болезнь. Pneumonia — пневмония; trauma — травма; stroke — инсульт; hypoxic brain injury — гипоксические повреждение головного мозга; cardiovascular diseases — сердечно-сосудистые заболевания; non-viral hepatitis — гепатит невирусной этиологии.

frequency distributions of genotypes among patients did not differ significantly from those in the control group of apparently healthy volunteers (AA — 70%, AC — 26%, CC — 4%, $n=100$, $P=0.431$). The p value indicates conformity with the Hardy-Weinberg equilibrium.

Genotype frequency distributions in the group of sepsis patients were: AA — 73.8%, AC — 23.7%, CC — 2.6%, which also was compatible with

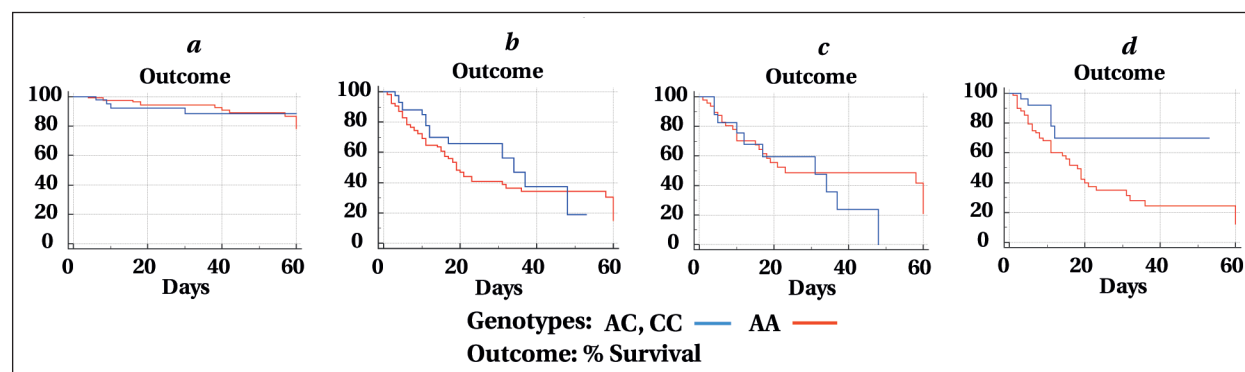


Рис. 3. Выживаемость пациентов ОРИТ с различными генотипами *AQP5* rs3759129.

Fig. 3. Survival rate of ICU patients with different genotypes of *AQP5* rs3759129.

Note. *a* — no sepsis, $n=180$, $P=0.9113$, χ^2 . *b* — sepsis, all, $n=159$, $P=0.053$, $OR=2.174$, χ^2 . *c* — non-abdominal sepsis, $n=65$, $P=0.583$, Fischer's method. *d* — abdominal sepsis, $n=94$, $P=0.002$, $OR=5.714$.

Примечание. *a* — нет сепсиса, $n=180$, $p=0,9113$, χ^2 . *b* — сепсис, все, $n=159$, $p=0,053$, $OR=2,174$, χ^2 . *c* — неабдоминальный сепсис, $n=65$, $p=0,583$, метод Фишера. *d* — абдоминальный сепсис, $n=94$, $p=0,002$, $OR=5.714$. Outcome — исход; Survival — выжившие; days — дни.

Все пациенты с сепсисом были разделены на две группы — пациенты с абдоминальным и неабдоминальным сепсисом. Из носителей генотипа *AQP5* AA с неабдоминальным сепсисом умерли 50%, среди носителей генотипов *AQP5* AC, CC — 41% ($n=65$, $p=0,583$, ТМФ, рис. 3, с). Таким образом, выживаемость при неабдоминальном сепсисе не зависит от однонуклеотидной замены *AQP5* rs3759129.

Среди пациентов с абдоминальным сепсисом различия в выживаемости пациентов различных генотипов оказались значимы. Так, среди пациентов мажорного генотипа *AQP5* AA выжили 29, умерли — 40, среди пациентов других (минорных) генотипов AC и CC — 20 и 5 пациентов, соответственно ($n=94$, $p=0,002$, OR=5,714, ТМФ, рис. 3, d). Таким образом, наличие аллеля С *AQP5* в значительной мере определяет благоприятный исход сепсиса только в случае источника инфекции в абдоминальной полости (абдоминальный сепсис). Следовательно, контролируемая или ассоциированная с аллелем С *AQP5* защита от летального исхода при абдоминальном сепсисе носит доминантный характер.

Далее, группу пациентов с абдоминальным сепсисом разделили на две примерно равные подгруппы: 1) пациенты с длительностью госпитализации 2–10 дней ($n=46$), и 2) пациенты с продолжительностью госпитализации 11 дней и более ($n=48$). В первой подгруппе различия в выживаемости между пациентами с генотипами *AQP5* AC, CC и пациентами генотипа *AQP5* AA оказались значимыми. Так, пациенты с минорной аллелью С выживали значительно чаще — в 83 %, по сравнению с пациентами с альтернативным генотипом AA, выживаемость которых составила 38% ($p=0,017$, ТМФ, $n=46$). 30-дневная выживаемость пациентов второй подгруппы — носителей минорной аллели С составила сходную с первой подгруппой величину — 79%. Однако, в отличие от первой подгруппы, по выживаемости пациенты с абдоминальным сепсисом — гомозиготные по мажорной аллели А и носители аллели С — значительно не отличались, сохраняя, впрочем, сходную тенденцию к различиям ($p=0,054$, ТМФ, $n=48$). Таким образом, протективный эффект аллели С *AQP5* наиболее выражено проявляется в группе пациентов с абдоминальным сепсисом достаточно рано — в первые 10 дней госпитализации.

Молекулярные механизмы снижения экспрессии *AQP5* у носителей минорного аллельного варианта С (rs3759129) неизвестны. Поскольку не исключено, что мутация А→С rs3759129 в промоторной области гена *AQP5* могла произойти в сайте связывания какого-либо транскрипционного фактора, данный район

the Hardy–Weinberg equilibrium ($P=0.657$, $n=159$) and did not differ significantly from the distribution among healthy participants (fig. 2).

Among patients without sepsis who were *AQP5* AA genotype carriers 121 survived, 13 died, and among *AQP5* AC and CC genotypes carriers 42 and 4, respectively ($n=180$, $P=0.9113$, χ^2 , fig. 3, a). Thus, mortality in the group of patients with various *AQP5* genotypes without sepsis was almost identical.

Sepsis was diagnosed in 159 patients (SEPSIS-3). Among patients with sepsis and *AQP5* AA genotype 53 survived, 64 died, among carriers of alternative genotypes — 27 and 15, respectively ($n=159$, $P=0.053$, OR=2.174, χ^2 , fig. 3, b). Hence, the tendency of better survival in patients with *AQP5* AC and CC genotypes was found compared to septic patients of *AQP5* AA genotype, but the differences between patients of different genotypes were not significant.

All patients with sepsis were divided into two groups: those with abdominal and non-abdominal sepsis. Among carriers of *AQP5* AA genotype with non-abdominal sepsis 50% died, among carriers of *AQP5* AC, CC genotypes 41% died ($n=65$, $P=0.583$, Fischer's method, fig. 3, b). Thereby, survival rate in non-abdominal sepsis does not depend on single-nucleotide polymorphism of *AQP5* rs3759129.

Among patients with abdominal sepsis, differences in survival rates of patients with different genotypes were significant. In particular, 29 patients of the major genotype *AQP5* AA survived, 40 died, among other (minor) genotypes of AC and CC 20 survived and 5 patients died ($n=94$, $P=0.002$, OR=5.714, Fischer's method, fig. 3, d). So, the presence of allele C of *AQP5* largely determines the favorable outcome of sepsis only if the source of infection was localized in the abdominal cavity (abdominal sepsis). Therefore, controlled by or associated with allele C of *AQP5* protection against lethal outcomes in abdominal sepsis is dominant.

The group of patients with abdominal sepsis was further divided into two approximately equal subgroups: 1) patients with a duration of hospitalization of 2–10 days ($n=46$), and 2) patients with a duration of hospitalization of 11 days or more ($n=48$). In the first subgroup, differences in survival rates between patients with *AQP5* AC, CC genotypes and patients with *AQP5* AA genotype were significant. Thus, patients with minor allele C survived significantly more frequently, in 83%, compared with patients with alternative genotype AA, whose survival rate was 38% ($P=0.017$, Fischer's method, $n=46$). The 30-day survival rate of patients of the second subgroup carrying the minor allele C was similar to that of the first subgroup at 79%. However, in contrast to the first subgroup, the survival rate of patients with abdominal sepsis homozygous in major allele A and carriers of minor

был проанализирован *in silico* с помощью двух баз данных: JASPAR [20] (<http://jaspar.genereg.net/about/>) и SNP2TFBS [21] (<https://ccg.epfl.ch/snp2tfbs/snpviewer.php>). В анализе на основе базы данных JASPAR использовалась последовательность нуклеотидов вокруг SNP размером в 100 нуклеотидов. Было проанализировано 540 мотивов сайтов связывания различных факторов с порогом относительного счета 90%. В анализе на основе базы данных SNP2TFBS был задействован только SNP rs3759129. Обнаружили, что непосредственно сама замена не входит в состав сайта связывания какого-либо транскрипционного фактора. Ряд исследований, однако, указывает на то, что замены нуклеотидов в зонах, ближайших от сайта связывания, также может значительно изменять экспрессию регулируемого гена [22]. Поэтому интерес представляли и потенциальные сайты связывания вблизи сайта исследуемого полиморфизма. Согласно базе JASPAR, недалеко от точки расположения мутации — на протяжении 101 нуклеотида был обнаружен целый ряд потенциальных сайтов связывания транскрипционных факторов — преимущественно белков класса T-BOX. В табл. 3 представлены отобранные кандидатные сайты связывания транскрипционных факторов с относительным счетом около 1, имеющие наибольшую вероятность существования не только *in silico*, но и в реальности. К таковым, прежде всего, относятся сайты транскрипционных факторов EHF, TBX4, TBX1, TBX15 с относительным счетом 1, а также сайты с относительным счетом ниже 1 на величину, не превышающую 10%, расположены в пределах 50 нуклеотидов от мутации — MGA, TBX5, ETS1, SPI1, MEIS1, FLI1 (табл. 3).

Следует полагать, что последующие исследования того, какие транскрипционные факторы изменяют характер своего связывания с промоторной областью в зависимости от наличия цитозина или аденозина в близлежащем сайте полиморфизма -1364 A/C AQP5, помогут точнее установить механизм ассоциации генетических вариантов -1364 A/C AQP5 с ранней смертностью пациентов с абдоминальным сепсисом.

Проведенное исследование позволило впервые установить, что комбинация генетического фактора — минорной аллели С однонуклеотидной замены в области сайта 1364 A/C гена AQP5, и фактора среды — наличие источника инфекции в брюшной полости — определяют лучшую выживаемость при сепсисе (рис. 3, *d*, $p=0,002$, OR=5,714).

Белок AQP5 обеспечивает активный транспорт воды в клетки и из клеток иммунной системы и жизненно важных органов — головного мозга, почек, легких [6, 8, 23]. Счита-

Таблица 3. Наиболее значимые сайты связывания транскрипционных факторов в области генетического полиморфизма -1364 A/C AQP5 (rs3759129).
Table 3. Most important sites of transcription factors binding in the genetic polymorphism region -1364 A/C AQP5 (rs3759129).

Matrix ID	Gene	Relative count*	Nucleotide		Distance to SNP
			First	Last	
MA0598.1	EHF	1.0000	55	62	+4
MA0806.1	TBX4	1.0000	80	87	+29
MA0805.1	TBX1	1.0000	80	87	+29
MA0803.1	TBX15	1.0000	80	87	+29
MA0801.1	MGA	0.9999	80	87	+29
MA0807.1	TBX5	0.9999	80	87	+29
MA0098.1	ETS1	0.9924	56	61	+5
MA0098.1	ETS1	0.9924	60	65	+9
MA0080.1	SPI1	0.9778	56	61	+5
MA0098.1	ETS1	0.9737	4	9	-42
MA0498.2	MEIS1	0.9320	41	47	-4
MA0475.1	FLI1	0.9195	54	64	+3

Note. * — The numerical expression of the compliance of the studied sequence to the binding site motive.

Примечание. * — Цифровое выражение соответствия изучаемой последовательности мотиву сайта связывания. Matrix ID — номер матрикса; gene — ген; relative count — относительный счет; first/last nucleotide — первый/последний нуклеотид; distance to SNP — расстояние до SNP.

allele C did not differ significantly, although maintaining a similar trend for differences ($P=0.054$, Fischer's method, $n=48$). Thus, the strong protective effect of AQP5 allele C is revealed in the group of patients with abdominal sepsis quite early, in the first 10 days of hospitalization.

Molecular mechanisms of reduced AQP5 expression in carriers of minor allele C (rs3759129) are unknown. Since the A→C rs 3759129 mutation in the promoter region of the AQP5 gene could have occurred in the binding site of a transcription factor, this region was analyzed *in silico* using two databases, JASPAR [20] (<http://jaspar.genereg.net/about/>) and SNP2TFBS [21] (<https://ccg.epfl.ch/snp2tfbs/snpviewer.php>). The analysis based on the JASPAR database used a sequence of nucleotides with a size of 100 nucleotides around SNP. We analyzed 540 motives for binding sites of various factors with the 90% relative score threshold. Only SNP rs3759129 was used in the analysis based on the SNP2TFBS database. The polymorphism itself was found not to be part of a binding site of any transcription factor. Several studies, however, had demonstrated that the nucleotide polymorphism in areas nearest to the binding site could also significantly change the expression of the regulated gene [22]. Therefore, potential binding sites near the site of the polymorphism under study were of interest as well. According to the JASPAR database, a number of potential binding sites of transcription factors, mainly T-BOX class proteins, were discovered in the vicinity of the mutation site, 101 nucleotides long. table 3 presents selected candidate transcription factor binding sites with a relative score of about 1, which are the most likely to exist not only *in silico*, but also in reality. These are primarily transcrip-

ется, что именно этот механизм обуславливает вовлечение AQP5 в контроль пролиферации клеток, воспалительные реакции, образование и рассасывание отеков, миграцию иммунокомпетентных клеток в организме [11, 24, 25]. Показано, что замена аденина на цитозин в положении -1364 AQP5 ассоциирована со снижением экспрессии гена AQP5 в клетках иммунной системы при сепсисе и уменьшением миграционного потенциала нейтрофилов [15]. Предполагается, что именно сниженная экспрессия AQP5 и последующее снижение миграции нейтрофилов лежит в основе ассоциации полиморфных вариантов AQP5 -1364 A/C и выживаемости при сепсисе. Действительно, активированные нейтрофилы, обладая повышенной способностью к адгезии к стенке сосудов, выделяют большое количество протеаз и активных форм кислорода, которые не только убивают бактерии, но и повреждают эндотелий [8, 26, 27]. Последнее приводит к нарушению перфузии тканей и органов кислородом с последующим развитием окислительного стресса в клетках и развитием органной недостаточности [28]. Поэтому при инфекции именно более активная миграция избыточного количества нейтрофилов в ткани у пациентов, гомозиготных по аллелю AA AQP5 -1364 A/C, предположительно приводила к нарастанию полиорганной недостаточности, и как следствие — к неблагоприятному исходу [7]. Однако, существуют другая трактовка и другая группа данных, которая не позволяет однозначно объяснить связь сниженной экспрессии AQP5, наличия минорного аллеля C AQP5 -1364 A/C и исход сепсиса. Так, уменьшение миграции нейтрофилов в инфицированные ткани при наличии минорного аллеля C AQP5 -1364 A/C может, наоборот, увеличить вероятность неблагоприятного исхода сепсиса вследствие неполного уничтожения бактерий. Более того, Zhang et al [17] обнаружили, что делеция AQP5 приводит к значительному снижению выработки муцина в легких. Отсутствие гена AQP5 приводило к снижению секреции слизи и жидкости из эпителия дыхательных путей, что может ухудшать антибактериальную защиту. Авторы показали, что делеция AQP5 приводила к значительному уменьшению активации сигнальных путей p38-MAPK/NF-κB до и после заражения *Pseudomonas aeruginosa*, что свидетельствует о том, что экспрессия AQP5 необходима для осуществления защитных эффектов системы врожденного иммунитета в дыхательных путях [17]. Поскольку AQP5 экспрессируется в альвеолярных клетках типа I и эпителиальных клетках дыхательных путей, а повреждение эпителия легких при воспалительных заболеваниях легких приводит к снижению его экс-

pression factor sites EHF, TBX4, TBX1, TBX15 with a relative score of 1, and sites with a relative score below 1 by 10% and less are located within 50 nucleotides from the mutation — MGA, TBX5, ETS1, SPI1, MEIS1, FLI1 (table 3).

Further studies, which transcription factors may change the nature of their binding to the promoter area depending on the presence of cytosine or adenosine in a nearby polymorphism site -1364 A/C AQP5, should be warranted to determine more accurately the mechanism of association of genetic variants -1364 A/C AQP5 with early mortality in patients with abdominal sepsis.

For the first time, the study argues that the combination of a genetic factor, minor allele C of a single-nucleotide polymorphism within the -1364 A/C site of the AQP5 gene, and an environment factor, a source of infection in the abdominal cavity, determine the best survival rate in sepsis (fig. 3, d, $P=0.002$, OR=5.714).

The AQP5 protein provides active inward and outward water transport in cells of immune system and vital organs such as brain, kidneys, lungs [6, 8, 23]. This mechanism is believed to involve AQP5 in control of cell proliferation, inflammatory reactions, formation and resolution of edema, migration of immunocompetent cells in the body [11, 24, 25]. The replacement of adenine by cytosine in -1364 AQP5 position was shown to be associated with reduced expression of AQP5 gene in immune cells during sepsis and decreased migration potential of neutrophils [15]. The reduced expression of AQP5 and subsequent decrease in neutrophil migration are supposed to be the basis for the association of polymorphic variants of AQP5 -1364 A/C and survival rate in sepsis. Indeed, activated neutrophils, possessing an increased ability to adhere to the vascular wall, produce a large number of proteases and active oxygen forms, which not only kill bacteria, but also damage endothelium [8, 26, 27]. The latter leads to impaired oxygen perfusion of tissues and organs followed by oxidative stress in cells and organ failure [28]. Therefore, in case of infection, the presumably more active migration of excess neutrophils into tissues of homozygous patients with AA AQP5 -1364 A/C genotype led to progressive multi-organ dysfunction and adverse outcome [7]. However, there are different interpretation and another data group which does not allow clear explanation of the relationship between reduced AQP5 expression, minor allele C of AQP5 -1364 A/C and the outcome of sepsis. Thus, reduced neutrophil migration to infected tissues in the presence of the minor allele C of AQP5 -1364 A/C may, on the contrary, increase the probability of an adverse sepsis outcome due to incomplete elimination of bacteria. Moreover, Zhang et al [17] found that AQP5 deletion leads to a significant reduction in the mucin production in the lungs. The absence of the AQP5 gene resulted in reduced mucus and fluid secretion by the respiratory epithe-

прессии [17], следует ожидать, скорее, худшего прогноза сепсиса у пациентов-носителей аллеля *C AQP5* -1364 A/C за счет потенциала развития легочных поражений. В нашем исследовании пациенты с наличием патологического процесса в легких составляли значительную часть группы пациентов с неабдоминальным сепсисом, однако связи между генотипом *AQP5* -1364 A/C (rs3759129) и исходом сепсиса в этой группе пациентов обнаружено не было (рис. 3, с). В недавней работе Rahmel et al. было продемонстрировано значимое преобладание поражения почек у пациентов с легочной патологией генотипа *AQP5* AA rs3759129 [29]. Однако, это не приводило к значимым различиям по уровню летальности в группах пациентов генотипа *AQP5* AA против *AQP5* AC+CC (rs3759129) [29]. Поэтому установление возможных причин связи летального исхода сепсиса с определенным генотипом *AQP5* rs3759129 и источником инфекции в брюшной полости представляет особый интерес.

Известно, что анатомический источник инфекции является существенным для прогноза исхода [30]. Именно пациенты с абдоминальным сепсисом (развивающимся как осложнение после лапаротомии, при перитоните, колите, ишемии кишечника, перфорации кишечника, наличии перитонеального катетера) характеризуются наихудшим прогнозом [31–33] — летальность может достигать 80% [34]. Развитие пост-хирургической абдоминальной инфекции чаще приводит к распространению инфекционного процесса (диссеминированная инфекция), вовлечению в воспаление других органов [35, 36], присоединению вторичных инфекций, еще больше ухудшающих прогноз [37, 38]. Очевидно, что процессы, которые будут способствовать развитию инфекции при источнике в брюшной полости, анатомически более приспособленном к ее распространению в организме, могут явиться факторами, способными существенно повлиять на исход.

Представляется, что к таким модулирующим факторам следует отнести уровень иммуносупрессии. Развитие супрессии иммунных реакций еще более ухудшает прогноз при сепсисе вследствие накопления нарушающих эндотелиальные клетки сосудов бактериальных токсинов (липополисахарид и др.), увеличения вероятности прогрессирования имеющейся инфекции и присоединения новых бактериальных инфекций, нередко — антибиотикорезистентных инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, с высокой вероятностью неблагоприятного исхода [39, 40]. В последнее время механизм быстро развивающейся при сепсисе иммуносупрессии связыва-

lium, which may compromise antibacterial protection. The authors had shown that *AQP5* deletion led to a significant reduction in the activation of the signaling pathways of p38-MAPK/NF- κ B before and after infection with *Pseudomonas aeruginosa* demonstrating the necessity of *AQP5* expression for the protective effects of the innate immune system in the airways [17]. Since *AQP5* is expressed in type I alveolar cells and airway epithelial cells, and damage to the lung epithelium in inflammatory lung diseases causes its reduced expression [16], patients carrying allele *C AQP5* -1364 A/C should rather be expected to have a worse sepsis prognosis due to the potential for lung injury. In our study, patients with lung pathology were a significant part of the group with non-abdominal sepsis, but no relationship was found between the genotype of *AQP5* -1364 A/C (rs3759129) and the outcome of sepsis in this group of patients (fig. 3, b). Recent study by Rahmel et al. has demonstrated a significant predominance of renal damage in patients with lung pathologies and *AQP5* AA rs3759129 genotype [29]. However, this was not associated with significant mortality differences in the groups of patients with *AQP5* AA genotype versus *AQP5* AC+CC (rs3759129) [29]. Therefore, revealing the possible causes of the association between sepsis mortality and specific genotype *AQP5* rs3759129 depending on the source of infection is particularly interesting.

The anatomical source of infection is well recognized to be essential in predicting the outcome [30]. The patients with abdominal sepsis (developing as a complication after laparotomy, with peritonitis, colitis, intestinal ischemia, intestinal perforation, indwelling peritoneal catheter) are characterized by the worst prognosis [31–33] with mortality reaching 80% [34]. The development of postoperative abdominal infection more often leads to dissemination, involvement of other organs into inflammation [35, 36], and development of secondary infections affecting prognosis [37, 38]. Obviously, the factors contributing to infection that originates from abdominal cavity and is most suitable for facilitated spreading of infection, may significantly affect the outcome.

The immune suppression appears to be one of these factors. The suppression of immune response can further worsen the prognosis in sepsis due to the accumulation of bacterial toxins (lipopolysaccharide, etc.) damaging vascular endothelial cells, an increase in the risk of infection progression and hospital bacterial infections commonly resistant to antibiotics [39, 40]. Recently, the mechanism of rapidly developing immunosuppression in sepsis has been associated with the generation of myeloid-derived suppressor cells (MDSC) [41–43]. These cells carrying CD33+, HLA-DR-, CD15+ (granulocytic MDSC) and CD33+, HLA-DR-, CD14+ (monocytic MDSC) appear as

ется с генерацией супрессорных клеток миелоидного происхождения (миелоидных супрессорных клеток, МИК) [41–43]. Эти клетки с фенотипами клеточной поверхности CD33+, HLA-DR-, CD15+ (гранулоцитарные МИК) и CD33+, HLA-DR-, CD14+ (моноцитарные МИК) появляются уже в первые дни развития сепсиса [44]. В экспериментальных моделях сепсиса МИК уже на 2–3 день накапливаются в костном мозгу [45, 46]. Показано, что при сепсисе МИК выходят в кровоток, циркулируя длительное время и способствуя развитию хронической иммуносупрессии [47]. Повышенное содержание МИК в крови характерно и для абдоминального сепсиса [48], хотя оно может быть достаточно вариабельным [42]. В наших недавних исследованиях одной из существенных причин такой вариабельности при абдоминальном сепсисе оказался генотип *AQP5* (rs3759129): увеличенное содержание моноцитарных МИК в крови в ранние сроки после обнаружения сепсиса наблюдали только у пациентов генотипа *AQP5* AA (rs3759129), но не у пациентов — носителей минорного аллеля C [49]. Можно полагать, что при сепсисе сниженная миграция клеток в кровоток у пациентов генотипов C+ *AQP5* (rs3759129) [7] определяет дефицит циркулирующих МИК, способствуя большей эффективности иммунных реакций в отсутствии их продуктов (иммуносупрессорные простагландины, ферменты, свободные радикалы кислорода, NO). Возможно, что эта же генетическая причина предрасполагает и к снижению миграции провоспалительных миелоидных клеток, препятствуя их избыточному накоплению у пациентов генотипов C+ *AQP5* (rs3759129) и вследствие этого — способствуя уменьшению повреждающего воздействия на эндотелий сосудов и органы и предотвращению фатального развития септического шока и мультиорганной недостаточности. Таким образом, наличие минорного аллеля C *AQP5* при сепсисе может обеспечивать преимущества для выживания как в результате снижения миграции МИК, подавляющих противобактериальные иммунные реакции, так и провоспалительных миелоидных клеток с высоким потенциалом повреждения клеток эндотелия. И наоборот, пациенты мажорного генотипа AA *AQP5* с увеличенным содержанием МИК [49] и провоспалительных нейтрофилов [7] будут предрасположены к неблагоприятному исходу сепсиса (рис. 3, *d*). Интересно, что в экспериментальной модели сепсиса было показано, что в ранние сроки его развития клетки с фенотипом, характерным для МИК, могут являться провоспалительными, ассоциирующимися с тяжелым течением сепсиса [45]. Обладают ли клетки с фенотипом моно-

early as in the first days of sepsis [44]. In the experimental models of sepsis, MIC accumulate in bone marrow on day 2–3 [45, 46]. In sepsis, MDSC have been shown to enter the bloodstream, circulating for a long time and contributing to chronic immunosuppression [47]. Increased MDSC count in the blood is also typical for abdominal sepsis [48], although it may be quite variable [42]. In our recent studies, one of the essential reasons for such variability in abdominal sepsis was the genotype *AQP5* (rs3759129): increased MDSC count in the blood in the early period after diagnosing sepsis was observed only in patients with *AQP5* AA genotype (rs3759129), but not in patients carrying the minor allele C [49]. We may assume that in sepsis the reduced migration of cells into the bloodstream in C+ *AQP5* genotypes patients (rs3759129) [7] results in a deficit of circulating MDSCs, contributing to greater efficiency of immune response in the absence of their products (immunosuppressor prostaglandins, enzymes, free oxygen radicals, NO). The same genetic cause may also predispose to reduced migration of proinflammatory myeloid cells, preventing their excessive accumulation in patients with C+ *AQP5* genotypes (rs3759129) and thereby reducing vascular endothelial damage and preventing septic shock and multi-organ failure. Thus, the presence of the minor allele C of *AQP5* in sepsis patients can provide advantages for survival in sepsis presumably due to reduced MDSC migration (results in less suppressed antibacterial immune response), and decreased activity of pro-inflammatory myeloid cells (results in less endothelial cell damage). Conversely, patients with major AA *AQP5* genotype associated with increased MDSC content [49] and pro-inflammatory neutrophils [7] will be predisposed indeed to adverse sepsis outcome (fig. 3, *d*). Interestingly, the experimental model of sepsis has shown that in the early period cells exhibiting MDSC phenotype may be pro-inflammatory and associate with a severe course of sepsis [45]. Whether the cell subset with the monocytic MDSC phenotype in patients with abdominal sepsis are capable of producing pro-inflammatory cytokines requires additional studies.

Clinical effect of the recessive allele C of *AQP5* restricted to patients with abdominal sepsis may presumably be due to the most significant activation of stress cell reactions triggering MDSCs in patients with complicated infection in abdominal cavity. The appropriateness of this hypothesis is confirmed by: (1) clinical evidence of highest mortality and frequency of septic shock in abdominal sepsis [46, 50, 51]; (2) major contribution of abdominal sepsis into development of disseminated infection [35, 36, 38]; (3) association of death of patients with septic shock with the highest accumulation of MDSC in circulation [46]. Moreover, animal experiments have shown that ischemia-reperfusion in mesenteric vessels,

цитарных МИК пациентов с абдоминальным сепсисом способностью к продукции провоспалительных цитокинов, требует отдельных исследований.

Ограничение клинического эффекта рецессивной аллели *C AQP5* наличием у пациентов абдоминального сепсиса, предположительно, может быть результатом наибольшей активации стрессовых клеточных реакций, активирующих клетки с фенотипом МИК у пациентов с осложненным течением инфекционного процесса в брюшной полости. Уместность этой гипотезы определяется: (1) клиническими данными о том, что именно для абдоминального сепсиса характерны наиболее высокие показатели и летальности, и частоты септического шока [46, 50, 51]; (2) тем, что именно абдоминальный сепсис способствует развитию диссеминированной инфекции [35, 36, 38]; (3) ассоциацией летального исхода пациентов после септического шока с наибольшим накоплением МИК в циркуляции [46]. Более того, экспериментальные исследования показали, что ишемия-реперфузия мезентериальных сосудов в брюшной полости экспериментальных животных, моделирующая нарушения, характерные для абдоминального сепсиса, индуцирует системную продукцию хемокинов, которые вовлекают нейтрофилы и моноциты в оказание повреждений других органов с последующим развитием полиорганной недостаточности [51]. Эти факты свидетельствуют в пользу того, что именно при клинически агрессивном абдоминальном сепсисе больше вероятности ранней генерации клеток с фенотипом МИК, способствующих системной иммуносупрессии (а возможно, и провоспалительным реакциям), генерализации инфекции, усугублению полиорганной недостаточности с неблагоприятным исходом.

Предполагаемая связь миграции ранних МИК и генотипа *AQP5* может быть связана с различной аффинностью транскрипционных факторов к участку промотора *AQP5*, в котором расположена замена А/С. Однако недавние исследования не выявили какой-либо разницы между фрагментами ДНК, содержащими *AQP5* А+ и С+ rs3759129, по способности связывать один из транскрипционных факторов с высокой аффинностью к промотору *AQP5* [52]. Проведенный в нашей работе биоинформатический анализ показал, что несмотря на то, что изучаемый полиморфизм не располагается непосредственно в зоне сайта связывания какого-либо транскрипционного фактора, замена А/С обладает потенциалом влияния на уровень экспрессии гена *AQP5*, поскольку вблизи области замены

simulating abnormalities typical for abdominal sepsis, induces systemic production of chemokines, which involves neutrophils and monocytes into damaging the other organs with subsequent development of multi-organ failure [51].

These facts confirm the likelihood of early generation of MDSCs promoting systemic immunosuppression (and possibly pro-inflammatory reactions), contributing to generalization of infection and worsening of multi-organ failure with adverse outcome in clinically aggressive abdominal sepsis.

The assumed relationship between the migration of early MDSCs and the *AQP5* genotype may be due to different affinity of transcription factors to the *AQP5* promoter site altered by А/С polymorphism. However, recent studies did not reveal any difference between DNA fragments containing *AQP5* А+ and С+ rs3759129 in their ability to bind one of the transcription factors with high affinity to the *AQP5* promoter [52]. Our bioinformatics analysis has shown that despite the fact that the studied polymorphism is not located directly in the binding site area of any transcription factor, substitution of А/С might potentially affect the level of expression of *AQP5* gene, because binding sites of transcription factors including the popular ETS, SPI1 factors are located very close to the replacement area (table 3). Two possible mechanisms can be assumed: (1) polymorphic variant C reduces the affinity of binding of a transcription factor with its specific site located near the mutation, which decreases the effect of transcription factor stimulating the transcription activity of *AQP5* gene; (2) minor mutation C increases the affinity of binding of transcription repressor *AQP5* to its site in the promoter region, which also leads to reduced transcription activity of the gene. The most probable candidate for a functionally significant binding, whose affinity may depend on the presence of А or С in the promoter site of *AQP5*, is the transcription factor ETS1, which is expressed in MDSC [53, 54].

The drawbacks of this study include an insufficient sample size, which makes it difficult to stratify patients more thoroughly into groups based on comorbidity, severity of organ disorders, etc. Two groups of patients with abdominal sepsis did not differ in SOFA and APACHE II scores on admission, but differed in a minor mutation, single replacement of А nucleotide with С in the *AQP5* gene. We found significant quantitative differences in 30-day survival between these groups, which suggests that the use of rs3759129 *AQP5* as a candidate genetic marker for stratification of patients with abdominal sepsis into risk groups of adverse outcome can be promising. Taking into account the challenge of finding more reliable markers for prognosis of abdominal sepsis than the existing criteria SOFA, APACHE II, SAPS, PIRO, WSES, MODS and other

обнаруживаются участки связывания некоторых транскрипционных факторов — ETS, SPI1 (см. табл. 3). Можно предположить два возможных механизма:

(1) полиморфный вариант С снижает аффинность связывания того или иного транскрипционного фактора со своим специфическим сайтом, локализованным вблизи мутации, благодаря чему уменьшается эффект транскрипционного фактора, стимулирующего транскрипционную активность гена *AQP5*;

(2) минорная мутация С увеличивает аффинность связывания репрессора транскрипции *AQP5* со своим сайтом в промоторной области, что также приводит к снижению транскрипционной активности гена. Наиболее вероятным кандидатом для функционально значимого связывания, аффинность которого может зависеть от наличия А или С в сайте промоторной зоны *AQP5*, является транскрипционный фактор ETS1, который экспрессирован в МИК [53, 54].

К недостаткам данного исследования следует отнести недостаточно значительный объем выборки, затрудняющий более тщательную стратификацию пациентов по группам с учетом клинической гетерогенности выборки по коморбидности, тяжести органических нарушений и т. д. Вместе с тем, количественно выраженные и значимые различия по 30-дневной выживаемости между двумя группами пациентов с абдоминальным сепсисом, не отличающихся при госпитализации по значениям SOFA и APACHE II, но различных по наличию или отсутствию минорной мутации — единственной замены нуклеотида А на нуклеотид С в гене *AQP5*, позволяют считать перспективным использование rs3759129 *AQP5* в качестве кандидатного генетического маркера для стратификации пациентов именно с абдоминальным сепсисом по группам риска неблагоприятного исхода. Учитывая существующие проблемы поиска более надежных маркеров прогноза абдоминального сепсиса, чем существующие критерии SOFA, APACHE II, SAPS, PIRO, WSES, MODS и другие показатели [50, 55–57], генетические маркеры могут оказаться востребованными для использования в комбинации с другими имеющимися маркерами с целью повышения точности персонализированных подходов к лечению пациентов с угрожающим жизни абдоминальным сепсисом.

scores [50, 55–57], the use of the genetic markers in combination with other parameters to enhance the accuracy of personalized treatment strategies for patients with life-threatening abdominal sepsis might be warranted.

Conclusion

The presence of allele C (genotypes AC and CC) of a single-nucleotide polymorphism -1364 A/C of gene *AQP5* in the studied group of patients with abdominal sepsis is associated with a favorable outcome. The protective effect of allele C begins to appear in the group of patients with abdominal sepsis as early as the first 10 days of hospitalization.

Acknowledgements. The work was carried out as a part of the state assignment No. 0563-2019-0018 from the Ministry of Science and High Education of Russian Federation (to VMP). The authors would like to express their gratitude to professor Marina V. Petrova (Federal Research and Clinical Center of Intensive Care Medicine and Rehabilitation) for organizing the collection of biomaterials and clinical analysis of patients data. Partly, the results were reported at the 39th International Symposium on Intensive and Emergency Medicine (ISICEM) in 2019 [58].

Conflict of interests. The authors of the paper declare no conflict of interest.

Закключение

Наличие аллели С (генотипы АС и СС) однонуклеотидной замены -1364 А/С гена *AQP5* в исследованной группе пациентов с абдоминальным сепсисом ассоциируется с благоприятным исходом. Протективный эффект аллели С начинает проявляться в группе пациентов с абдоминальным сепсисом достаточно рано — в первые 10 дней госпитализации.

Благодарность. Работа выполнена в рамках темы госзадания № 0563-2019-0018 (рук. темы ВМП). Авторы выражают признательность д. м. н., проф. М. В. Петровой (ФНКЦ РР) за организацию сбора биоматериалов и клинического анализа данных пациентов. Частично результаты работы доложены на 39-м Международного симпозиума по интенсивной медицине и медицине скорой помощи (ISICEM) в 2019 г. [58].

Конфликт интересов. Авторы статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

Литература

1. Angus D.C., van der Poll T. Severe sepsis and septic shock. *N Engl J Med.* 2013; 369 (9): 840–851. DOI: 10.1056/NEJMra1208623
2. Machado ER., Nsutebu E., AbDulaziz S. et al. Sepsis 3 from the perspective of clinicians and quality improvement initiatives. *J. Crit Care.* 2017; 40: 315–317. Epub 2017 Apr 26, DOI: 10.1016/j.jcrc.2017.04.037

References

1. Angus D.C., van der Poll T. Severe sepsis and septic shock. *N Engl J Med.* 2013; 369 (9): 840–851. DOI: 10.1056/NEJMra1208623
2. Machado ER., Nsutebu E., AbDulaziz S. Sepsis 3 from the perspective of clinicians and quality improvement initiatives. *J. Crit Care.* 2017; 40: 315–317. Epub 2017 Apr 26, DOI: 10.1016/j.jcrc.2017.04.037

3. Белобородова Н.В., Острова И.В. Сепсис-ассоциированная энцефалопатия (обзор). *Общая реаниматология*. 2017; 13 (5): 121–139. DOI: 10.15360/1813-9779-2017-5-121-139.
4. Кавайон Ж. Новые методы лечения при сепсисе: модели на животных «не работают» (обзор). *Общая реаниматология*. 2018; 14 (3): 46–53. DOI: 10.15360/1813-9779-2018-3-46-53.
5. Ушакова Н.Д., Кит О.И., Маслов А.А., Меньшенина А.П. Экстракорпоральная детоксикация при абдоминальном сепсисе у онкологических больных *Общая реаниматология*. 2018; 14 (2): 25–34. DOI: 10.15360/1813-9779-2018-2-25-34
6. Verkman A.S. Aquaporins in clinical medicine. *Annu Rev Med*. 2012; 63: 303–316. DOI: 10.1146/annurev-med-043010-193843
7. Rump K., Unterberg M., Bergmann L., Bankfalvi A., Menon A., Schäfer S., Scherag A., Bazzi Z., Siffert W., Peters J., Adamzik M. AQP5-1364A/C polymorphism and the AQP5 expression influence sepsis survival and immune cell migration: a prospective laboratory and patient study. *J Transl Med*. 2016 Nov 21; 14 (1): 321. PMID: 27871297 DOI: 10.1186/s12967-016-1079-2
8. Rump K., Adamzik M. Function of aquaporins in sepsis: a systematic review. *Cell Biosci*. 2018; 8: 10. DOI: 10.1186/s13578-018-0211-9
9. Тюрин И.Н., Раутбарт С.А., Козлов И.А. Ранние особенности кровообращения у больных с неблагоприятным исходом абдоминального сепсиса (предварительное сообщение). *Общая реаниматология*. 2017; 13 (3): 13–24. DOI: 10.15360/1813-9779-2017-3-13-24
10. Russell J.A. Genomics and pharmacogenomics of sepsis: so close and yet so far. *Crit Care*. 2016; 20 (1): 185. DOI: 10.1186/s13054-016-1374-6
11. Смелая Т.В., Кузовлев А.Н., Мороз В.В., Голубев А.М., Белопольская О.Б., Сальникова Л.Е. Молекулярно-генетические маркеры нозокомиальной пневмонии острого респираторного дистресс-синдрома. *Общая реаниматология*. 2015; 11 (3): 24–38. DOI: 10.15360/1813-9779-2015-3-24-38
12. Мязин А.Е., Чумаченко А.Г., Кузовлев А.Н., Голубев А.М., Мороз В.В., Гапонов А.М., Тутельян А.В., Голубев М.А., Писарев В.М. Генетические варианты интронной области гена аквапорина aqp5 и развитие отека легких при легочной инфекции, осложненной септическим шоком. *Общая реаниматология*. 2016; 12 (3): 8–23. DOI: 10.15360/1813-9779-2016-3-8-23
13. Adamzik M., Frey U.H., Möhlenkamp S., Scherag A., Waydhas C., Marggraf G., Dammann M., Steinmann J., Siffert W., Peters J. Aquaporin 5 gene promoter—1364A/C polymorphism associated with 30-day survival in severe sepsis. *Anesthesiology*. 2011; 114 (4): 912–917. DOI: 10.1097/ALN.0b013e31820ca911. PMID: 21427539
14. Rahmel T., Rump K., Peters J., Adamzik M. Aquaporin 5 -1364A/C Promoter Polymorphism Is Associated with Pulmonary Inflammation and Survival in Acute Respiratory Distress Syndrome. *Anesthesiology*. 2019; 130 (3): 404–413. DOI: 10.1097/ALN.0000000000002560
15. Lambert N., Hindy N.E., Adler C., Adamzik M., Keyvani K., Bankfalvi A., Siffert I W., Sandalcioğlu E., Bachmann S.H. Expression of aquaporin 5 and the AQP5 polymorphism A (-1364)C in association with peritumoral brain edema in meningioma patients. *J Neurooncol*. 2013; 112 (2): 297–305. DOI: 10.1007/s11060-013-1064-z. Epub 2013 Feb 8. PMID: 23392848
16. Adamzik M., Frey U.H., Bitzer K., Jakob H., Baba H.A., Schmieder R.E., Schneider M.P., Heusch G., Peters J., Siffert W. A novel-1364A/C aquaporin 5 gene promoter polymorphism influences the responses to salt loading of the renin-angiotensin-aldosterone system and of blood pressure in young healthy men. *Basic Res Cardiol*. 2008; 103: 598–610. DOI: 10.1007/s00395-008-0750-z PMID: 18846354
17. Zhang Z.Q., Song Y.L., Chen Z.H., Shen Y., Bai C-X. Deletion of aquaporin 5 aggravates acute lung injury induced by *Pseudomonas aeruginosa*. *J Trauma* 2011; 71: 1305–1311 DOI: 10.1097/TA.0b013e3182128528,
18. Singer M., Deutschman C.S., Seymour C.W., Manu Shankar-Hari M., Annane D., Bauer M., Bellomo R., Bernard G. R., Chiche J-L., 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., Angus D.C. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA*. 2016; 315 (8): 801–810. DOI: 10.1001/jama.2016.0287
19. Сальникова Л.Е., Чумаченко А.Г., Веснина И.Н., Лаптева Н.Ш., Кузнецова Г.И., Абилов С.К., Рубанович А.В. Полиморфизм генов репарации и цитогенетические эффекты облучения. *Радиационная биология. Радиоэкология*. 2010. Т. 50. № 6. С. 656–662. ISSN: 0869-8031, УДК [57+61]: 539.1.047: 575.224: 23
20. Khan A., Fornes O., Stigliani A., Gheorghe M., Castro-Mondragon J.A., van der Lee R., Bessy A., Chèneby J., Kulkarni S., Tan G., Baranašić D., Arenillas D., Sandelin A., Vandepoele K., Lenhard B., Ballester B., Wasserman W.W., Parcy F., Mathelier A. JASPAR 2018: update of the open-access database of transcription factor binding profiles and its web framework. *Nucleic Acids Res*. 2018; 46: D260–D266, DOI: 10.1093/nar/gkx1126
3. Beloborodova N.B., Ostrova I.V. Sepsis-Associated Encephalopathy (Review). *General Reanimatology=Obshchaya Reanimatologiya*. 2017; 13 (5): 121–139. [In Russ.]. DOI: 10.15360/1813-9779-2017-5-121-139
4. Cavaillon J. New Approaches to Treat Sepsis: Animal Models «Do Not Work» (Review). *General Reanimatology=Obshchaya Reanimatologiya*. 2018; 14 (3): 46–53 [In Russ.]. DOI: 10.15360/1813-9779-2018-3-46-53.
5. Ushakova N.D., Kit O.I., Maslov A.A., Men'shenina A.P. Extracorporeal Detoxification in Abdominal Sepsis in Cancer Patients. *General Reanimatology=Obshchaya Reanimatologiya*. 2018; 14 (2): 25–34 [In Russ.]. DOI: 10.15360/1813-9779-2018-2-25-34
6. Verkman A.S. Aquaporins in clinical medicine. *Annu Rev Med*. 2012; 63: 303–316. DOI: 10.1146/annurev-med-043010-193843
7. Rump K., Unterberg M., Bergmann L., Bankfalvi A., Menon A., Schäfer S., Scherag A., Bazzi Z., Siffert W., Peters J., Adamzik M. AQP5-1364A/C polymorphism and the AQP5 expression influence sepsis survival and immune cell migration: a prospective laboratory and patient study. *J Transl Med*. 2016 Nov 21; 14 (1): 321. PMID: 27871297 DOI: 10.1186/s12967-016-1079-2
8. Rump K., Adamzik M. Function of aquaporins in sepsis: a systematic review. *Cell Biosci*. 2018; 8: 10. DOI: 10.1186/s13578-018-0211-9
9. Tyurin I.N., Rautbart S.A., Kozlov I.A. Early Characteristics of Circulation in Patients with Poor Outcome of Abdominal Sepsis (Preliminary Report). *General Reanimatology=Obshchaya Reanimatologiya*. 2017; 13 (3): 13–24 [In Russ.]. DOI: 10.15360/1813-9779-2017-3-13-24
10. Russell J.A. Genomics and pharmacogenomics of sepsis: so close and yet so far. *Crit Care*. 2016; 20 (1): 185. DOI: 10.1186/s13054-016-1374-6
11. Smelaya T.V., Kuzovlev A.N., Moroz V.V., Golubev A.M., Belopolskaya O.B., Salnikova L.E. Search for Common Molecular Genetic Markers of Nosocomial Pneumonia and Acute Respiratory Distress Syndrome. *General Reanimatology=Obshchaya Reanimatologiya*. [In Russ.]. DOI: 10.15360/1813-9779-2015-3-24-38
12. Myazin A.E., Chumachenko A.G., Kuzovlev A.N., Golubev A.M., Moroz V.V., Gaponov A.M., Tutelian A.V., Golubev M.A., Pisarev V.M. Genetic Variants of Intron Region of Aquaporin AQP5 Gene and Development of Pulmonary Edema in Lung Infection Complicated by Septic Shock. *General Reanimatology=Obshchaya Reanimatologiya*. 2016; 12 (3): 8–23 [In Russ.]. DOI: 10.15360/1813-9779-2016-3-8-23
13. Adamzik M., Frey U.H., Möhlenkamp S., Scherag A., Waydhas C., Marggraf G., Dammann M., Steinmann J., Siffert W., Peters J. Aquaporin 5 gene promoter—1364A/C polymorphism associated with 30-day survival in severe sepsis. *Anesthesiology*. 2011; 114 (4): 912–917. DOI: 10.1097/ALN.0b013e31820ca911. PMID: 21427539
14. Rahmel T., Rump K., Peters J., Adamzik M. Aquaporin 5 -1364A/C Promoter Polymorphism Is Associated with Pulmonary Inflammation and Survival in Acute Respiratory Distress Syndrome. *Anesthesiology*. 2019; 130 (3): 404–413. DOI: 10.1097/ALN.0000000000002560,
15. Lambert N., Hindy N.E., Adler C., Adamzik M., Keyvani K., Bankfalvi A., Siffert I W., Sandalcioğlu E., Bachmann S.H. Expression of aquaporin 5 and the AQP5 polymorphism A (-1364)C in association with peritumoral brain edema in meningioma patients. *J Neurooncol*. 2013; 112 (2): 297–305. DOI: 10.1007/s11060-013-1064-z. Epub 2013 Feb 8. PMID: 23392848
16. Adamzik M., Frey U.H., Bitzer K., Jakob H., Baba H.A., Schmieder R.E., Schneider M.P., Heusch G., Peters J., Siffert W. A novel-1364A/C aquaporin 5 gene promoter polymorphism influences the responses to salt loading of the renin-angiotensin-aldosterone system and of blood pressure in young healthy men. *Basic Res Cardiol*. 2008; 103: 598–610. DOI: 10.1007/s00395-008-0750-z PMID: 18846354
17. Zhang Z.Q., Song Y.L., Chen Z.H., Shen Y., Bai C-X. Deletion of aquaporin 5 aggravates acute lung injury induced by *Pseudomonas aeruginosa*. *J Trauma* 2011; 71: 1305–1311 DOI: 10.1097/TA.0b013e3182128528
18. Singer M., Deutschman C.S., Seymour C.W., Manu Shankar-Hari M., Annane D., Bauer M., Bellomo R., Bernard G. R., Chiche J-L., 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., Angus D.C. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA*. 2016; 315 (8): 801–810. DOI: 10.1001/jama.2016.0287
19. Salnikova L.E., Chumachenko A.G., Vesnina I.N., Lapteva N.Sh., Kuznetsova G.I., Abilev S.K., Rubanovich A.V. Polymorphism of repair genes and cytogenetic effects of radiation. *Radiacionnaya biologiya. Radioekologiya*. 2010; 50 (6): 656–662 [In Russ.]. ISSN: 0869-8031, УДК [57+61]: 539.1.047: 575.224: 23
20. Khan A., Fornes O., Stigliani A., Gheorghe M., Castro-Mondragon J.A., van der Lee R., Bessy A., Chèneby J., Kulkarni S., Tan G., Baranašić D., Arenillas D., Sandelin A., Vandepoele K., Lenhard B., Ballester B., Wasserman W.W., Parcy F., Mathelier A. JASPAR 2018: update of the open-access database of transcription factor binding profiles and its web framework. *Nucleic Acids Res*. 2018; 46: D260–D266, DOI: 10.1093/nar/gkx1126

21. Kumar S., Ambrosini G., Bucher P. SNP2TFBS - a database of regulatory SNPs affecting predicted transcription factor binding site affinity, *Nucleic Acids Res.* 2017 Jan4. PMC5210548, DOI: 10.1093/nar/gkw1064,
22. Li S.-L., Schlegel W., Valente A.J., Clark R.A. Critical flanking sequences of PU.1 binding sites in myeloid-specific promoters. *The Journal of Biological Chemistry*, Nov.5, 1999; DOI: 10.1074/jbc274.45.32453
23. Song Y., Fukuda N., Bai C., Ma T., Matthay M.A., Verkman A.S. Role of aquaporins in alveolar fluid clearance in neonatal and adult lung, and in oedema formation following acute lung injury: studies in transgenic aquaporin null mice. *J Physiol.* 2000; 525 Pt 3: 771–779. PMID: 10856128
24. Zhang Z., Chen Z., Song Y., Zhang P., Hu J., Bai C. Expression of aquaporin 5 increases proliferation and metastasis potential of lung cancer. *J Pathol.* 2010; 221: 210–220. DOI: 10.1002/path.2702 PMID: 20455256
25. Papadopoulos M.C., Saadoun S., Verkman A.S. Aquaporins and cell migration. *Pflugers Arch.* 2008; 456: 693–700. DOI: 10.1007/s00424-007-0357-5 PMID: 17968585,
26. Lerman Y.V., Kim M. Neutrophil migration under normal and sepsis conditions. *Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets.* 2015; 15: 19–28. DOI: 10.2174/1871529X15666150108113236. PMID: 25567338,
27. Castanheira S.E., Silva F.V.E., Ferreira R.G., Kanashiro A., Gonçalves Leite C.A.V., Nascimento D.C., Colón D.F., Borges V., Alves-Filho J.-C., Queiróz Cunha F. Paradoxical roles of the neutrophil in sepsis: protective and deleterious. *Front Immunol.* 2016; 7: 155. PMID: 27199981, DOI: 10.3389/fimmu.2016.00155,
28. Craciun F.L., Schuller E.R., Remick D.G. Early enhanced local neutrophil recruitment in peritonitis-induced sepsis improves bacterial clearance and survival. *J Immunol.* 2010; 185: 6930–6938. DOI: 10.4049/jimmunol.1002300. PMID: 21041722,
29. Rahmel T., Nowak H., Rump K., Siffert W., Peters J., Adamzik M. The aquaporin 5 -1364A/C promoter polymorphism impacts on resolution of acute kidney injury in pneumonia evoked ARDS. *PLoS One.* 2018 Dec 5; 13 (12): e0208582. DOI: 10.1371/journal.pone.0208582,
30. Leligdowicz A., Dodek P.M., Norena M., Wong H., Kumar A., Kumar A., Co-operative Antimicrobial Therapy of Septic Shock Database Research Group. Association between source of infection and hospital mortality in patients who have septic shock. *Am J Respir Crit Care Med.* 2014; 189 (10): 1204–1213 PMID: 24635548 DOI: 10.1164/rccm.201310-1875OC
31. Cahill R.A., Wang J.H., Redmond H.P. Enteric bacteria and their antigens may stimulate postoperative peritoneal adhesion formation. *Surgery.* 2007; 141: 403–410. DOI: 10.1016/j.surg.2006.09.010
32. Karantonis F.F., Nikiteas N., Perrea D., Vlachou A., Giamarellos-Boriboulis E.J., Tsigris C., Kostakis A. Evaluation of the effects of laparotomy and laparoscopy on the immune system in intra-abdominal sepsis — a review. *J Invest Surg.* 2008; 21: 330–339. DOI: 10.1080/08941930802438914
33. Dupont H., Paugam-Burtz C., Muller-Serieys C., Fierobe L., Chosidow D., Marmuse J.P., Mantz J., Desmonts J.M. Predictive factors of mortality due to polymicrobial peritonitis with Candida isolation in peritoneal fluid in critically ill patients. *Arch Surg.* 2002; 137: 1341–1346. DOI: 10.1001/archsurg.137.12.1341
34. Jawad I., Luksic I., Rafnsson S.B. Assessing available information on the burden of sepsis: global estimates of incidence, prevalence and mortality. *J Glob Health.* 2012; 2 (1): 010404 PMID: 23198133 PMCID: PMC3484761 DOI: 10.7189/jogh.02.010404
35. Sartelli M., Abu-Zidan F.M., Ansaloni L., Bala M., Beltran M.A., Biffl W.L., Catena F., Chiara O., Coccolini F., Coimbra R., Demetrashevili Z., Demetriades D., Diaz J.J., Di Saverio S., Fraga G.P., Ghnnam W., Griffiths E.A., Gupta S., Hecker A., Karamarkovic A., Kong V.Y., Kafka-Ritsch R., Kluger Y., Latifi R., Leppaniemi A., Lee J.G., McFarlane M., Marwah S., Moore F.A., Ordonez C.A., Pereira G.A., Plaudis H., Shelat V.G., Ulrych J., Zachariah S.K., Zielinski M.D., Garcia M.P., Moore E.E. The role of the open abdomen procedure in managing severe abdominal sepsis: WSES position paper. *World J Emerg Surg.* 2015; 10: 35. PMID: 26269709 PMCID: PMC4534034 DOI: 10.1186/s13017-015-0032-7
36. Sartelli M., Viale P., Catena F., Ansaloni L., Moore E., Malangoni M., Moore F.A., Velmahos G., Coimbra R., Ivatury R., Peitzman A., Koike K., Leppaniemi A., Biffl W., Burlew C.C., Balogh Z.J., Boffard K., Bendinelli C., Gupta S., Kluger Y., Agresta F., Di Saverio S., Wani I., Escalona A., Ordonez C., Fraga G.P., Alves Pereira Jr. G., Bala M., Cui Y., Marwah S., Sakakushev B., Kong V., Naidoo N., Ahmed A., Abbas A., Guercioni G., Vettoretto N., Diaz-Nieto R., Gerych I., Tranà C., Faro M.P., Yuan K.-Ch., K. Yuh Yen Kok, Chichom Mefire A., Lee J.G., Hong S.-K., Ghnnam W., Siribumrungwong B., Sato N., Murata K., Irahara T., Coccolini F., Segovia Lohse H.A., Verni A., Shoko T. 2013 WSES guidelines for management of intra-abdominal infections. *World J Emerg Surg.* 2013; 8 (1): 3 DOI: 10.1186/1749-7922-8-3
37. Montravers P., Gauzit R., Muller C., Marmuse J.P., Fichelle A., Desmonts J.M. Emergence of antibiotic-resistant bacteria in cases of peritonitis after intraabdominal surgery affects the efficacy of empirical anti-
21. Kumar S., Ambrosini G., Bucher P. SNP2TFBS - a database of regulatory SNPs affecting predicted transcription factor binding site affinity, *Nucleic Acids Res.* 2017 Jan4. PMC5210548, DOI: 10.1093/nar/gkw1064,
22. Li S.-L., Schlegel W., Valente A.J., Clark R.A. Critical flanking sequences of PU.1 binding sites in myeloid-specific promoters. *The Journal of Biological Chemistry*, Nov.5, 1999; DOI: 10.1074/jbc274.45.32453
23. Song Y., Fukuda N., Bai C., Ma T., Matthay M.A., Verkman A.S. Role of aquaporins in alveolar fluid clearance in neonatal and adult lung, and in oedema formation following acute lung injury: studies in transgenic aquaporin null mice. *J Physiol.* 2000; 525 Pt 3: 771–779. PMID: 10856128
24. Zhang Z., Chen Z., Song Y., Zhang P., Hu J., Bai C. Expression of aquaporin 5 increases proliferation and metastasis potential of lung cancer. *J Pathol.* 2010; 221: 210–220. DOI: 10.1002/path.2702 PMID: 20455256
25. Papadopoulos M.C., Saadoun S., Verkman A.S. Aquaporins and cell migration. *Pflugers Arch.* 2008; 456: 693–700. DOI: 10.1007/s00424-007-0357-5 PMID: 17968585,
26. Lerman Y.V., Kim M. Neutrophil migration under normal and sepsis conditions. *Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets.* 2015; 15: 19–28. DOI: 10.2174/1871529X15666150108113236. PMID: 25567338,
27. Castanheira S.E., Silva F.V.E., Ferreira R.G., Kanashiro A., Gonçalves Leite C.A.V., Nascimento D.C., Colón D.F., Borges V., Alves-Filho J.-C., Queiróz Cunha F. Paradoxical roles of the neutrophil in sepsis: protective and deleterious. *Front Immunol.* 2016; 7: 155. PMID: 27199981, DOI: 10.3389/fimmu.2016.00155,
28. Craciun F.L., Schuller E.R., Remick D.G. Early enhanced local neutrophil recruitment in peritonitis-induced sepsis improves bacterial clearance and survival. *J Immunol.* 2010; 185: 6930–6938. DOI: 10.4049/jimmunol.1002300. PMID: 21041722
29. Rahmel T., Nowak H., Rump K., Siffert W., Peters J., Adamzik M. The aquaporin 5 -1364A/C promoter polymorphism impacts on resolution of acute kidney injury in pneumonia evoked ARDS. *PLoS One.* 2018 Dec 5; 13 (12): e0208582. DOI: 10.1371/journal.pone.0208582
30. Leligdowicz A., Dodek P.M., Norena M., Wong H., Kumar A., Kumar A., Co-operative Antimicrobial Therapy of Septic Shock Database Research Group. Association between source of infection and hospital mortality in patients who have septic shock. *Am J Respir Crit Care Med.* 2014; 189 (10): 1204–1213 PMID: 24635548 DOI: 10.1164/rccm.201310-1875OC
31. Cahill R.A., Wang J.H., Redmond H.P. Enteric bacteria and their antigens may stimulate postoperative peritoneal adhesion formation. *Surgery.* 2007; 141: 403–410. DOI: 10.1016/j.surg.2006.09.010
32. Karantonis F.F., Nikiteas N., Perrea D., Vlachou A., Giamarellos-Boriboulis E.J., Tsigris C., Kostakis A. Evaluation of the effects of laparotomy and laparoscopy on the immune system in intra-abdominal sepsis — a review. *J Invest Surg.* 2008; 21: 330–339. DOI: 10.1080/08941930802438914
33. Dupont H., Paugam-Burtz C., Muller-Serieys C., Fierobe L., Chosidow D., Marmuse J.P., Mantz J., Desmonts J.M. Predictive factors of mortality due to polymicrobial peritonitis with Candida isolation in peritoneal fluid in critically ill patients. *Arch Surg.* 2002; 137: 1341–1346. DOI: 10.1001/archsurg.137.12.1341
34. Jawad I., Luksic I., Rafnsson S.B. Assessing available information on the burden of sepsis: global estimates of incidence, prevalence and mortality. *J Glob Health.* 2012; 2 (1): 010404 PMID: 23198133 PMCID: PMC3484761 DOI: 10.7189/jogh.02.010404
35. Sartelli M., Abu-Zidan F.M., Ansaloni L., Bala M., Beltran M.A., Biffl W.L., Catena F., Chiara O., Coccolini F., Coimbra R., Demetrashevili Z., Demetriades D., Diaz J.J., Di Saverio S., Fraga G.P., Ghnnam W., Griffiths E.A., Gupta S., Hecker A., Karamarkovic A., Kong V.Y., Kafka-Ritsch R., Kluger Y., Latifi R., Leppaniemi A., Lee J.G., McFarlane M., Marwah S., Moore F.A., Ordonez C.A., Pereira G.A., Plaudis H., Shelat V.G., Ulrych J., Zachariah S.K., Zielinski M.D., Garcia M.P., Moore E.E. The role of the open abdomen procedure in managing severe abdominal sepsis: WSES position paper. *World J Emerg Surg.* 2015; 10: 35. PMID: 26269709 PMCID: PMC4534034 DOI: 10.1186/s13017-015-0032-7
36. Sartelli M., Viale P., Catena F., Ansaloni L., Moore E., Malangoni M., Moore F.A., Velmahos G., Coimbra R., Ivatury R., Peitzman A., Koike K., Leppaniemi A., Biffl W., Burlew C.C., Balogh Z.J., Boffard K., Bendinelli C., Gupta S., Kluger Y., Agresta F., Di Saverio S., Wani I., Escalona A., Ordonez C., Fraga G.P., Alves Pereira Jr. G., Bala M., Cui Y., Marwah S., Sakakushev B., Kong V., Naidoo N., Ahmed A., Abbas A., Guercioni G., Vettoretto N., Diaz-Nieto R., Gerych I., Tranà C., Faro M.P., Yuan K.-Ch., K. Yuh Yen Kok, Chichom Mefire A., Lee J.G., Hong S.-K., Ghnnam W., Siribumrungwong B., Sato N., Murata K., Irahara T., Coccolini F., Segovia Lohse H.A., Verni A., Shoko T. 2013 WSES guidelines for management of intra-abdominal infections. *World J Emerg Surg.* 2013; 8 (1): 3 DOI: 10.1186/1749-7922-8-3
37. Montravers P., Gauzit R., Muller C., Marmuse J.P., Fichelle A., Desmonts J.M. Emergence of antibiotic-resistant bacteria in cases of peritonitis after intraabdominal surgery affects the efficacy of empirical anti-

- after intraabdominal surgery affects the efficacy of empirical antimicrobial therapy. *Clin Infect Dis*. 1996; 23: 486–494. DOI: 10.1093/clinids/ 23.3.486
38. Calandra T, Bille J, Schneider R, Mosimann F, Francioli P. Clinical significance of Candida isolated from peritoneum in surgical patients. *Lancet*. 1989; 2: 1437–1440 DOI: 10.1016/S0140-6736 (89)92043-6
 39. Hensler T, Hecker H, Heeg K, Heidecke C.D., Bartels H., Barthlen W, Wagner H., Siewert J.R., Holzmann B. Distinct mechanisms of immunosuppression as a consequence of major surgery. *Infect Immun*. 1997; 65 (6): 2283–2291 PMID: 9169765 PMCID: PMC175317
 40. Kimura E, Shimizu H, Yoshidome H., Ohtsuka M., Miyazaki M. Immunosuppression following surgical and traumatic injury. *Surg Today*. 2010; 40 (9): 793–808. DOI: 10.1007/s00595-010-4323-z
 41. Schrijver I.T., Théroude C., Roger T. Myeloid-Derived Suppressor Cells in Sepsis. *Front. Immunol*. 2019; 10: 327 PMID: 30873175 PMCID: PMC6400980 DOI: 10.3389/fimmu.2019.00327
 42. Гапонов М.А., Писарев В.М., Тутельян А.В., Лихванцев В.В., Гребенчиков О.А. Прогностическое значение содержания моноцитарных миелоидных иммуносупрессорных клеток при сепсисе. *Инфекционные болезни*. 2015; 13 (4): 72–74
 43. Гапонов М.А., Хайдуков С.В., Писарев В.М., Гребенчиков О.А., Гапонов А.М., Тутельян А.В. Субпопуляционная гетерогенность миелоидных иммуносупрессорных клеток у пациентов с септическими состояниями. *Российский иммунологический журнал*, 2015; 9 (18): 11–14
 44. Patel J.J., Rosenthal M.D., McClave S.A., Martindale R.G. (). Tempering the Clinical Effects of Early Myeloid-derived Suppressor Cell Expansion in Severe Sepsis and Septic Shock. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 2018; 197 (5): 677–678. DOI: 10.1164/rccm.201708-1701le
 45. Brudecki L., Ferguson D.A., McCall C.E., El Gazzar, M. Myeloid-derived suppressor cells evolve during sepsis and can enhance or attenuate the systemic inflammatory response. *Infect. Immun*. 2012, 80, 2026–2034 PMID: 22451518 PMCID: PMC3370575 DOI: 10.1128/IAI.00239-12
 46. Waeckel L., Venet E, Gossez M., Monard C., Rimmelé T., Monneret G. Delayed persistence of elevated monocytic MDSC associates with deleterious outcomes in septic shock: a retrospective cohort study. *Crit Care*. 2020; 24 (1): 132. DOI: 10.1186/s13054-020-02857-y
 47. Mathias B., Delmas A.L., Ozrazgat-Baslanti T., Vanzan, E.L., Szpila B.E., Mohr A.M., Moore E.A., Brakenridge S.C., Brumback B.A., Moldawer L.L., Efron P.A., the Sepsis, Critical Illness Research Center Investigators. Human Myeloid-derived Suppressor Cells are Associated With Chronic Immune Suppression After Severe Sepsis/Septic Shock. *Ann. Surg*. 2017; 265: 827–834 PMID: 27163951 PMCID: PMC5102824 DOI: 10.1097/SLA.0000000000001783
 48. Albertsmeier M., Prix N.J., Winter H., Bazhin A., Werner J., Angele M.K. Monocyte-Dependent Suppression of T-Cell Function in Postoperative Patients and Abdominal Sepsis. *Shock*. 2017; 48 (6): 651–656. DOI: 10.1097/SHK.0000000000000924
 49. Pisarev V.M., Chumachenko A.G., Gaponov A.M., Tyurin I.N., Cherpakov R., Tutelyan A.V. Promoter polymorphism in AQP5 gene associates with increased survival and decreased numbers of monocytic MDSC in abdominal sepsis (by SEPSIS-3). *Shock*, 2018. 49: S.1. p.27. <https://journals.lww.com/shockjournal/pages/default.aspx>
 50. De Waele J., Lipman J., Sakr Y., Marshall J.C., Vanhems P., Barrera Groba C., Leone M., Vincent J-L. for the EPIC II Investigators. Abdominal infections in the intensive care unit: characteristics, treatment and determinants of outcome. *BMC Infect Dis*. 2014; 14: 420. 2014. DOI: 10.1186/1471-2334-14-420
 51. Jawa R.S, Quist E., Boyer C.W, Shostrom V.K, Mercer D.W. Mesenteric ischemia-reperfusion injury up-regulates certain CC, CXC, and XC chemokines and results in multi-organ injury in a time-dependent manner. *Eur Cytokine Netw*. 2013; 24 (4): 148–156. DOI: 10.1684/ecn.2014.0345
 52. Rump K., Siffert W., Peters J., Adamzik M. The Transcription Factor NMP4 Binds to the AQP5 Promoter and Is a Novel Transcriptional Regulator of the AQP5 Gene. *DNA Cell Biol*. 2016; 35 (7): 322–327. DOI: 10.1089/dna.2015.3110
 53. Nagaraj S., Nelson A., Youn J.I., Cheng P., Quiceno D., Gabrilovich D.I. Antigen-specific CD4 (+)T cells regulate function of myeloid-derived suppressor cells in cancer via retrograde MHC class II signaling. *Cancer Res*. 2012; 72 (4): 928–938. DOI: 10.1158/0008-5472
 54. Hou Y., Feng Q., Xu M., Li G-S., Xue-Na Liu X-N., Sheng Z., Zhou H., Ma J., Wei Y., Sun Y-X., Yu Y-Y., Qiu J-H., Shao L-L., Liu X-G., Hou M., Peng J. High-dose dexamethasone corrects impaired myeloid-derived suppressor cell function via Ets1 in immune thrombocytopenia. *Blood*. 2016; 127 (12): 1587–1597. DOI: 10.1182/blood-2015-10-674531
 55. Hanisch E., Brause R., Paetz J., Arlt B. Review of a large clinical series: predicting death for patients with abdominal septic shock. *J Intensive Care Med*. 2011; 26 (1): 27–33 PMID: 21262751 DOI: 10.1177/0885066610384058
 - microbial therapy. *Clin Infect Dis*. 1996; 23: 486–494. DOI: 10.1093/clinids/ 23.3.486
 38. Calandra T, Bille J, Schneider R, Mosimann F, Francioli P. Clinical significance of Candida isolated from peritoneum in surgical patients. *Lancet*. 1989; 2: 1437–1440 DOI: 10.1016/S0140-6736 (89)92043-6
 39. Hensler T, Hecker H, Heeg K, Heidecke C.D., Bartels H., Barthlen W, Wagner H., Siewert J.R., Holzmann B. Distinct mechanisms of immunosuppression as a consequence of major surgery. *Infect Immun*. 1997; 65 (6): 2283–2291 PMID: 9169765 PMCID: PMC175317
 40. Kimura E, Shimizu H, Yoshidome H., Ohtsuka M., Miyazaki M. Immunosuppression following surgical and traumatic injury. *Surg Today*. 2010; 40 (9): 793–808. DOI: 10.1007/s00595-010-4323-z
 41. Schrijver I.T., Théroude C., Roger T. Myeloid-Derived Suppressor Cells in Sepsis. *Front. Immunol*. 2019; 10: 327 PMID: 30873175 PMCID: PMC6400980 DOI: 10.3389/fimmu.2019.00327
 42. Gaponov M.A., Pisarev V.M., Tutelyan A.V., Lihvantsev V.V., Grebenchikov O.A. The prognostic value of the content of monocytic myeloid immunosuppressive cells in sepsis. *Infektsionnye bolezni*. 2015; 13 (4): 72–74 [In Russ.]
 43. Gaponov M.A., Hajdukov S.V., Pisarev V.M., Grebenchikov O.A., Gaponov A.M., Tutelyan A.V. Subpopulation heterogeneity of myeloid immunosuppressive cells in patients with septic conditions. *Rossiiskij immunologicheskij zhurnal*. 2015; 9 (18): 11–14 [In Russ.]
 44. Patel J.J., Rosenthal M.D., McClave S.A., Martindale R.G. Tempering the Clinical Effects of Early Myeloid-derived Suppressor Cell Expansion in Severe Sepsis and Septic Shock. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 2018; 197 (5): 677–678. DOI: 10.1164/rccm.201708-1701le
 45. Brudecki L., Ferguson D.A., McCall C.E., El Gazzar, M. Myeloid-derived suppressor cells evolve during sepsis and can enhance or attenuate the systemic inflammatory response. *Infect. Immun*. 2012, 80, 2026–2034 PMID: 22451518 PMCID: PMC3370575 DOI: 10.1128/IAI.00239-12
 46. Waeckel L., Venet E, Gossez M., Monard C., Rimmelé T., Monneret G. Delayed persistence of elevated monocytic MDSC associates with deleterious outcomes in septic shock: a retrospective cohort study. *Crit Care*. 2020; 24 (1): 132. DOI: 10.1186/s13054-020-02857-y
 47. Mathias B., Delmas A.L., Ozrazgat-Baslanti T., Vanzan, E.L., Szpila B.E., Mohr A.M., Moore E.A., Brakenridge S.C., Brumback B.A., Moldawer L.L., Efron P.A., the Sepsis, Critical Illness Research Center Investigators. Human Myeloid-derived Suppressor Cells are Associated With Chronic Immune Suppression After Severe Sepsis/Septic Shock. *Ann. Surg*. 2017; 265: 827–834 PMID: 27163951 PMCID: PMC5102824 DOI: 10.1097/SLA.0000000000001783
 48. Albertsmeier M., Prix N.J., Winter H., Bazhin A., Werner J., Angele M.K. Monocyte-Dependent Suppression of T-Cell Function in Postoperative Patients and Abdominal Sepsis. *Shock*. 2017; 48 (6): 651–656. DOI: 10.1097/SHK.0000000000000924
 49. Pisarev V.M., Chumachenko A.G., Gaponov A.M., Tyurin I.N., Cherpakov R., Tutelyan A.V. Promoter polymorphism in AQP5 gene associates with increased survival and decreased numbers of monocytic MDSC in abdominal sepsis (by SEPSIS-3). *Shock*, 2018. 49: S.1. p.27. <https://journals.lww.com/shockjournal/pages/default.aspx>
 50. De Waele J., Lipman J., Sakr Y., Marshall J.C., Vanhems P., Barrera Groba C., Leone M., Vincent J-L. for the EPIC II Investigators. Abdominal infections in the intensive care unit: characteristics, treatment and determinants of outcome. *BMC Infect Dis*. 2014; 14: 420. 2014. DOI: 10.1186/1471-2334-14-420
 51. Jawa R.S, Quist E., Boyer C.W, Shostrom V.K, Mercer D.W. Mesenteric ischemia-reperfusion injury up-regulates certain CC, CXC, and XC chemokines and results in multi-organ injury in a time-dependent manner. *Eur Cytokine Netw*. 2013; 24 (4): 148–156. DOI: 10.1684/ecn.2014.0345
 52. Rump K., Siffert W., Peters J., Adamzik M. The Transcription Factor NMP4 Binds to the AQP5 Promoter and Is a Novel Transcriptional Regulator of the AQP5 Gene. *DNA Cell Biol*. 2016; 35 (7): 322–327. DOI: 10.1089/dna.2015.3110
 53. Nagaraj S., Nelson A., Youn J.I., Cheng P., Quiceno D., Gabrilovich D.I. Antigen-specific CD4 (+)T cells regulate function of myeloid-derived suppressor cells in cancer via retrograde MHC class II signaling. *Cancer Res*. 2012; 72 (4): 928–938. DOI: 10.1158/0008-5472
 54. Hou Y., Feng Q., Xu M., Li G-S., Xue-Na Liu X-N., Sheng Z., Zhou H., Ma J., Wei Y., Sun Y-X., Yu Y-Y., Qiu J-H., Shao L-L., Liu X-G., Hou M., Peng J. High-dose dexamethasone corrects impaired myeloid-derived suppressor cell function via Ets1 in immune thrombocytopenia. *Blood*. 2016; 127 (12): 1587–1597. DOI: 10.1182/blood-2015-10-674531
 55. Hanisch E., Brause R., Paetz J., Arlt B. Review of a large clinical series: predicting death for patients with abdominal septic shock. *J Intensive Care Med*. 2011; 26 (1): 27–33 PMID: 21262751 DOI: 10.1177/0885066610384058
 56. van Ruler O., Kiewiet J.J., Boer K.R., Lamme B., Gouma D.J., Boerme-

56. van Ruler O., Kiewiet J.J., Boer K.R., Lamme B., Gouma D.J., Boermeester M.A., Reitsma J.B. Failure of available scoring systems to predict ongoing infection in patients with abdominal sepsis after their initial emergency laparotomy. *BMC Surg.* 2011; 11: 38 PMID: 22196238 PMCID: PMC3268736 DOI: 10.1186/1471-2482-11-38
57. Chen Y.X., Li C.S. Risk stratification and prognostic performance of the predisposition, infection, response, and organ dysfunction (PIRO)scoring system in septic patients in the emergency department: a cohort study. *Crit Care.* 2014; 18 (2): R74 PMID: 24739219 PMCID: PMC4056311 DOI: 10.1186/cc13832
58. Pisarev V.M., Chumachenko A.G., Tyurin I.N., Cherpakov R., Tutelyan A.V. Prognostic value of a genetic polymorphism of AQP5 in sepsis depends on a source of infection. 39th International Symposium on Intensive Care and Emergency Medicine. *Critical Care* 2019, 23 (Suppl 2):82. <https://ccforum.biomedcentral.com/articles/supplements/volume-23-supplement-2>.
- ester M.A., Reitsma J.B. Failure of available scoring systems to predict ongoing infection in patients with abdominal sepsis after their initial emergency laparotomy. *BMC Surg.* 2011; 11: 38 PMID: 22196238 PMCID: PMC3268736 DOI: 10.1186/1471-2482-11-38
57. Chen Y.X., Li C.S. Risk stratification and prognostic performance of the predisposition, infection, response, and organ dysfunction (PIRO)scoring system in septic patients in the emergency department: a cohort study. *Crit Care.* 2014; 18 (2): R74 PMID: 24739219 PMCID: PMC4056311 DOI: 10.1186/cc13832
58. Pisarev V.M., Chumachenko A.G., Tyurin I.N., Cherpakov R., Tutelyan A.V. Prognostic value of a genetic polymorphism of AQP5 in sepsis depends on a source of infection. 39th International Symposium on Intensive Care and Emergency Medicine. *Critical Care* 2019, 23 (Suppl 2):82. <https://ccforum.biomedcentral.com/articles/supplements/volume-23-supplement-2>.

Поступила 19.03.2020

Received 19.03.2020

Молекулярные маркеры геморрагического инсульта

А. М. Голубев^{1,3}, А. В. Гречко², М. А. Говорухина¹,
В. Е. Захарченко², А. Н. Кузовлев¹, М. В. Петрова²

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

² Федеральный научно-клинический центр реаниматологии и реабилитологии,
Россия, 141534, Московская область, Солнечногорский район, д. Лыткино, д. 777

³ Российский университет дружбы народов,
Россия, 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6

⁴ Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России,
Россия, 127994, ГСП-4, г. Москва, Рахмановский пер, д. 3

Molecular Markers of Hemorrhagic Stroke

Arkady M. Golubev^{1,3}, Andrey V. Grechko², Mariya A. Govorukhina²,
Vladislav E. Zakharchenko², Artem N. Kuzovlev¹, Marina V. Petrova²

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

² Federal Research and Clinical Center of Intensive Care Medicine and Rehabilitology,
Russia, 141534, Moscow region, Solnechnogorskiy district, 777, Lytkino village.

³ Peoples' Friendship University of Russia,
6 Miklukho-Maclaya Str., 117198 Moscow, Russia,

⁴ I. M. Sechenov First Moscow State Medical University, Ministry of Health of Russia,
8 Trubetskaya Str., Bldg. 2, 119991 Moscow, Russia

Для цитирования: А.М. Голубев, А.В. Гречко, М.А. Говорухина, В.Е. Захарченко, А.Н. Кузовлев, М.В. Петрова. Молекулярные маркеры геморрагического инсульта. *Общая реаниматология*. 2020; 16 (3): 34–45. DOI: 10.15360/1813-9779-2020-3-34-45 [На русск. и англ.]

For citation: Arkady M. Golubev, Andrey V. Grechko, Mariya A. Govorukhina, Vladislav E. Zakharchenko, Artem N. Kuzovlev, Marina V. Petrova. Molecular markers of hemorrhagic stroke. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2020; 16 (3): 34–45. DOI: 10.15360/1813-9779-2020-3-34-45 [In Russ. and Engl.]

Резюме

Инсульт является второй по частоте причиной смерти в мире после ишемической болезни сердца (ИБС) и третьей по частоте развития инвалидности.

Цель: выявление закономерностей содержания кандидатных молекулярных маркеров в сыворотке крови пациентов в различные стадии геморрагического инсульта.

Материал и методы. Число пациентов с геморрагическим инсультом составило 33, из них мужчин 15, женщин 18. Возраст пациентов — 31–65 лет. Молекулярные маркеры ЦНС в сыворотке крови определяли в острой стадии через 1–3 часа, 7, 14 и 30 дней от начала заболевания. Количественную оценку содержания кандидатных молекулярных маркеров повреждения центральной нервной системы (ЦНС) в сыворотке крови у пациентов с геморрагическим инсультом осуществляли методом иммуноферментного анализа в острой стадии через 1–3 часа, затем — 7, 14 и 30 дней от начала заболевания. Определяли нейротрофический фактор головного мозга, нейронспецифическую енолазу, белок S-100 общий, глиальный нейротрофический фактор, васкулоэндотелиальный фактор роста, сialiрированный углеводный антиген, супероксиддисмутазу. Молекулярные маркеры ЦНС выявляли с помощью автоматического микропланшетного иммуноферментного анализатора Immuplat TM. Контрольную группу составили 20 добровольцев в возрасте 24–58 лет. Статистический анализ полученных данных производили при помощи пакета Statistica 7.0. Использовали параметрические методы статистического анализа, данные представили в виде медианы 25–75 перцентилей (25–75 IQR). Статистически значимым считали различие при $p < 0,05$.

Результаты. По сравнению с группой контроля в сыворотках крови пациентов с геморрагическим инсультом отмечали изменение содержания исследуемых кандидатных молекулярных маркеров. В острой стадии геморрагического инсульта (1–3 часа от начала заболевания) регистрировали статистически значимое возрастание содержания белка S100, глиального нейротрофического фактора, фактора роста эндотелия сосудов, супероксиддисмутазы, сialiрированного углеводного антигена, а сни-

Адрес для корреспонденции:

Аркадий Михайлович Голубев
E-mail: arkadygolubev@mail.ru

Correspondence to:

Arkady M. Golubev
E-mail: arkadygolubev@mail.ru

жение содержания мозгового нейротрофического фактора и повышение содержания нейрон-специфической енолазы было статистически недостоверным. В острой стадии геморрагического инсульта (7–14 дней) отмечали статистически значимое снижение содержания мозгового нейротрофического фактора (14 день), повышение содержания фактора роста эндотелия, супероксиддисмутазы, сialiрированного углеводного антигена. В подострой стадии заболевания (30 суток) регистрировали статистически значимое повышение содержания фактора роста эндотелия, супероксиддисмутазы и сialiрированного углеводного антигена.

Заключение. Изучили динамику содержания кандидатных молекулярных маркеров в сыворотке крови пациентов с геморрагическим инсультом, которая, вероятно, отражает процессы альтерации и регенерации, соответствующие стадиям заболевания. Использование данных кандидатных молекулярных биомаркеров, после соответствующей валидации, перспективно в комплексной диагностике, мониторинге лечения и реабилитационных мероприятий у данной категории пациентов.

Ключевые слова: геморрагический инсульт, кандидатные молекулярные биомаркеры

Summary

Stroke is the second most common cause of death after coronary heart disease (CHD) globally and the third most common cause of disability worldwide.

Aim: to identify patterns of serum levels of candidate molecular markers in various stages of hemorrhagic stroke.

Material and methods. The number of enrolled patients with hemorrhagic stroke was 33, 15 of them were men and 18 women. The age of the patients was 31–65 years. The serum levels of molecular markers of the central nervous system (CNS) were measured in the hyperacute phase of stroke (during 1–3 hours after the onset), and on Days 7, 14 and 30 after the onset of the disease. The serum levels of candidate molecular markers of CNS in patients with hemorrhagic stroke were measured by immunoenzyme analysis during the hyperacute phase (first 1–3 hours), then on Days 7, 14 and 30 after the onset of disease. The levels of neurotrophic brain derived factor, neuron-specific enolase, total S-100 protein, glial cell line-derived neurotrophic factor, vascular endothelial growth factor, sialylated carbohydrate antigen, and superoxide dismutase were determined. The molecular markers of CNS were measured using the Immunomat (TM) automatic microplate immunoenzyme analyzer. The control group included 20 volunteers aged 24–58 years. Statistical analysis of the obtained data was performed using the Statistica 7.0 software. Parametric methods of statistical analysis were used, data were presented as medians and 25th and 75th percentiles (25–75 IQR). The difference at $P < 0.05$ was considered statistically significant.

Results. Changes in the serum levels of the studied candidate molecular markers were found in the patients with hemorrhagic stroke compared with the control group. During the hyperacute phase of hemorrhagic stroke (first 1–3 hours), significant increases of S100 protein, glial cell line-derived neurotrophic factor, vascular endothelial growth factor, superoxide dismutase, sialylated carbohydrate antigen levels, as well as decrease of brain derived neurotrophic factor and increase of neuron-specific enolase levels were revealed. In the acute phase of hemorrhagic stroke (Days 7–14), statistically significant decrease in brain-derived neurotrophic factor level (Day 14) and increase in vascular endothelial growth factor, superoxide dismutase, sialylated carbohydrate antigen levels were observed. In the subacute phase of disease (Day 30), a statistically significant increases in the vascular endothelial growth factor, superoxide dismutase and sialylated carbohydrate antigen levels were observed.

Conclusion. Serial changes of serum levels of candidate molecular markers in patients with hemorrhagic stroke were found, which presumably represent alteration and regeneration corresponding to the disease phases. The use of these candidate molecular biomarkers, after appropriate validation, is a promising tool for comprehensive diagnosis, treatment monitoring and rehabilitation in this category of patients.

Keywords: hemorrhagic stroke, candidate molecular biomarkers.

DOI: 10.15360/1813-9779-2020-3-34-45

Введение

Инсульт является второй по частоте причиной смерти в мире после ишемической болезни сердца (ИБС) и третьей по частоте развития инвалидности [1]. Геморрагический инсульт (ГИ) встречается в 5 раз реже ишемического и характеризуется более высокой (до 75%) инвалидизацией [2]. Летальность при геморрагическом инсульте составляет около 60% [3]. В среднем, частота встречаемости инсультов на 1000 человек составляет от 4,2 до 6,5 [4].

Introduction

Stroke is the second most common cause of death after coronary heart disease (CHD) globally and the third most common cause of disability worldwide [1].

Hemorrhagic stroke is 5 times less common than ischemic and is characterized by higher chance of disability (up to 75%) [2]. Mortality in hemorrhagic stroke can be estimated at about 60% [3]. On average, the incidence of stroke ranges from 4.2 to 6.5 per 1,000 of population [4].

Для диагностики инсульта, помимо клинических и инструментальных, используют лабораторные и биохимические методы исследования [5–7], в т. ч. молекулярные биомаркеры. Исследования по данной проблеме разрозненны, вне поля зрения остается вопрос, касающийся динамики содержания кандидатных молекулярных маркеров в сыворотке крови пациентов на различных стадиях геморрагического инсульта, что является исключительно важным для оценки общепатологических процессов — альтерации и регенерации — с целью понимания выраженности этих процессов в центральной нервной системе (ЦНС), что определяет эффективность лечения и прогноз заболевания.

Цель — выявление закономерностей содержания кандидатных молекулярных маркеров в сыворотке крови пациентов в различные стадии геморрагического инсульта.

Материал и методы

Количественную оценку содержания кандидатных молекулярных маркеров ЦНС в сыворотке крови пациентов с геморрагическим инсультом проводили методом иммуноферментного анализа в первые 3 часа, через 7, 14 и 30 дней от начала заболевания. 33 пациента (15 мужчин и 18 женщин в возрасте от 31 года до 65 лет) были госпитализированы в отделения реанимации Федерального научно-клинического центра реаниматологии и реабилитологии и 3-й городской клинической больницы им. М. П. Кончаловского, г. Москва. Все пациенты имели сопутствующее заболевание в виде гипертонической болезни 3 стадии. 22 пациента получали ИВЛ в острейшем периоде инсульта с последующим успешным отлучением.

Критерии включения: наличие клинических признаков инсульта с подтверждением геморрагического компонента при компьютерной томографии головного мозга; любая локализация геморрагического инсульта; уровень сознания при поступлении, оцененный по шкале комы Глазго, от 4 до 9 баллов; без ограничений по возрасту; без ограничений по коморбидности. Критерии исключения: нестабильная гемодинамика в острейшем периоде инсульта; уровень сознания по шкале комы Глазго ниже 4 баллов; инфекционные осложнения и сепсис; терминальное состояние.

Диагноз геморрагического инсульта выставляли, руководствуясь методическими рекомендациями Минздрава РФ (2020).

Всем пациентам при поступлении в клинику проводили компьютерную томографию. Кровоизлияния по локализации были внутримозговыми и субарахноидальными.

Для исследования содержания кандидатных молекулярных биомаркеров выполняли забор 8 мл венозной крови в стандартные пробирки с этилендиаминтетраацетатом при включении в исследование (в первые 3 часа после госпитализации), через 2, 3 и 4 недели от начала заболевания. Кровь центрифугировали в течение 10 мин. со скоростью 2000 об/мин.

In addition to clinical and instrumental investigations, laboratory and biochemical methods, including molecular marker testing, are used to diagnose stroke [5–7]. Studies on this problem are scarce, and the issue of serial changes in the serum level of candidate molecular markers in various phases of hemorrhagic stroke remains undressed. The issue is extremely important for the evaluation of alteration and regeneration in CNS which is essential for treatment effectiveness and the prognosis of disease.

Aim — to identify the patterns of serum levels of candidate molecular markers in patients with various phases of hemorrhagic stroke.

Materials and Methods

The measurement of the serum level of CNS candidate molecular markers in patients with hemorrhagic stroke was done by immunoenzyme analysis in the first 3 hours, and on Days 7, 14 and 30 after the disease onset. Thirty three patients (15 men and 18 women aged 31 to 65 years) were hospitalized in the intensive care unit of the Federal Research and Clinical Center of Intensive Care Medicine and Rehabilitology and the M. P. Konchalovsky 3rd City Clinical Hospital (Moscow). All patients exhibited coexisting 3rd stage hypertension. Twenty two patients underwent lung ventilation in the hyperacute stroke period with successful weaning afterwards.

Inclusion criteria were clinical signs of stroke of any localization with hemorrhagic component confirmed by brain computed tomography, Glasgow coma scale 4–9 on admission. No age or comorbidity restrictions were applied. Exclusion criteria were unstable hemodynamic parameters in the hyperacute period of stroke, Glasgow coma score below 4 points, infectious complications and sepsis, terminal condition.

Hemorrhagic stroke was diagnosed according to the Health ministry of Russian Federation guidelines (2020).

All patients had computed tomography done on admission to the clinic. The localization of hemorrhages was intracerebral or subarachnoid.

Eight ml of venous blood were taken to standard EDTA tubes on study enrolment (during the first 3 hours after hospitalization), 2, 3 and 4 weeks after the disease onset to measure the level of the candidate molecular biomarkers. Blood was centrifuged for 10 min. at a rate of 2000 rpm. Blood plasma (3–4 ml) was separated and frozen in separate tubes without preservatives at 20°C. The level of candidate molecular biomarkers in blood samples was measured by independent laboratory assistants who did not know about the patients included in the study.

The serum levels of brain-derived neurotrophic factor (BDNF), neuron-specific enolase (NSE), total protein S-100 ($\alpha\beta$ - $\beta\beta$), glial cell-line derived neurotrophic factor (GDNF), vascular endothelial growth factor (VEGF), sialylated carbohydrate antigen (KL-6), and superoxide dismutase were evaluated. The following reagents were used: CanAg NSE EIA («FUJIREBIO», Sweden); Human Free BDNF Immunoassay (R&D systems, USA); Human GDNF ELISA (ABfrontier, Korea); CanAg S 100 EIA (FUJIREBIO, Sweden); KL-6 KIT (Sekisui

Характеристика исследуемых групп. Parameters of the studied groups.

Parameters	Values in groups		P
	Main, n=33	Control, n=20	
Sex			
male, n (%)	15 (45.5)	8 (40.0)	>0.05
female, n (%)	18 (54.5)	12 (60.0)	>0.05
Age, years (Me, min–max)	42.4 (31–65)	38.5 (24–58)	>0.05

Примечание. Parameters — параметры; values in groups — значения в группах; main — основная; control — контрольная; sex, male, female — пол, мужчины, женщины; age, years — возраст, годы.

Плазму крови в количестве 3–4 мл отделяли и замораживали в отдельных пробирках без консерванта при температуре 20°C. Содержание кандидатных молекулярных биомаркеров в образцах крови измеряли независимые лаборанты, не владеющие информацией о больных, включенных в исследование.

Количественно оценивали содержание в сыворотке крови: нейротрофический фактор головного мозга (BDNF), нейрон-специфическую енолазу (NSE), белок S-100 общий ($\alpha\beta$ - $\beta\beta$), глиальный нейротрофический фактор (GDNF), васкулоэндотелиальный фактор роста (VEGF), сиалированный углеводный антиген (KL-6), супероксиддисмутазу. Использовали реактивы следующих фирм: CanAg NSE EIA «FUJIREBIO» (Швеция) нейронспецифическая енолаза; Human Free BDNF Immunoassay «R&D systems» (США) нейротрофический фактор головного мозга (BDNF); Human GDNF ELISA «ABfrontier» (Корея) глиальный нейротрофический фактор (GDNF); CanAg S 100 EIA «FUJIREBIO» (Швеция) белок S-100 общий ($\alpha\beta$ - $\beta\beta$); KL-6 KIT «Sekisui Medical CO» (Япония) сиалированный углеводный антиген (KL-6); Human VEGF-A Platinum ELISA «eBio-science» (Австрия) васкулоэндотелиальный фактор роста; Superoxide Dismutase Assay Kit «Cayman chemical» (США) супероксиддисмутаза. Для исследований использовали автоматический микропланшетный иммуноферментный анализатор ImmunomatTM.

Контрольную группу составили 20 добровольцев (24–58 лет), давших согласие на участие в данном исследовании. Исследуемые группы статистически значимо не различались по половому составу и возрасту (таблица).

В контрольной группе выполнили однократный забор 8 мл венозной крови для исследования физиологического уровня кандидатных биомаркеров.

Статистический анализ полученных данных производили при помощи пакета Statistica 7.0. Использовали общепринятые математико-статистические методы расчета основных характеристик выборочных распределений: параметрические методы статистического анализа, данные были представлены в виде медианы 25–75 перцентилей (25–75 IQR). Статистически значимым считали различие при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Содержание молекулярных маркеров в сыворотке крови пациентов.

BDNF В контрольной группе среднее содержание нейротрофического фактора головного мозга составило 1853,0 (1650,3; 2108,8) пг/мл.

Medical Co, Japan) for sialylated carbohydrate antigen (KL-6) assessment; Human VEGF-A Platinum ELISA (eBioscience, Austria); and Superoxide Dismutase Assay Kit (Cayman Chemical, USA). The Immunomat(TM) automatic microplate immunoassay analyzer was used in the study.

The control group included 20 volunteers (24–58 years old) who provided informed consent for study participation. The study groups did not significantly differ by sex and age (table 1).

A single collection of venous blood (8 ml) was performed in the control group to assess the physiological level of candidate biomarkers.

The statistical analysis of the obtained data was carried out using the Statistica 7.0 software. Generally accepted methods were used to evaluate the distribution of variables. The data were presented as medians and 25–75 percentiles (25–75 interquartile ranges, IQR). The differences between groups were considered significant at $P < 0.05$.

Results and Discussion

The serum levels of molecular markers.

Brain-derived neurotrophic factor (BDNF). The median of BDNF was 1853.0 (1650.3; 2108.8) pg/ml in the control group.

Three hours after the onset of hemorrhagic stroke the median of BDNF decreased to 1666.0 (1656.0; 1799.0) pg/ml ($P < 0.05$ vs the control group). On Day 7 after the stroke development, the median of this parameter remained reduced to 1752.5 (1702; 1801.3) pg/ml. On Day 14 the median of BDNF decreased even more significantly as compared to the control group and was as low as 1498 (1422; 1546) pg/ml ($P < 0.05$ vs the control group, after 3 hours and on Day 7). On Day 30, the median of BDNF was similar to that of the control group and amounted to 1821.0 (1709.3; 1906.0) pg/ml ($P < 0.05$ vs after 3 hours) (fig., a).

Neuron-specific enolase (NSE). The median of NSE was 6.1 (5.8; 6.4) µg/l In the control group.

Three hours after the onset of the hemorrhagic stroke the average content of NSE tended to increase to 6.3 (5.5; 8.1) µg/l ($P > 0.05$) vs the control group. After 7 days the value of this parameter remained the same at 6.3 (5.7; 7.1) µg/l. Fourteen days after the development of hemorrhagic stroke, the serum level of NSE did not change. the control group and was 6.1 (5.8; 7.1) µg/l. On the Day 30, the level of neuron-specific enolase slightly increased

Через 3 часа после возникновения геморрагического инсульта среднее содержание нейротрофического фактора головного мозга снизилось до 1666,0 (1656,0; 1799,0) пг/мл ($p < 0,05$ по сравнению с группой контроля). Через 7 дней после развития инсульта среднее значение данного показателя оставалось сниженным — 1752,5 (1702; 1801,3) пг/мл. На 14-е сутки среднее содержание мозгового нейротрофического фактора снизилось по сравнению с контрольной группой еще более значительно: до 1498 (1422; 1546) пг/мл ($p < 0,05$ по отношению к группе контроля, 3 часам и 7 суткам). На 30-е сутки среднее содержание нейротрофического фактора головного мозга приблизилось к показателю группы контроля и составило 1821,0 (1709,3; 1906,0) пг/мл ($p < 0,05$ по отношению к 3 часам) (рис., а).

Нейрон-специфическая енолаза (NSE). В контрольной группе среднее содержание нейронспецифической енолазы составило 6,1 (5,8; 6,4) мкг/л.

В первые 3 часа после возникновения геморрагического инсульта среднее содержание нейрон-специфической енолазы по сравнению с группой контроля возросло до 6,3 (5,5; 8,1) мкг/л (статистически не значимо). Через 7 дней значение данного показателя оставалось прежним: 6,3 (5,7; 7,1) мкг/л. Через 14 дней после развития геморрагического инсульта содержание в сыворотке крови нейрон-специфической енолазы не менялось по сравнению с контрольной группой и составляло 6,1 (5,8; 7,1) мкг/л. На 30-е сутки содержание нейрон-специфической енолазы возросло до 6,7 (5,1; 7,3) мкг/л по сравнению с группой контроля статистически незначимо (рис., б).

Белок-S-100. В контрольной группе среднее содержание белка S-100 составило 41,1 (38,8; 42,9) нг/л.

В первые 3 часа после возникновения геморрагического инсульта среднее содержание белка S-100 значимо возрастало до 52,1 (48,7; 60,2) нг/л ($p < 0,05$ по отношению к группе контроля). На 7 сутки этот показатель снизился до 37,6 (35,2; 39,3) нг/л ($p < 0,05$ по отношению к 1–3 часам). На 7 сутки содержание белка возросло до 44,9 (39,1; 46,4) нг/л ($p < 0,05$ по отношению к группе контроля и 7-ми суткам) и оставалось на таком же уровне вплоть до 30-х суток после возникновения геморрагического инсульта (рис., в).

Глиальный нейротрофический фактор (GDNF). В контрольной группе среднее содержание глиального нейротрофического фактора составило 30,2 (26,7; 52,8) пг/мл.

По сравнению с группой сравнения в первые 1–3 часа после возникновения геморрагического инсульта среднее содержание глиально-

up to 6.7 (5.1; 7.3) $\mu\text{g/l}$ vs the control group, but the difference was not significant (fig., b).

Protein S-100. The median protein S-100 was 41.1 (38.8; 42.9) ng/l in the control group.

In the first 3 hours after hemorrhagic stroke the median of S-100 increased up to 52.1 (48.7; 60.2) ng/l ($P < 0.05$ vs the control group). On Day 7, this index decreased to 37.6 (35.2; 39.3) ng/l ($P < 0.05$ versus 1–3 hours). On Day 7 the protein level increased to 44.9 (39.1; 46.4) ng/l ($P < 0.05$ vs the control group and Day 7) and remained at the same level till Day 30 after the hemorrhagic stroke (fig., c).

Glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF). The median of GDNF was 30.2 (26.7; 52.8) pg/ml in the control group.

In the first 1–3 hours after hemorrhagic stroke, the median of GDNF significantly increased to 44.5 (41.2; 49.8) pg/ml ($P < 0.05$ vs the control group). On Day 7 its median level dropped to 29.5 (28.7; 31.1) pg/ml ($P < 0.05$ vs 1–3 hours). On the Day 14 the level of glial cell line — derived neurotrophic factor increased to 31.0 (29.9; 35.3) pg/ml ($P < 0.05$ vs the control group) and on Day 30 it decreased to 29.7 (28.9; 36.0) ($P < 0.05$ vs 1–3 hours) (fig., d).

The vascular endothelial growth factor (VEGF). The median level of VEGF-A was 318.0 (133.0; 406.0) pg/ml in the control group.

In the first 1–3 hours after hemorrhagic stroke onset, the median VEGF level dramatically increased to 909.0 (870.0; 1005.0) pg/ml ($P < 0.05$ vs the control group). On Day 7, this marker increased significantly to 1067.0 (1046.5; 1180.5) pg/ml ($P < 0.05$ vs the control group), and on Day 14 it decreased to 990.0 (876.5; 1460.5) pg/ml ($P < 0.05$ vs the control group). On Day 30 the median level of VEGF was higher vs the control group and reached 713.0 (696.8; 1075.3) pg/ml ($P < 0.05$ vs the control group and Day 7), but significantly lower than after 1–3 hours, on Days 7 and 14 after the onset of stroke (fig., e).

Superoxide dismutase (SOD). The average content of SOD in plasma was 0.6 (0.56; 0.75) units/ml in the control group.

In the first 1–3 hours after the hemorrhagic stroke onset the median level of superoxide dismutase increased to 0.86 (0.57; 1.15) units/ml, on Day 7 this value decreased to 0.81 (0.76; 0.96) units/ml ($P < 0.05$ vs the control group). On Day 14 it dropped to 0.66 (0.64; 0.73) units/ml ($P < 0.05$ vs 7 days) and on day 30 it increased to 0.87 (0.81; 0.92) units/ml ($P < 0.05$ vs Day 14) (fig., f).

Sialylated carbohydrate antigen (KL-6). The median level of sialylated carbohydrate antigen was 215.0 (198.0; 298.8) units/ml in the control group.

In the first 1–3 hours after hemorrhagic stroke the level of KL-6 increased to 316.0 (310.0; 337.0) units/ml ($P < 0.05$ vs the control group). A week later, KL-6 serum concentration decreased vs. the previous value and was 279.5 (250.3; 307.0) units/ml

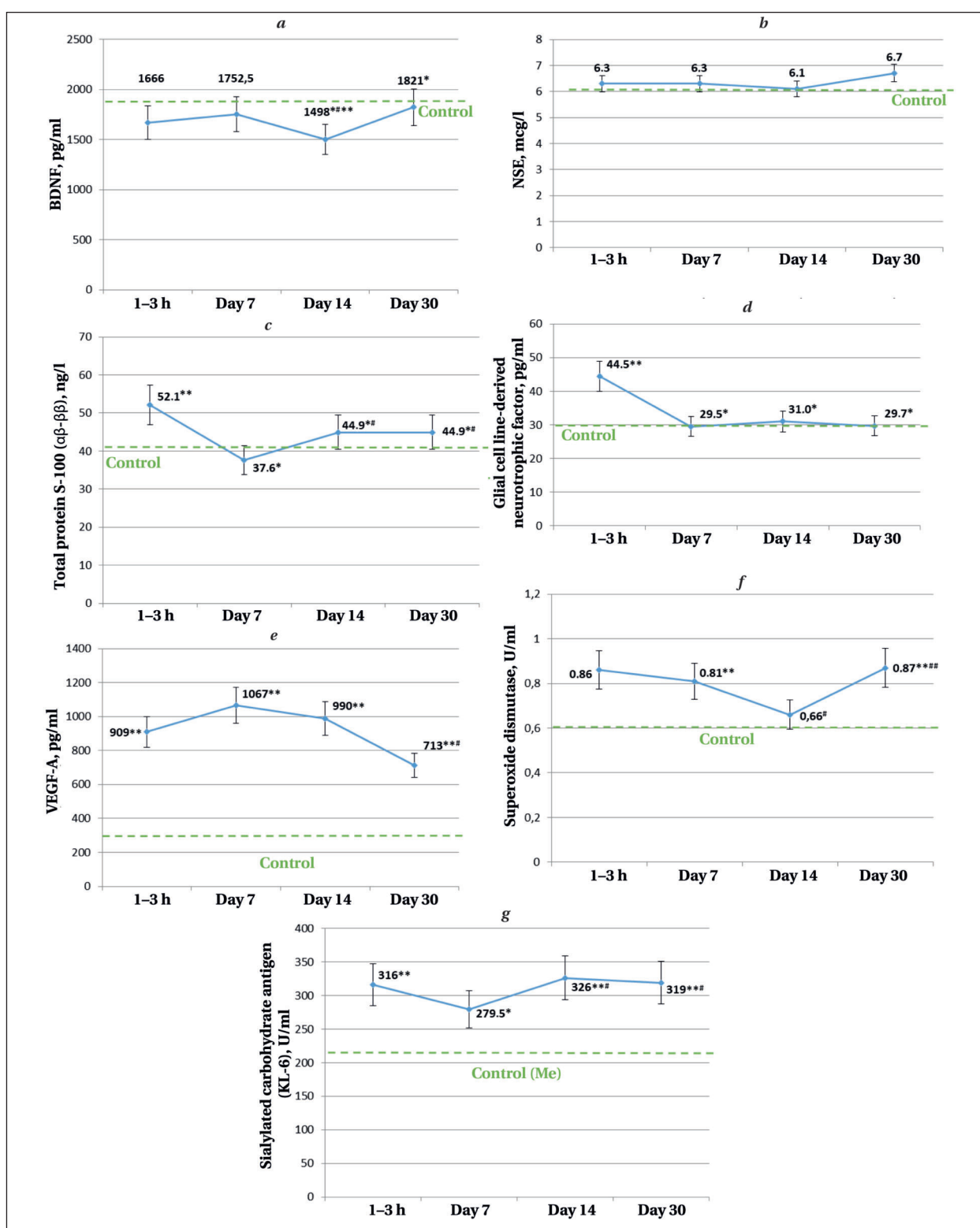


Рис. Динамика изменений содержания молекулярных маркеров в сыворотке крови пациентов с геморрагическим инсультом, Me (LQ; HQ).

Fig. Serial changes of the serum molecular marker levels in patients with hemorrhagic stroke, Me (LQ; HQ).

Note. BDNF — brain-derived neurotrophic factor. The dotted line represents the control group values. $P < 0.05$: ** — vs the control group; * — vs after 1–3 hours; # — vs Day 7; ## — vs Day 14.

Примечание. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF), pg/ml — нейротрофический фактор головного мозга, пг/мл; neuron-specific enolase (NSE), mcg/l — нейрон-специфическая енолаза (HCE), мкг/л; total protein S-100 ($\alpha\beta$ - $\beta\beta$), ng/l — белок S-100 общий ($\alpha\beta$ - $\beta\beta$), нг/л; glial cell line-derived neurotrophic factor, pg/ml — глиальный нейротрофический фактор, пг/мл; vascular endothelial growth factor (VEGF-A), pg/ml — васкулоэндотелиальный фактор роста (VEGF-A), пг/мл; superoxide dismutase, U/ml — супероксиддисмутаза, ЕД/мл; sialylated carbohydrate antigen (KL-6), U/ml — сиалированный углеводный антиген (KL-6), ЕД/мл; day — сутки; hours — часы. Пунктирная линия — контроль. $p < 0.05$: ** — по отношению к группе контроля; * — по отношению к 1–3 часам; # — по отношению к 7 суткам; ## — по отношению к 14 суткам.

го нейротрофического фактора существенно возрастало до 44,5 (41,2; 49,8) пг/мл ($p < 0,05$ по отношению к группе контроля). На 7 сутки его среднее содержание снизилось до 29, 5 (28,7; 31,1) пг/мл ($p < 0,05$ по отношению к 1–3 часам). На 14-е сутки содержание глиального нейротрофического фактора возросло до 31,0 (29,9; 35,3) пг/мл ($p < 0,05$ по отношению к группе контроля) и на 30-е сутки — снизилось до 29,7 (28,9; 36,0) ($p < 0,05$ по отношению к 1–3 часа) (рис., *d*).

Васкулоэндотелиальный фактор роста (VEGF). В контрольной группе среднее содержание васкулоэндотелиального фактора роста (VEGF-A) составило 318,0 (133,0; 406,0) пг/мл.

В первые 1–3 часа после возникновения геморрагического инсульта среднее содержание васкулоэндотелиального фактора резко возрастало до 909,0 (870,0; 1005,0) пг/мл ($p < 0,05$ по отношению к группе контроля). На 7-е сутки значение показателя значимо возросло до 1067,0 (1046,5; 1180,5) пг/мл ($p < 0,05$ по отношению к группе контроля), а на 14-е сутки — снизилось до 990,0 (876,5; 1460,5) пг/мл ($p < 0,05$ по отношению к группе контроля). На 30-е сутки среднее содержание васкулоэндотелиального фактора было выше по сравнению с группой контроля — 713,0 (696,8; 1075,3) пг/мл ($p < 0,05$ по отношению к группе контроля и 7 суткам), но значительно ниже, чем через 1–3 часа, 7 и 14 суток от начала развития инсульта (рис., *e*).

Супероксиддисмутаза. В контрольной группе среднее содержание супероксиддисмутазы составило 0,6 (0,56; 0,75) ЕД/мл.

В первые 1–3 часа после возникновения геморрагического инсульта среднее содержание супероксиддисмутазы возросло до 0,86 (0,57; 1,15) ЕД/мл, на 7 сутки значение этого показателя снизилось до 0,81 (0,76; 0,96) ЕД/мл ($p < 0,05$ по отношению к группе контроля). На 14-е сутки — снизилось до 0,66 (0,64; 0,73) ЕД/мл ($p < 0,05$ по отношению к 7-ми суткам) и на 30-е сутки — возросло до 0,87 (0,81; 0,92) ЕД/мл ($p < 0,05$ по отношению к группе контроля и 14 суткам) (рис., *f*).

Сиалированный углеводный антиген (KL-6). В контрольной группе среднее содержание сиалированного углеводного антигена составило 215,0 (198,0; 298,8) ЕД/мл.

В первые 1–3 часа после возникновения геморрагического инсульта содержание сиалированного углеводного антигена возросло до 316,0 (310,0; 337,0) ЕД/мл ($p < 0,05$ по отношению к группе контроля). Через неделю его содержание в сыворотке крови уменьшилось по сравнению с предыдущим показателем и составляло 279,5 (250,3; 307,0) ЕД/мл ($p < 0,05$ по отношению к 1–3 часам), а на 14-е сутки — снова повысилось до 326,0 ЕД/мл (317,5; 386,5) ($p < 0,05$ по отношению к группе контроля и 7-ми суткам). На 30-е сутки содержание сиалирован-

($P < 0.05$ vs 1–3 hours), while on Day 14 it increased again to 326.0 units/ml (317.5; 386.5) ($P < 0.05$ vs Day 7). On Day 30, the level of KL-6 was 319.0 (307.8; 375.5) units/ml ($P < 0.05$ vs the control group and Day 7) (fig., *g*).

The obtained results confirm changes in the serum level of the studied candidate molecular markers in patients in various phases of hemorrhagic stroke.

A decrease of BDNF serum level was registered in patients in hyperacute phase of hemorrhagic stroke 1–3 hours after the onset of the disease, with this reduction being maximal by Day 14. After Day 30 the serum level of BDNF approached the control values.

NSE level was slightly increased in both acute and subacute periods of the disease.

The level of protein S-100 in serum significantly increased in the hyperacute period of hemorrhagic stroke 3 hours after the onset of the disease and fell below the control values in the acute period after 7 days. Between Days 14–30 (subacute period) the S-100 protein level increased again, exceeding the control level.

The serum level of GDNF increased significantly in the hyperacute period of hemorrhagic stroke (3 hours after the onset of cerebral hemorrhage). Between Days 7–30 (acute and subacute periods) the GDNF content was close to the control values.

There was also a significant increase of VEGF level during hyperacute, acute and subacute periods of hemorrhagic stroke.

The level of SOD increased significantly after 3 hours and on Day 7 in the hyperacute and acute periods of the disease. On Day 14 this marker's level decreased, and then increased again after 30 days from the onset of the disease in the subacute period of hemorrhagic stroke.

The level of KL-6 increased significantly (vs the control group) in the hyperacute and subacute periods of hemorrhagic stroke.

The implications of changes in the serum level of the studied molecular biomarkers reflecting alteration and regeneration in the CNS in hemorrhagic stroke are related to their important role in the functioning of neurons, glial cells and endothelium. In particular, BDNF is a neurotrophic protein which stimulates growth and reparation in neurons, increases their synaptic plasticity and resistance to damaging factors [12–14]. Stress, trauma, hypoglycemia, brain ischemia affect BDNF expression [15]. Some mechanisms of synaptic plasticity have been detected. Thus, BDNF of microglia stimulates phosphorylation of neuronal kinase B receptor associated with tropomyosin, which is a key mediator of synaptic plasticity (Miao H. et al, 2018) [16]. Inhibition mechanisms of spatial learning and memory capacity in rats with brain haemorrhage may be associated with reduced brain expression of BDNF [17]. This was confirmed by

ного углеводного антигена составило 319,0 (307,8; 375,5) ЕД/мл ($p < 0,05$ по отношению к группе контроля и 7 суткам) (рис., г).

Полученные результаты свидетельствуют об изменениях содержания исследуемых кандидатных молекулярных маркеров в сыворотке крови пациентов в различные стадии геморрагического инсульта.

В острой стадии геморрагического инсульта регистрировали снижение содержания мозгового нейротрофического фактора в сыворотке крови пациентов с геморрагическим инсультом через 1–3 часа от начала заболевания, которое достигло минимума к 14 суткам. Через 30 суток содержание мозгового нейротрофического фактора в сыворотке крови приблизилось к контрольным значениям.

Нейрон-специфическая енолаза характеризовалась незначимым повышением ее содержания как в остром, так и подостром периоде заболевания.

Содержание белка S-100 в сыворотке крови статистически значимо возросло в острейшем периоде геморрагического инсульта через 3 часа от начала заболевания и снизилось ниже контрольных значений в остром периоде через 7 суток. В интервале 14–30 суток (подострый период) содержание белка S-100 вновь возросло, превышая контрольный уровень.

Глиальный нейротрофический фактор характеризовался статистически значимым возрастанием его содержания в сыворотке крови в острейшем периоде геморрагического инсульта (через 3 часа после развития внутримозгового кровоизлияния). В интервале 7–30 суток (острый и подострый периоды заболевания) содержание глиального нейротрофического фактора приближалось к контрольным значениям.

Отметили также существенное и статистически значимое возрастание содержания фактора роста эндотелия сосудов в острейшем, остром и подостром периодах геморрагического инсульта.

Содержание супероксиддисмутазы статистически значимо возросло через 3 часа и 7 суток в острейшем и остром периоде начала заболевания. На 14-е сутки значение этого показателя снизилось, а затем вновь возросло через 30 суток от начала заболевания в подостром периоде геморрагического инсульта.

Содержание сиалированного углеводного антигена (KL-6) статистически значимо возросло (по сравнению с контрольной группой) в острейшем и подостром периодах геморрагического инсульта.

Последствия изменения содержания исследуемых молекулярных биомаркеров в сыворотке крови, отражающих процессы альте-

perimental studies showing that BDNF secreted by transplanted stem cells is one of the paracrine factors that play a major role in reducing severe brain damage caused by brain haemorrhage in newborn rats [18].

NSE is one of the structural variants of the enolase enzyme. NSE is present in all cells of a living organism and takes part in glycolysis. The enzyme is present in red blood cells, neuroendocrine cells as well as in neuronal cytoplasm and is one of the markers of brain damage and prognosis in stroke. Assessment of NSE in acute period of ischemic stroke is useful for monitoring the blood-brain barrier and predicting the transformation into hemorrhagic stroke [19]. The increase in the level of this enzyme is associated with irreversible neuronal damage resulting from abnormal metabolism and structural changes in cells [20]. Although the neuron-specific enolase does not help differentiate between ischemic and hemorrhagic strokes, it can be used to assess the degree of brain damage both in the first hours after the disease onset and later [21].

The S100 protein, a low-molecular calcium-binding protein, is mainly produced by glial cells (astrocytes) as well as by Schwann cells. The protein was given its name because of its ability to dissolve in 100% ammonium sulfate solution (pH 7.2). The protein S-100 has been studied in patients with various brain injuries, including trauma, stroke and subarachnoid hemorrhage [22]. The blood level of protein S100 has been shown to rise during the acute phase of stroke [23]. Proven correlations of S100B level in biological fluids in different CNS diseases allow using it as a marker of cognitive impairment as well as for monitoring the effectiveness of therapy [24]. The S100B concentration in blood is significantly higher in patients with intracranial hemorrhage or brain injury than in healthy subjects and in patients with hemorrhagic stroke. Therefore, this marker may be used to diagnose brain injury [25, 26].

GDNF is a protein, which is produced by astrocytes and is mainly present in them. GDNF participates in neurogenesis being a necessary factor for maintaining viability and functioning of neurons, stimulates axon growth, controls synapses formation, has a neuroprotective function by stimulating the expression of neuronal regeneration genes and blocking apoptosis by triggering cellular signal pathways that affect gene expression [27–29].

VEGF is a signal protein produced by cells to stimulate angiogenesis [30, 31]. VEGF increases vascular permeability, antithrombotic and anti-inflammatory properties of the endothelium, reduces the risk of endothelial alteration caused by damaging factors, has a neurotrophic and neuroprotective effect on CNS neurons and glial cells [32]. The vascular endothelial growth factor molecules bind to receptors on the surface of cells with tyrosinase activity, which are activated by transphosphorylation.

рации и регенерации в ЦНС при геморрагическом инсульте, связаны с их важной ролью в функционировании нейронов, клеток глии и эндотелия. В частности, BDNF — белок-нейротрофин, который стимулирует рост и репаративные процессы в нейронах, повышает их синаптическую пластичность, устойчивость к повреждающим факторам [12–14]. Стресс, травма, гипогликемия, ишемия мозга влияют на экспрессию BDNF [15]. Обнаружены некоторые механизмы синаптической пластичности. Так, BDNF микроглии стимулирует фосфорилирование нейронального киназного рецептора B, связанного с тропомиозином, являющегося ключевым медиатором синаптической пластичности (Miao H. et al 2018) [16]. Механизмы ингибирования пространственного обучения и способность к памяти у крыс при кровоизлиянии в мозг могут быть связаны со снижением мозговой экспрессии BDNF [17]. Это подтверждается экспериментальными исследованиями, свидетельствующими о том, что BDNF, секретируемый трансплантированными стволовыми клетками, является одним из паракринных факторов, играющим основную роль в ослаблении тяжелых повреждений головного мозга, вызванных кровоизлиянием в мозг у новорожденных крыс [18].

Нейронспецифическая енолаза (NSE) является одной из структурных разновидностей фермента енолазы. NSE присутствует во всех клетках живого организма и принимает участие в процессах гликолиза. Данный фермент находится в эритроцитах, нейроэндокринных клетках, а также в цитоплазме нейронов и является одним из маркеров повреждения головного мозга, а также одним из прогностически важных маркеров инсульта. Анализ NSE во время острого периода ишемического инсульта полезен для мониторинга состояния гематоэнцефалического барьера, а также прогнозирования его трансформации в геморрагический инсульт [19]. Повышение содержания данного фермента связывают с необратимыми повреждениями нейронов в результате нарушений метаболизма и структурных изменений клеток [20]. Показано, что нейрон-специфическая енолаза не позволяет дифференцировать ишемический и геморрагический инсульты, но важна для определения степени повреждения мозга как в первые часы, так и в динамике заболевания [21].

Белок S100 — низкомолекулярный кальций-связывающий белок в основном продуцируется клетками глии (астроцитами), а также шванновскими клетками. Название белка обусловлено его способностью растворяться в 100% растворе сульфата аммония (pH 7,2). Белок S-100 исследован у пациентов с различными повреждениями мозга, включая травмы,

In hypoxia, the hypoxia-induced factor causes release of VEGF proteins which bind to VEGF receptors on the endothelial surface and activate tyrosine kinase by triggering angiogenesis. Serum content of VEGF in hemorrhagic stroke patients increases and correlates with neurological deficit signs [33].

SOD belongs to the group of antioxidant enzymes and is one of the main systems of local free radical removal which is activated in acute and chronic CNS diseases [34, 35]. Its exogenous supply can serve as an effective prevention and treatment of some neurological diseases [36]. In an experimental model of hemorrhagic stroke, a flavonoid isoliquiritigen activated the antioxidant system (particularly, the superoxide dismutase) mediated by Nrf2, reduced neurological deficit, brain oedema, minimized neuronal and blood-brain barrier damage [37]. The main role in antioxidant protection is played by manganese dependent superoxide dismutase localised in mitochondria, where the main production of superoxide occurs [38].

KL-6 is part of the glycans that form the surface layer of cells called «glycocalyx». Glycocalyx is composed of sialylated proteoglycans. Its damage is seen in atherosclerosis, stroke, hypertension, trauma, ischemic and reperfusion injury, exposure to free radicals or endotoxins, and hyperglycemia. This leads to increased vascular permeability and worsens metabolic disorders [39, 40]. Damage to endothelial glycocalyx affects the permeability of blood vessels, their tone, coagulation, etc. Increased glycocalyx degradation products in blood might serve as a useful diagnostic and prognostic test in critical illness [41].

Mechanisms leading to changes in concentrations of serum molecular biomarkers in hemorrhagic stroke patients remain poorly studied. Recently, microRNAs, which represent a flexible network of gene expression regulators, have been recognized to play an important role in these processes. Particular attention is paid to several clusters of micro-RNA involved in neuroprotection (miR-124, miR-181, miR-21, miR-29, miR-210 and let7). Micro-RNA is considered a promising target for future stroke therapy [42].

The in vivo administration of miR-130a inhibitor or Micro-RNA simulator (miR-367, miR-223) improved neurological outcomes in an animal model of intracerebral hemorrhage [43]. In addition, the study showed that the plasma levels of circulating miR-181b, miR-223, miR-155 and miR-145 may serve as a potential non-invasive tool for the detection of hemorrhagic stroke [44].

Conclusion

Changes in serum levels of candidate molecular markers in patients with hemorrhagic stroke presumably reflect alteration and regeneration corre-

инсульт и субарахноидальное кровоизлияние [22]. Содержание белка S100 повышено в крови во время острой фазы инсульта [23]. Доказанные корреляции уровня S100B в биологических жидкостях при различных заболеваниях ЦНС позволяют использовать его как маркер когнитивных нарушений, а также для мониторинга эффективности проводимой терапии [24]. Содержание S100 в крови значительно выше у пациентов с внутричерепным кровоизлиянием, черепно-мозговой травмой, чем у здоровых людей и у пациентов с геморрагическим инсультом. В связи с этим, данный показатель может быть использован для диагностики черепно-мозговой травмы [25, 26].

Глиальный нейротрофический фактор (GDNF) — белок, который содержится преимущественно в астроцитах и является продуктом синтеза данных клеток. GDNF принимает участие в процессах нейрогенеза, является необходимым фактором для поддержания жизнеспособности и функционирования нейронов, стимулирует рост аксонов, контролирует образование синапсов, выполняет нейропротекторную функцию, стимулируя экспрессию генов нейрональной регенерации и блокируя апоптоз путем запуска сигнальных каскадов в клетке, влияющих на экспрессию генов [27–29].

Фактор роста эндотелия сосудов (VEGF) — сигнальный белок, вырабатываемый клетками для стимулирования ангиогенеза [30, 31]. VEGF повышает проницаемость сосудов, увеличивает антитромботические и противовоспалительные свойства эндотелия, снижает риск его альтерации при воздействии повреждающих факторов, оказывает нейротрофическое и нейропротективное воздействие на нейроны и клетки глии ЦНС [32]. Белки фактора роста эндотелия сосудов связываются с рецепторами на поверхности клеток, обладающих тирозиназной активностью, которые активируются в результате трансфосфорилирования. При гипоксии под влиянием фактора, индуцируемого гипоксией, высвобождаются белки VEGF, которые связываются с VEGF-рецепторами на поверхности эндотелия, активируют тирозинкиназу, запуская ангиогенез. Содержание VEGF в сыворотке крови у пациентов с геморрагическим инсультом возрастает и коррелирует с показателями неврологического дефицита [33].

Супероксиддисмутаза (SOD) относится к группе антиоксидантных ферментов и является одной из основных систем удаления свободных радикалов в месте их образования и активируется при острых и хронических заболеваниях ЦНС [34, 35]. Его экзогенное поступление может служить эффективным методом профилактики и лечения ряда неврологических заболеваний [36]. В экспериментальной модели гемор-

рагического инсульта флавоноид изоликуритин активировал антиоксидантную систему (в частности, супероксиддисмутаза), опосредованную Nrf2, уменьшал неврологический дефицит, отек мозга, минимизировал повреждения нейронов и гематоэнцефалического барьера [37]. Основную роль в антиоксидантной защите играет марганец-зависимая супероксиддисмутаза в связи с ее локализацией в митохондриях, где осуществляется основная продукция супероксида [38].

Сиалированный углеводный антиген (KL-6) входит в состав гликанов, образующих поверхностный слой клеток, получивший название «гликокаликс». В состав гликокаликса входят сиалированные протеоглики. При атеросклерозе, инсульте, гипертонической болезни, травме, ишемических и реперфузионных повреждениях, влиянии свободных радикалов, эндотоксина, гипергликемии отмечается повреждение гликокаликса. Это приводит к повышению проницаемости сосудов и усугубляет нарушение метаболизма [39, 40]. Повреждение гликокаликса эндотелия влияет на проницаемость сосудов, их тонус, коагуляцию и др. Повышение содержания в крови продуктов распада гликокаликса может быть полезным диагностическим и прогностическим тестом при критических состояниях [41].

Механизмы, ведущие к изменениям содержания молекулярных биомаркеров в сыворотке крови при геморрагическом инсульте, остаются недостаточно изученными. В последнее время считают, что важная роль в этих процессах принадлежит микро-РНК, которые представляют собой гибкую сеть регуляторов экспрессии генов. Особое внимание уделяется нескольким кластерам микро-РНК, участвующим в нейропротекции (miR-124, miR-181, miR-21, miR-29, miR-210 и let7). Микро-РНК рассматривается как многообещающая мишень будущей терапии инсульта [42].

Введение *in vivo* ингибитора miR-130a или имитатора Микро-РНК (miR-367, miR-223) на модели внутримозгового кровоизлияния на животных улучшало неврологические исходы [43]. Кроме этого, результаты исследования показали, что измерение содержания циркулирующих miR-181b, miR-223, miR-155 и miR-145 в образцах плазмы может служить потенциальным неинвазивным инструментом для обнаружения геморрагического инсульта [44].

Заключение

Динамика содержания кандидатных молекулярных маркеров в сыворотке крови пациентов с геморрагическим инсультом, вероятно, отражает процессы альтерации и регенерации, соответствующие стадиям заболевания. Использо-

зование данных кандидатных молекулярных биомаркеров, после соответствующей валидации, перспективно при комплексной диагностике, мониторинге лечения и реабилитационных мероприятий у данной категории пациентов.

Литература

1. Feigin V.L., Norrving B., Mensah G.A. Global Burden of Stroke. *Circulation Research*, 2017; 120 (3): 439-448. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.116.308413.
2. Liu C.H., Lin J.R., Liou C.W., Lee J.D., Peng T.I., Lee M., Lee T.H. Causes of Death in Different Subtypes of Ischemic and Hemorrhagic Stroke. *Angiology*. 2018. 69 (7): 582-590. DOI: 10.1177/0003319717738687
3. Мачинский П. А., Плотнокова Н. А., Ульянов В. Е., Кемайкин С. П., Рыбаков А. Г. Сравнительная характеристика показателей смертности и летальности от ишемического и геморрагического инсультов в России. *Медицинские науки. Патологическая анатомия*. 2019; 3 (51): 101-116. УДК 616-005. DOI: 10.21685/2072-3032-2019-3-10
4. Мустафин М.С., Новикова Л.Б., Аюпьян А.П., Шакиров Р.Р. Нейрохирургические аспекты геморрагического инсульта. *Анналы клинической и экспериментальной неврологии*. 2018; 12 (1): 19-23. DOI: 10.25692/ACEN.2018.1.3
5. Yabluchansky A.N. Leukocytes as markers of hemorrhagic stroke inflammatory nature. *Вестник Харьковского медицинского университета им. Каразина*. 2012; 23 (998): 10-22 УДК 616.831
6. Samavarchi Tehrani S., Khatami S.H., Saadat P., Sarfi M., Ahmadi Ahangar A., Daroie R., Firouzjahi A., Maniati M. Association of serum magnesium levels with risk factors, severity and prognosis in ischemic and hemorrhagic stroke patients. *Caspian J Intern Med*. 2020; 11 (1): 83-91. DOI: 10.22088/cjim.11.1.83.
7. Картавых И.А., Соколов А.В., Гребенникова И.В., Тумановский Ю.М. Патологическая, клиническая и лабораторная характеристика геморрагических и ишемических инсультов: ретроспективный анализ. *Международный студенческий научный вестник*. 2018; 4-4: 607-610. УДК: 616.831-005.1-07-0922
8. Нетесова Е.С., Нетесов Е.В. Нейрональные биомаркеры у пациентов с острой симптоматикой инсульта. *Медицинские науки (14.01.00 Клиническая медицина)*, 2016; 2: 4. УДК 616.831-005.1
9. Zheng L., Xiong Y., Liu J., Yang X., Wang L., Zhang S., Liu M., Wang D. MMP-9-Related microRNAs as Prognostic Markers for Hemorrhagic Transformation in Cardioembolic Stroke Patients. *Frontiers in Neurology*. 2019; 10: 945. DOI: 10.3389/fneur.2019.0094
10. Mingyi Chen, Xin Lin, David Nam, Lucy Ogbu-Nwobodo. Lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor (LOX-1) in sickle cell disease vasculopathy. *Blood Cells Molecules and Diseases*. 2016; 60 44-48. DOI: 10.1016/j.bcmd.2016.06.005
11. Sporek M., Dumnicka P., Gala-Bładziniska A. Determination of serum neutrophil gelatinase-associated lipocalin at the early stage of acute pancreatitis. *Folia Medica Cracoviensia*. 2016; 5: 16; ISSN 0015-5616 PMID: 28013317
12. Аляутдин Р.Н., Романов Б.К., Лепяхин В.К., Халин И.В., Бунятян Н.Д., Меркулов В.А., Миронов А.Н. Рекомбинантный нейротрофический фактор головного мозга: панацея для мозга? *Биопрепараты* 2014; 2: 22-30. УДК 615.21+615.033
13. Острова И.В., Аврущенко М.Ш., Голубев А.М., Голубева Н.В. Роль мозгового нейротрофического фактора BDNF и его рецептора TrkB в устойчивости нейронов гиппокампа к ишемии-реперфузии (экспериментальное исследование). *Общая реаниматология*. 2018. 14 (6): 41-50. DOI: 10.15360/1813-9779-2018-6-41-50.
14. Cohen Cory S., Kidane A.H., Shirkey, N.J., and Marshak, S. (2010) Brain derived neurotrophic factor and the development of structural neuronal connectivity. *Developmental Neurobiology*, 2010; 70, 271-288. DOI: 10.1002/dneu.20774.
15. Попова Н.К., Ильчибаева Т.В., Науменко В.С. Нейротрофические факторы (BDNF, GDNF) и серотоническая система мозга. *Биохимия*, 2017; 3: 449-459 УДК: 577.25
16. Parkhurst C.N., Yang G., Ninan L., Savas J. N., Yates J.R., La faille J.J., Hempstead B. L., Littman D.R., Gan W.B. Microglia promote learning-dependent synapse formation through brain-derived neurotrophic factor. *Cell*. 2013. 155 (7): 1596-1609. DOI: 10.1016/j.cell.2013.11.030.
17. Guo Y.C., Song X.K., Xu Y.F., Ma J.B., Zhang J.J., Han P.J. The expression and mechanism of BDNF and NGB in perihematomal tissue in rats with intracerebral hemorrhage. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*. 2017; 21 (15): 3452-3458. DOI: 10.26355/eur-rev_202003_20551
18. Ahn S.Y., Chang Y.S., Sung D.K., Sung S.I., Ahn J.Y., Park W.S. Pivotal Role of Brain-Derived Neurotrophic Factor Secreted by Mesenchymal Stem Cells in Severe Intraventricular Hemorrhage in Newborn Rats. *Cell Transplantation*. 2017; 26 (1): 145-156. DOI: 10.3727/096368916X692861.
19. Kim B.J., Kim Y.J., Ahn S.H., Kim N.Y., Kang D.W., Kim J.S., Kwon S.U. The second elevation of neuron-specific enolase peak after ischemic stroke is associated with hemorrhagic transformation. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases*. 2014; 23 (9): 2437-2443. DOI: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2014.05.020.
20. Жукова И.А., Алифиров В.М., Жукова Н.Г. Нейронспецифическая енолаза как неспецифический маркер нейродегенератив-

References

1. Feigin V.L., Norrving B., Mensah G.A. Global Burden of Stroke. *Circulation Research*. 2017; 120 (3): 439-448. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.116.308413.
2. Liu C.H., Lin J.R., Liou C.W., Lee J.D., Peng T.I., Lee M., Lee T.H. Causes of Death in Different Subtypes of Ischemic and Hemorrhagic Stroke. *Angiology*. 2018. 69 (7): 582-590. DOI: 10.1177/0003319717738687
3. Machinskij P.A., Plotnikova N.A., Ulyankin V.E., Kemajkin S.P., Rybakov A.G. Comparative characteristics of mortality and mortality from ischemic and hemorrhagic strokes in Russia. *Meditsinskie nauki. Patologicheskaya anatomiya*. 2019; 3 (51): 101-116 [In Russ.]. DOI: 10.21685/2072-3032-2019-3-10
4. Mustafin M.S., Novikova L.B., Akopyan A.P., Shakirov R.R. Neurosurgical aspects of hemorrhagic stroke. *Annaly klinicheskoy i eksperimentalnoy neurologii*. 2018; 12 (1): 19-23 [In Russ.]. DOI: 10.25692/ACEN.2018.1.3
5. Yabluchansky A.N. Leukocytes as markers of hemorrhagic stroke inflammatory nature. *Vestnik Harkovskogo meditsinskogo universiteta im. Karazina*. 2012; 23 (998): 10-22 УДК 616.831 [In Russ., In Ukr.]
6. Samavarchi Tehrani S., Khatami S.H., Saadat P., Sarfi M., Ahmadi Ahangar A., Daroie R., Firouzjahi A., Maniati M. Association of serum magnesium levels with risk factors, severity and prognosis in ischemic and hemorrhagic stroke patients. *Caspian J Intern Med*. 2020; 11 (1): 83-91. DOI: 10.22088/cjim.11.1.83.
7. Kartavyh I.A., Sokolov A.V., Grebennikova I.V., Tumanovskiy Yu.M. Pathophysiological, clinical and laboratory characteristics of hemorrhagic and ischemic strokes: a retrospective analysis. *Mezhdunarodnyy studencheskiy nauchnyy vestnik*. 2018; 4-4: 607-610 [In Russ.]. УДК: 616.831-005.1-07-0922
8. Netesova E.S., Netesov E.V. Neuronal biomarkers in patients with acute stroke symptoms. *Meditsinskie nauki (15.01.00 Klinicheskaya meditsina)*, 2016; 2: 4 [In Russ.]. УДК 616.831-005.1
9. Zheng L., Xiong Y., Liu J., Yang X., Wang L., Zhang S., Liu M., Wang D. MMP-9-Related microRNAs as Prognostic Markers for Hemorrhagic Transformation in Cardioembolic Stroke Patients. *Frontiers in Neurology*. 2019; 10: 945. DOI: 10.3389/fneur.2019.0094
10. Mingyi Chen, Xin Lin, David Nam, Lucy Ogbu-Nwobodo. Lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor (LOX-1) in sickle cell disease vasculopathy. *Blood Cells Molecules and Diseases*. 2016; 60 44-48. DOI: 10.1016/j.bcmd.2016.06.005
11. Sporek M., Dumnicka P., Gala-Bładziniska A. Determination of serum neutrophil gelatinase-associated lipocalin at the early stage of acute pancreatitis. *Folia Medica Cracoviensia*. 2016; 5: 16; ISSN 0015-5616 PMID: 28013317
12. Alyautdin R.N., Romanov B.K., Lepahin V.K., Halin I.V., Bunyatyan N.D., Merkulov V.A., Mironov A.N. Recombinant neurotrophic factor of the brain: a panacea for the brain? *Biopreparaty*. 2014; 2: 22-30 [In Russ.]. УДК 615.21+615.033
13. Ostrova I.V., Avrushchenko M.S., Golubev A.M., Golubeva N.V. The Contribution of Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) and its TrkB Receptor to Hippocampal Neuron Resistance to Ischemia-Reperfusion (Experimental Study). *General Reanimatology=Obshchaya Reanimatologiya*. 2018; 14 (6): 41-50. [In Russ.]. DOI: 10.15360/1813-9779-2018-6-41-50.
14. Cohen Cory S., Kidane A.H., Shirkey, N.J., and Marshak, S. (2010) Brain derived neurotrophic factor and the development of structural neuronal connectivity. *Developmental Neurobiology*, 2010; 70, 271-288. DOI: 10.1002/dneu.20774.
15. Popova N.K., Ilchibaeva T.V., Naumenko V.S. Neurotrophic factors (BDNF, GDNF) and the serotonergic system of the brain. *Biokhimiya*. 2017; 3: 449-459 [In Russ.] УДК: 577.25
16. Parkhurst C.N., Yang G., Ninan L., Savas J. N., Yates J.R., La faille J.J., Hempstead B. L., Littman D.R., Gan W.B. Microglia promote learning-dependent synapse formation through brain-derived neurotrophic factor. *Cell*. 2013. 155 (7): 1596-1609. DOI: 10.1016/j.cell.2013.11.030.
17. Guo Y.C., Song X.K., Xu Y.F., Ma J.B., Zhang J.J., Han P.J. The expression and mechanism of BDNF and NGB in perihematomal tissue in rats with intracerebral hemorrhage. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*. 2017; 21 (15): 3452-3458. DOI: 10.26355/eur-rev_202003_20551
18. Ahn S.Y., Chang Y.S., Sung D.K., Sung S.I., Ahn J.Y., Park W.S. Pivotal Role of Brain-Derived Neurotrophic Factor Secreted by Mesenchymal Stem Cells in Severe Intraventricular Hemorrhage in Newborn Rats. *Cell Transplantation*. 2017; 26 (1): 145-156. DOI: 10.3727/096368916X692861.
19. Kim B.J., Kim Y.J., Ahn S.H., Kim N.Y., Kang D.W., Kim J.S., Kwon S.U. The second elevation of neuron-specific enolase peak after ischemic stroke is associated with hemorrhagic transformation. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases*. 2014; 23 (9): 2437-2443. DOI: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2014.05.020.
20. Zhukova I.A., Alifirova V.M., Zhukova N.G. Neuron-specific enolase as a non-specific marker of a neurodegenerative process. *Byulleten*

- ного процесса. *Бюллетень сибирской медицины*, 2011; 2: 15–21. УДК 616.8: 612.818.91: 577.151/.152
21. Топузова М.П., Алексеева Т.М., Панина Е.Б., Вавилова Т.В., Ковзев П.Д., Портник О.А., Скоромец А.А. Возможность использования нейрон-специфической енолазы в качестве биомаркера в остром периоде инсульта. *Журнал неврологии и психиатрии им С. С. Корсакова*. 2019; 119 (8. Вып. 2): 53–62. DOI: 10.17116/jnevro201911908253.
 22. Michetti F, D'Ambrosi N, Toesca A, Puglisi M.A., Serrano A., Marchese E., Corvino V, Geloso M.C. The S100B story: from biomarker to active factor in neural injury. *The Journal of Neurochemistry* 2019; 148 (2): 168–187. DOI: 10.1111/jnc.14574.
 23. He Y, Cai Z., Chen Y. Role of S-100 β in stroke. *International Journal of neuroscience* 2018; 128 (12): 1180–1187. DOI: 10.1080/00207454.2018.1481065.
 24. Нечунаева Е.В., Шумахер Г.И., Воробьева Е.Н. и др. Иммунобиохимические показатели в ранней диагностике хронической ишемии головного мозга. *Бюллетень сибирской медицины*. 2011; 2: 142–146. УДК 616.831-005.4-002.2-072: 612.015/.017
 25. Aydyñ I., Algýn A., Poyraz M.K., Yumrutas O. Diagnostic value of serum glial fibrillary acidic protein and S100B serum levels in emergency medicine patients with traumatic versus nontraumatic intracerebral hemorrhage. *Nigerian journal of clinical practice*, 2018; 21 (12): 1645–1650. DOI: 10.4103/njcp.njcp_431_17.
 26. Zhou S., Bao J., Wang Y., Pan S. S100 β as a diomarker for differential diagnosis of intracerebral hemorrhage and ischemic stroke. *Journal of Neurology Research* 2016; 38 (4): 327–332. DOI: 10.1080/01616412.2016.1152675.
 27. Шишкина Т.В., Ведунова М.В. Мищенко Т. А. Роль глияльного нейротрофического фактора в функционировании нервной системы (обзор). *Современные технологии в медицине*. 2015; 4 211–220. DOI: 10.17691/stm2015.7.4.27 УДК 612.81: 616.8–002–056.7
 28. Куракина А.С., Григорьева В.Н. Роль глияльного нейротрофического фактора в норме и при патологии нервной системы (обзор); *Медицина и фармакология: электронный научный журнал*; 2016; 10 (32): 4–10. URL: <http://7universum.com/ru/med/archive/item/3749>
 29. Ibáñez C.E., Andressoo J.O. Biology of GDNF and its receptors — Relevance for disorders of the central nervous system. *Neurobiology of Disease*, 2017; 97 (Pt B): 80–89. DOI: 10.1016/j.nbd.2016.01.021.
 30. Belgore F.M., Blann A.D., Li-Saw-Hee F.L. Plasma level of vascular endothelial growth factor and its soluble receptor (sFlt-1) in essential hypertension. *Amer. J. Cardiology*, 2001; 87: 805–807.
 31. Leung D.W. Vascular endothelial growth factor is a secreted angiogenic mitogen. *Science*, 1989; 246 (4935): 1306–1309. DOI: 10.1126/science.2479986
 32. Theis V., Theiss C. VEGF — A Stimulus for Neuronal Development and Regeneration in the CNS and PNS. *Current Protein and Peptide Science* 2018; 19 (6): 589–597. DOI: 10.2174/1389203719666180104113937.
 33. Yang G., Shao G.F. Elevated serum IL-11, TNF α , and VEGF expressions contribute to the pathophysiology of hypertensive intracerebral hemorrhage (HICH). *Journal of the Neurological Sciences*, 2016; 37 (8): 1253–1259. DOI: 10.1007/s10072-016-2576-z.
 34. Spranger M., Krepien S. Superoxide Dismutase Activity in Serum of Patients With Acute Cerebral Ischemic Stroke; 1997; 28: 2425–2428. DOI: 10.1161/01.STR.28.12.2425
 35. Пушклина Т.А., Токаев Э.С., Попова Т.С., Бородин Е.Н. Супероксид-дисмутаза в составе антиоксидантной терапии: состояние вопроса и перспективы (обзор литературы). *Журнал им. Н.В. Склифосовского «Неотложная медицинская помощь»*. 2016; 4: 42–47.
 36. Davis S.M., Pennypacker K.R. Targeting antioxidant enzyme expression as atherapeutic strategy for ischemic stroke. *Neurochemistry international*. 2017; 107: 23–32. DOI: 10.1016/j.neuint.2016.12.007
 37. Zeng J., Chen Y., Ding R., Feng L. Fu Z., Yang S., Deng X., Xie Z., Zheng S. Isoliquiritigenin alleviates early brain injury after experimental intracerebral hemorrhage via suppressing ROS- and/or NF- κ B-mediated NLRP3 inflammasome activation by promoting Nrf2 antioxidant pathway. *Journal of Neuroinflammation* 2017; 14 (1): 119. DOI: 10.1186/s12974-017-0895-5.
 38. Bresciani G., da Cruz I.B., González-Gallego J. Manganese superoxide dismutase and oxidative stress modulation. *Advances in clinical chemistry*, 2015; 68: 87–130. DOI: 10.1016/bs.acc.2014.11.001.
 39. Tarbell J.M., Cancel L.M. The glycocalyx and its significance in human medicine. *Journal of Internal Medicine*. 2016; 280 (1): 97–113. DOI: 10.1111/joim.12465.
 40. Pillinger N.L., Kam P. Endothelial glycocalyx: basic science and clinical implications. *Anaesthesia and Intensive Care Medicine*, 2017; 45 (3): 295–307. DOI: 10.1177/0310057X1704500305
 41. Gaudette S., Hughes D., Boller M. The endothelial glycocalyx: Structure and function in health and critical illness. *Journal of veterinary emergency and critical care*, 2020; 18. DOI: 10.1111/vec.12925.
 42. Jolana L., Kamil D. The Role of microRNA in Ischemic and Hemorrhagic Stroke. *Curr Drug Deliv*. 2017; 14 (6): 816–831. DOI: 10.2174/1567201813666160919142212.
 43. Martinez B., Peplow P.V. Blood microRNAs as potential diagnostic markers for hemorrhagic stroke. *Neural Regen Res*. 2017; 12 (1): 13–18. DOI: 10.4103/1673-5374.198965.
 44. Gareev I., Yang G., Sun J., Beylerli O., Chen X., Zhang D., Zhao B., Zhang R., Sun Z., Yang Q., Li L., Pavlov V., Safin S., Zhao S. Circulating MicroRNAs as Potential Noninvasive Biomarkers of Spontaneous Intracerebral Hemorrhage. *World Neurosurg*. 2020; 133: e369–e375. DOI: 10.1016/j.wneu.2019.09.016.
 - sibirskoj meditsiny*, 2011; 2: 15–21 [In Russ.]. УДК 616.8: 612.818.91: 577.151/.152
 21. Topuzova M.P., Alekseeva T.M., Panina E.B., Vavilova T.V., Kovzelev P.D., Portik O.A., Skoromets A.A. The possibility of using neuron-specific enolase as a biomarker in the acute period of stroke. *Zhurnal neurologii i psikiatrii im S. S. Korsakova*. 2019; 119 (8. Vol. 2): 53–62 [In Russ.]. DOI: 10.17116/jnevro201911908253.
 22. Michetti F, D'Ambrosi N, Toesca A, Puglisi M.A., Serrano A., Marchese E, Corvino V, Geloso M.C. The S100B story: from biomarker to active factor in neural injury. *The Journal of Neurochemistry* 2019; 148 (2): 168–187. DOI: 10.1111/jnc.14574.
 23. He Y, Cai Z., Chen Y. Role of S-100 β in stroke. *International Journal of neuroscience* 2018; 128 (12): 1180–1187. DOI: 10.1080/00207454.2018.1481065.
 24. Nchunaeva E.V., Shumacher G.I., Vorobeva E.N. Immunobiochemical parameters in the early diagnosis of chronic cerebral ischemia. *Byulleten sibirskoj meditsiny*. 2011; 2: 142–146 [In Russ.]. UDC 616.831-005.4-002.2-072: 612.015/.017
 25. Aydyñ I., Algýn A., Poyraz M.K., Yumrutas O. Diagnostic value of serum glial fibrillary acidic protein and S100B serum levels in emergency medicine patients with traumatic versus nontraumatic intracerebral hemorrhage. *Nigerian journal of clinical practice*, 2018; 21 (12): 1645–1650. DOI: 10.4103/njcp.njcp_431_17.
 26. Zhou S., Bao J., Wang Y., Pan S. S100 β as a diomarker for differential diagnosis of intracerebral hemorrhage and ischemic stroke. *Journal of Neurology Research* 2016; 38 (4): 327–332. DOI: 10.1080/01616412.2016.1152675.
 27. Shishkina T.V., Vedunova M.V. Mishchenko T.A. The role of glial neurotrophic factor in the functioning of the nervous system (review). *Sovremennye tekhnologii v meditsine*. 2015; 4 211–220 [In Russ.]. DOI: 10.17691/stm2015.7.4.27 УДК 612.81: 616.8–002–056.7
 28. Kurakina A.S., Grigoreva V.N. The role of glial neurotrophic factor in normal and pathological conditions of the nervous system (review). *Meditsina i farmakologiya: elektronnyj nauchnyj zhurnal*. 2016; 10 (32) 4–10. URL: <http://7universum.com/ru/med/archive/item/3749>
 29. Ibáñez C.E., Andressoo J.O. Biology of GDNF and its receptors — Relevance for disorders of the central nervous system. *Neurobiology of Disease*, 2017; 97 (Pt B): 80–89. DOI: 10.1016/j.nbd.2016.01.021.
 30. Belgore F.M., Blann A.D., Li-Saw-Hee F.L. Plasma level of vascular endothelial growth factor and its soluble receptor (sFlt-1) in essential hypertension. *Amer. J. Cardiology*, 2001; 87: 805–807.
 31. Leung D.W. Vascular endothelial growth factor is a secreted angiogenic mitogen. *Science*, 1989; 246 (4935): 1306–1309. DOI: 10.1126/science.2479986
 32. Theis V., Theiss C. VEGF — A Stimulus for Neuronal Development and Regeneration in the CNS and PNS. *Current Protein and Peptide Science* 2018; 19 (6): 589–597. DOI: 10.2174/1389203719666180104113937.
 33. Yang G., Shao G.F. Elevated serum IL-11, TNF α , and VEGF expressions contribute to the pathophysiology of hypertensive intracerebral hemorrhage (HICH). *Journal of the Neurological Sciences*, 2016; 37 (8): 1253–9. DOI: 10.1007/s10072-016-2576-z. ²
 34. Spranger M., Krepien S. Superoxide Dismutase Activity in Serum of Patients With Acute Cerebral Ischemic Stroke; 1997; 28: 2425–2428. DOI: 10.1161/01.STR.28.12.2425
 35. Pushkina T.A., Tokayev E.S., Popova T.S., Borodina E.N. Superoxide dismutase as a component of antioxidant therapy: current state of the issue and prospects. a literature review. *Russian Sklifosovsky Journal «Emergency Medical Care»*. 2016; 4: 42–47. 2016; (4): 42–47 [In Russ.].
 36. Davis S.M., Pennypacker K.R. Targeting antioxidant enzyme expression as atherapeutic strategy for ischemic stroke. *Neurochemistry international*. 2017; 107: 23–32. DOI: 10.1016/j.neuint.2016.12.007
 37. Zeng J., Chen Y., Ding R., Feng L. Fu Z., Yang S., Deng X., Xie Z., Zheng S. Isoliquiritigenin alleviates early brain injury after experimental intracerebral hemorrhage via suppressing ROS- and/or NF- κ B-mediated NLRP3 inflammasome activation by promoting Nrf2 antioxidant pathway. *Journal of Neuroinflammation* 2017; 14 (1): 119. DOI: 10.1186/s12974-017-0895-5.
 38. Bresciani G., da Cruz I.B., González-Gallego J. Manganese superoxide dismutase and oxidative stress modulation. *Advances in clinical chemistry*, 2015; 68: 87–130. DOI: 10.1016/bs.acc.2014.11.001.
 39. Tarbell J.M., Cancel L.M. The glycocalyx and its significance in human medicine. *Journal of Internal Medicine*. 2016; 280 (1): 97–113. DOI: 10.1111/joim.12465.
 40. Pillinger N.L., Kam P. Endothelial glycocalyx: basic science and clinical implications. *Anaesthesia and Intensive Care Medicine*, 2017; 45 (3): 295–307. DOI: 10.1177/0310057X1704500305
 41. Gaudette S., Hughes D., Boller M. The endothelial glycocalyx: Structure and function in health and critical illness. *Journal of veterinary emergency and critical care*, 2020; 18. DOI: 10.1111/vec.12925.
 42. Jolana L., Kamil D. The Role of microRNA in Ischemic and Hemorrhagic Stroke. *Curr Drug Deliv*. 2017; 14 (6): 816–831. DOI: 10.2174/1567201813666160919142212.
 43. Martinez B., Peplow P.V. Blood microRNAs as potential diagnostic markers for hemorrhagic stroke. *Neural Regen Res*. 2017; 12 (1): 13–18. DOI: 10.4103/1673-5374.198965.
 44. Gareev I., Yang G., Sun J., Beylerli O., Chen X., Zhang D., Zhao B., Zhang R., Sun Z., Yang Q., Li L., Pavlov V., Safin S., Zhao S. Circulating MicroRNAs as Potential Noninvasive Biomarkers of Spontaneous Intracerebral Hemorrhage. *World Neurosurg*. 2020; 133: e369–e375. DOI: 10.1016/j.wneu.2019.09.016.

Received 02.03.2020

Поступила 02.03.2020

Усвоение сердцем ритма блуждающего нерва у больных с пароксизмальной фибрилляцией предсердий

А. А. Нечепуренко¹, В. М. Покровский², Д. Г. Тарасов¹,
И. З. Китиашвили³, В. Г. Абушкевич²

¹ Федеральный центр сердечно-сосудистой хирургии Минздрава России, Россия, Астраханская обл., 414011, г. Астрахань, ул. Покровская роща, д. 4.

² Кубанский государственный медицинский университет Россия, Краснодарский край, 350063, г. Краснодар, ул. Митрофана Седина, д. 4.

³ Астраханский государственный медицинский университет Россия, Астраханская обл., 414000, г. Астрахань, Бакинская, д. 121

Hearing the Vagus Nerve's Rhythm in Patients with Paroxysmal Atrial Fibrillation

Anatoly A. Nechepurenko¹, Vladimir M. Pokrovsky², Dmitriy G. Tarasov¹,
Heraclius Z. Kitiashvili³, Valery G. Abushkevich²

¹ Federal Center for Cardiovascular Surgery, Ministry of Health of Russia, 4 Pokrovskaya Rostcha Str., Astrakhan, 414011, Russia

² Kuban State Medical University, 4 Sedin Str., Krasnodar, 350063 Russia

³ Astrakhan State Medical University, 121 Bakinskaya Str., Astrakhan, 414000, Russia

Для цитирования: Нечепуренко, В.М. Покровский, Д.Г. Тарасов, И.З. Китиашвили, В.Г. Абушкевич. Усвоение сердцем ритма блуждающего нерва у больных с пароксизмальной фибрилляцией предсердий. *Общая реаниматология*. 2020; 16 (3): 46–53. DOI: 10.15360/1813-9779-2020-3-46-53 [На русск. и англ.]

For citation: Anatoly A. Nechepurenko, Vladimir M. Pokrovsky, Dmitriy G. Tarasov, Heraclius Z. Kitiashvili, Valery G. Abushkevich. Hearing the Vagus Nerve's Rhythm in Patients with Paroxysmal Atrial Fibrillation. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2020; 16 (3): 46–53. DOI: 10.15360/1813-9779-2020-3-46-53 [In Russ. and Engl.]

Резюме

Цель исследования: оценить усвоение сердцем ритма блуждающего нерва у пациентов с пароксизмальной фибрилляцией предсердий

Материалы и методы. Наблюдения выполнили у 50 пациентов с пароксизмальной фибрилляцией предсердий, поступивших на катетерное лечение аритмии. Вне приступа фибрилляции предсердий, при синусовом ритме, с помощью прибора ВНС-Микро и компьютерной программы для определения уровня регуляторно-адаптивного статуса организма человека проводили пробу сердечно-дыхательного синхронизма. Проводили картирование зоны ранней деполяризации в правом предсердии при помощи циркулярный навигационный 20-ти полюсный LASSO NAV. С помощью системы Carto-3 строили электроанатомическую изохронную модель правого предсердия на синусовом ритме. Применяли автоматический метод аннотации точек модуля CONFIDENCE. Устанавливали не менее 500 активационных точек в правом предсердии. Данные наблюдений и расчетные величины при нормальном распределении обрабатывали параметрическими методами статистики, с использованием программ: «STATISTICA 10,0».

Результаты. Установили, что у лиц с низкими регуляторно-адаптивными возможностями длительность анамнеза фибрилляции предсердий составила $5,8 \pm 0,7$ лет, при хороших и удовлетворительных возможностях — $2,9 \pm 0,5$ лет. Коэффициент корреляции между площадью зоны ранней деполяризации в правом предсердии и длительностью заболевания по Пирсону равен 0,92.

Заключение. Длительность фибрилляции предсердий коррелирует с регуляторно-адаптивным статусом и площадью зоны ранней деполяризации в правом предсердии.

Ключевые слова: блуждающий нерв; пароксизмальная фибрилляция предсердий

Summary

Purpose of the study: to evaluate hearing the vagus nerve's rhythm in patients with paroxysmal atrial fibrillation.

Адрес для корреспонденции:

Ираклий Зурабович Китиашвили
E-mail: agma@astranet.ru

Correspondence to:

Irakli Z. Kitiashvili
E-mail: agma@astranet.ru

Materials and methods. Observations were carried out in 50 patients with paroxysmal atrial fibrillation who were admitted for catheter-based treatment of arrhythmia. Cardiorespiratory synchronism test was carried out not in atrial fibrillation attack during sinus rhythm with the help of VNS-Micro instrument and software determining the regulatory adaptive status of the human body. The early depolarization zone in the right atrium was mapped using circulatory navigation 20-pole LASSO NAV. Carto-3 system was used to build an electro-anatomic isochronous model of sinus rhythm of the right atrium. The automatic method of annotation of CONFIDENCE module points was applied. At least 500 activation points in the right atrium were set. The observational data and computed values, subject to normal distribution, were processed by parametric statistic techniques using STATISTICA 10.0 software.

Results. It has been established that in subjects with low regulatory adaptive capabilities, the length of atrial fibrillation anamnesis amounted to 5.8 ± 0.7 years, and in case of good and satisfactory capabilities — 2.9 ± 0.5 years. The Pearson correlation coefficient between the area of early depolarization zone in the right atrium and disease duration was equal to 0.92.

Conclusion. The length of atrial fibrillation correlates with the regulatory adaptive status and area of the early depolarization zone in the right atrium.

Keywords: *vagus nerve; paroxysmal atrial fibrillation*

DOI: 10.15360/1813-9779-2020-3-46-53

Введение

Наиболее частым нарушением сердечного ритма является фибрилляция предсердий. Главная опасность фибрилляции предсердий — кардиогенные тромбоэмболии с увеличением риска развития инсульта в 4–5 раз [1–4]. Приблизительно 15% всех ишемических инсультов в зрелом возрасте обусловлены фибрилляцией предсердий, а в возрасте 80–89 лет — 24% [1]. Фибрилляция предсердий является критическим состоянием, требующим эффективного лечения пациента. Часто такие больные попадают в реанимационные отделения.

Лечение фибрилляции предсердий лекарственными препаратами является не всегда эффективным [5]. Поэтому ведется поиск иных методов терапии.

В тех случаях, когда антиаритмические препараты оказываются малоэффективными, в некоторых случаях применяют радиочастотную абляцию устьев легочных вен [7, 8]

Другим методом является электростимуляция блуждающего нерва, предложенная для лечения фармакорезистивной эпилепсии и депрессии [9–11], и нашедшая свое применение в кардиологии, в частности, при лечении пароксизмальной фибрилляции предсердий [12–14]. Эффект электростимуляции блуждающего нерва объясняют тем, что она подавляет активность звездчатого ганглия и приводит к снижению частоты фибрилляции предсердий [15]. Таким образом, стимуляция блуждающего нерва подавляет фибрилляцию предсердий [16].

С позиций традиционных представлений это объясняется следующим образом. Повышение активности симпатической системы приводит к укорочению потенциалов действия, что в свою очередь, способствует возбуждению по типу повторного входа и разви-

Introduction

The most frequent heart rhythm disorder is the atrial fibrillation. The main danger of atrial fibrillation is cardiogenic thromboembolism with 4–5-fold rise of the risk of stroke [1–4]. Approximately 15% of all ischemic strokes at a mature age are caused by atrial fibrillation, and 24% — at an age of 80–89 years [1]. Atrial fibrillation is a critical condition that requires effective patient management. Such patients are often admitted to ICU.

Treatment of atrial fibrillation with medicinal drugs is not always effective [5]. Hence, other therapeutic methods are sought.

In cases when anti-arrhythmia drugs turn to have poor efficacy, radiofrequency ablation of pulmonary vein entries is applied [7, 8]

Another method is electric stimulation of vagus nerve that was suggested as a treatment of pharmacoresistent epilepsy and depression [9–11], and has been employed in cardiology, specifically, in treatment of paroxysmal atrial fibrillation [12–14]. The effect of vagus nerve electrical stimulation is explained by the fact that it suppresses the stellate ganglion activity and leads to reduced frequency of atrial fibrillation [15]. Therefore, vagus nerve stimulation suppresses atrial fibrillation [16].

From a viewpoint of conventional conceptions, it is explained as follows. Increase of the sympathetic system activity results in action potential shortening, which, in turn, assists excitation of the type of re-entry and development of early post-depolarization during the third phase by means of diastolic increase of intracellular calcium [17, 18].

Vagus nerve stimulation by low-voltage current below the threshold that caused heart rhythm slowing down and prolongation of the effective refractory period reduces the sympathetic system ability to cause atrial fibrillation [12]. These data are based on classical conceptions concerning tonic influence of vagus nerve on heart rhythm. At the

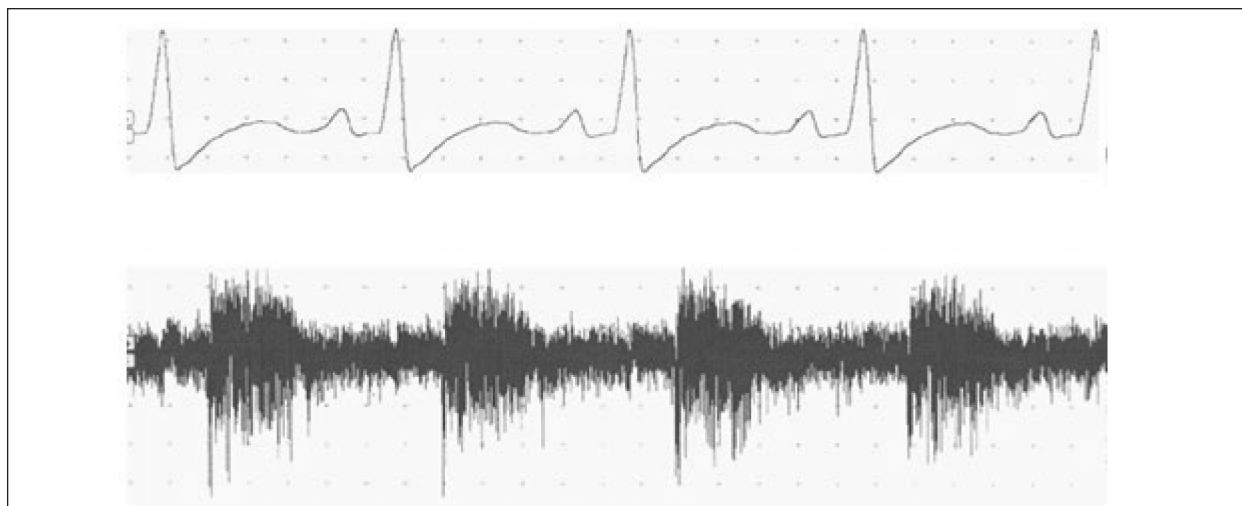


Рис. 1. Залпы нервных импульсов в блуждающем нерве, приуроченные к ритму сердца кошки при поверхностном наркозе (данные собственных наблюдений).

Верхняя запись — ЭКГ. Нижняя запись — нейрограмма блуждающего нерва.

Fig. 1. Volleys of nerve impulses in the vagus nerve, confined to the rhythm of the heart of a cat with superficial anesthesia (data of own observations).

The top record is an ECG. Lower entry — vagus nerve neurogram.

тию ранней постдеполяризации в третью фазу путем диастолического увеличения внутриклеточного кальция [17, 18].

Стимуляция блуждающего нерва низковольтным током ниже порога, который вызывал замедления ритма сердца, повышение эффективного рефрактерного периода, снижает способность симпатической системы вызывать фибрилляцию предсердий [12]. Эти данные построены на классических представлениях о тоническом влиянии блуждающего нерва на сердечный ритм. В то же время естественная импульсация в сердечных волокнах блуждающего нерва носит залповый характер, что видно на рис. 1.

В связи с этим заслуживают внимания представления об иерархической системе ритмогенеза сердца, согласно которым ритм сердца в естественных условиях в целостном организме зарождается в головном мозге в форме залпов нервных импульсов, по блуждающим нервам передается к синоатриальному узлу, воспринимается им и воспроизводится в виде синусового ритма. При подавлении генерации ритма сердца в головном мозге (наркоз) или блокаде проведения возбуждения по блуждающим нервам, а также изоляции сердца (при трансплантации) включается внутрисердечный генератор ритма сердца (пейсмейкер синоатриального узла) [19].

Таким образом, выявление и оценка восприятия ритма блуждающего нерва сердцем является актуальной.

Установить факт усвоения сердцем ритма головного мозга через блуждающие нервы можно при помощи функциональной пробы

same time, natural impulsing in vagus nerve's cardiac fibers has the nature of volleys as one can see on fig. 1.

In this connection, it is worth noting the conceptions about the hierarchic system of heart rhythm genesis according to which heart rhythm in natural conditions in an intact body originates in the brain as volleys of nerve impulses, is transferred via vagus nerves to the sinoatrial node, perceived by the latter, and reproduced as a sinus rhythm. When the heart rhythm generation in the brain is suppressed (narcosis) or conduction of excitation via vagus nerves is blocked (for example, in the case of a heart isolation during transplantation), the intracardiac generator of heart rhythm (sinoatrial node pacemaker) is triggered [19].

Therefore, identification and evaluation of hearing of the vagus nerve rhythm by heart is relevant.

The fact of assimilation of the brain rhythm by the heart via vagus nerves can be established with the help of the functional test for cardiorespiratory synchronism [20, 21] and through increase of early depolarization zone in the right atrium [22].

Purpose of the study — to evaluate cardiac assimilation of the vagus nerve's rhythm in patients with paroxysmal atrial fibrillation and not in attack — during sinus rhythm.

Materials and Methods

Observations were carried out in 50 patients admitted for catheter-based treatment of paroxysmal atrial fibrillation to the unit of surgical treatment of complex heart rhythm disorders and electrocardiostimulation of the Federal State Budgetary Institution Federal Center for Cardiovascular Surgery of the Ministry of Health of Rus-

сердечно-дыхательного синхронизма [20, 21] и через увеличение зоны ранней деполяризации в правом предсердии [22].

Цель работы — оценить усвоение сердцем ритма блуждающего нерва у пациентов с пароксизмальной фибрилляцией предсердий вне приступа — при синусовом ритме.

Материал и методы

Наблюдения выполнили у 50 пациентов, поступивших на катетерное лечение пароксизмальной фибрилляции предсердий в отделение хирургического лечения сложных нарушений ритма сердца и электрокардиостимуляции ФГБУ «Федеральный центр сердечно-сосудистой хирургии» Минздрава России г. Астрахань. После абляции пациенты сутки находились в реанимационном отделении, а затем переводились до выписки в общие палаты.

Вне приступа фибрилляции предсердий, при синусовом ритме, с помощью прибора ВНС-Микро (ООО «Нейрософт», г. Иваново) и компьютерной программы для определения уровня регуляторно-адаптивного статуса организма человека [23] проводили пробу сердечно-дыхательного синхронизма (СДС). После записи исходных пневмограммы и ЭКГ испытуемому предлагали дышать в такт появляющейся на мониторе команде «Выдох», которая задавалась компьютером по специально созданной программе. Продолжительность пробы составляла 60 секунд. Автоматически устанавливалось наличие или отсутствие синхронизации между заданным ритмом дыхания и сердцебиением. При первой пробе задавали частоту на 5% ниже исходного ритма. Через несколько минут после ее окончания, необходимых пациенту для восстановления частоты сердцебиений и дыхания на начальном уровне, пробы повторялись с последующим 5% ростом частоты команды «Выдох» на экране монитора. Находили минимальную и максимальную границы диапазона синхронизации, а по разности между ними — диапазон СДС. Определяли длительность развития СДС на минимальной границе диапазона, индекс регуляторно-адаптивного статуса (ИРАС), как отношение диапазона к длительности развития СДС, умноженное на 100 [24, 25]. По ИРАС оценивали регуляторно-адаптивные возможности (РАВ) [20]: высокие (ИРАС >100 баллов), хорошие (ИРАС 50–99 баллов), удовлетворительные (ИРАС 25–49 баллов), низкие (ИРАС 10–24 баллов).

Проводили картирование зоны ранней деполяризации в правом предсердии. Через бедренную вену и последующие вены в полость правого предсердия вводили циркулярный навигационный 20-ти полюсный LASSO NAV. С помощью системы Carto-3 была построена электроанатомическая изохронная модель правого предсердия на синусовом ритме. Референтный канал выбрали по максимальной амплитуде QRS во II стандартном отведении. Применяли автоматический метод аннотации точек модуля CONFIDENCE. Устанавливали не менее 500 активационных точек в полости правого предсердия.

сия, Astrakhan. After ablations, patients stayed 24 hours in ICU and thereafter were transferred to general wards until discharged.

Cardiorespiratory synchronism test (CRS) was carried out in the absence of atrial fibrillation attack during sinus rhythm with the help of VNS-Micro instrument (ООО Neurosoft, Ivanovo) and software determining the regulatory adaptive status of the human body [23]. After the baseline pneumogram and ECG were recorded, the subject was asked to breath in sync with the command 'Expire' appearing on the monitor, which was set by the computer according to a program. The test lasted for 60 seconds. Presence or absence of synchronization between the set breathing rhythm and heart beats was established automatically. During the first test, the rate that was 5% lower than the baseline rhythm was set. A few minutes after the completion, which were needed for the patient to recover the heart and respiratory rate to the baseline level, tests were repeated with subsequent 5% growth of the frequency of appearance of command 'Expire' on the monitor. The minimal and maximal boundaries of the synchronization range were found, and based on the difference between them the CRS range was determined. The duration of CRS development at the minimal boundary of the range, and regulatory and adaptive status index (IRAS) as a relation of the range to the duration of CRS development multiplied by 100 were determined [24, 25]. Based on IRAS, regulatory and adaptive capabilities (RAC) were assessed [20]: high (IRAS score >100), good (IRAS score — 50–99), satisfactory (IRAS score — 25–9), low (IRAS score — 10–24).

Mapping of the early depolarization zone in the right atrium was performed. Circulatory navigation 20-pole LASSO NAV was inserted through femoral vein and subsequent veins into the right atrium cavity. Using Carto-3 system, an electro-anatomic isochronous model of the sinus rhythm of the right atrium was established. The reference channel was chosen based on the maximal amplitude of QRS in standard lead II. The automatic annotation of CONFIDENCE module points was applied. At least 500 activation points in the right atrium were set.

The observational data and computed values, subject to normal distribution, were processed by parametric statistic techniques using STATISTICA 10.0 software. The difference in the pairwise comparison of means was considered significant according to the Student's *t*-test at $P < 0.05$. The calculated mean values and errors of the means were expressed as $M \pm m$. The Pearson correlation coefficient between the area of early depolarization zone in the right atrium and disease duration was determined.

Results and Discussion

In the course of CRS test, 50 patients were split into 3 groups based on RAC: 15 subjects with good RAC (IRAS score within 50.0–79.3); 29 — with satisfactory RAC (IRAS score 25.0–48.0), 6 — with low RAC (IRAS score 17.9–23.9). There was a statistically significant difference between the parameters of patients having good and satisfactory RAC (table 1).

Electro-anatomic activation maps of the right atrium's sinoatrial region differed between these groups of patients, too. The comparison of early depolarization parameters between groups with sig-

Параметры области ранней деполяризации в правом предсердии в зависимости от регуляторно-адаптивных возможностей ($M \pm m$).**Parameters of the area of early depolarization in the right atrium depending on regulatory and adaptive capabilities ($M \pm m$).**

Parameters	Parameter values at different RAC	
	Good $n=15$	Satisfactory $n=29$
The minimal boundary of the synchronization range in cardiorespiratory cycles per minute	68.1 $\pm$ 0.6	60.1 $\pm$ 0.2*
The maximal boundary of the synchronization range in cardiorespiratory cycles per minute	83.7 $\pm$ 0.8	70.1 $\pm$ 0.3*
Synchronization range in cardiorespiratory cycles per minute	15.6 $\pm$ 0.3	9.6 $\pm$ 0.1*
Duration of synchronization development on the minimal boundary of the range in cardiocycles	26.6 $\pm$ 0.2	26.2 $\pm$ 0.2
Regulatory and adaptive status score	58.6 $\pm$ 0.7	36.6 $\pm$ 0.2*
Early depolarization area, cm ²	6.8 $\pm$ 0.5	2.9 $\pm$ 0.1*
Right atrium area	166.2 $\pm$ 4.0	152.1 $\pm$ 3.2
Percentage of the early depolarization area	4.0 $\pm$ 0.3	1.9 $\pm$ 0.1*
Number of points	665.3 $\pm$ 8.7	646.9 $\pm$ 9.4
Lat min	-238.9 $\pm$ 6.9	-249.2 $\pm$ 5.6
Lat max	-143.0 $\pm$ 4.8	-141.9 $\pm$ 3.7

Note. Note. * — $P < 0.001$ between the groups.

Примечание. Parameters — параметры; values at different RAC — значения при различных PAB; the minimal/maximal boundary of the synchronization range in cardiorespiratory cycles per minute — минимальная/максимальная граница диапазона синхронизации в кардиореспираторных циклах в минуту; synchronization range in cardiorespiratory cycles per minute — диапазон синхронизации в кардиореспираторных циклах в минуту; duration of synchronization development on the minimal boundary of the range in cardiocycles — длительность развития синхронизации на минимальной границе диапазона в кардиоциклах; regulatory and adaptive status score — индекс регуляторно-адаптивного статуса в баллах. * — $p < 0,001$ между группами.

Данные наблюдений и расчетные величины при нормальном распределении обработали параметрическими методами статистики, с использованием программ: «STATISTICA 10,0». За достоверные различия в сравнении средних величин в парных сравнениях брали t -критерий Стьюдента при $p < 0,05$. Вычисляли $M \pm m$, p — показатель достоверности различий. Определяли коэффициент корреляции по Пирсону между площадью зоны ранней деполяризации в правом предсердии и длительностью заболевания.

Результаты и обсуждение

При проведении пробы СДС 50 пациентов по PAB разделили на 3 группы: 15 человек с хорошими PAB (ИРАС в пределах 50,0–79,3 баллов) 29 — с удовлетворительными PAB (ИРАС 25,0–48,0 баллов), 6 — с низкими (ИРАС 17,9–23,9 баллов). Параметры пациентов с хорошими и удовлетворительными PAB статистически значимо различались (таблица).

Электроанатомические активационные карты синотриальной области ПП у этих групп пациентов также отличались. Сопоставление параметров зон ранней деполяризации у статистически значимо различных по PAB групп приведены в таблице, на рис. 2.

Достоверных отличий в группах по параметрам: площадь правого предсердия, количество активационных точек, параметры времени активации (Lat min и Lat max) относительно референта не наблюдали. В то же время, площадь ранней деполяризации при удовлетворительных PAB была на 57,4%

nificantly different RAC scores ($P < 0.05$) shown in table and shown on fig. 2.

We did not observe reliable difference between the groups in the following parameters: the right atrium area, the number of activation points, activation time parameters (Lat min and Lat max) relative to the reference. At the same time, the early polarization area was 57.4% smaller in case of satisfactory RAC compared to good RAC, the relation of the early depolarization area in the heart area that was decreased by 52.5%. The mean area of the early depolarization zone in the right atrium in subjects with low RAC was equal to 0.4 cm² (0.25% of the atrium area), with satisfactory RAC — 2.9 cm² (2.9%), with good RAC — 6.8 cm² (4.0%).

Therefore, significant direct correlation between IRAS determined by CRS functional test, and the sinoatrial area of the heart has been discovered.

It has been demonstrated that in subjects with low RAC, the atrial fibrillation anamnesis amounted to 5.8 $\pm$ 0.7 years, with satisfactory RAC — 4.5 $\pm$ 0.7 years, with good RAC — 3.8 $\pm$ 0.5 years. The Pearson coefficient of correlation between the disease length and IRAS is 0.92. The Area of the early depolarization zone and the disease length are also correlated (Pearson's $r=0.92$).

Conclusion

The study discovered the inverse relationship between the lifetime of paroxysmal form of atrial fibrillation and parameters of regulatory and adaptive capabilities: the shorter the disease length was, the larger the regulatory and adap-

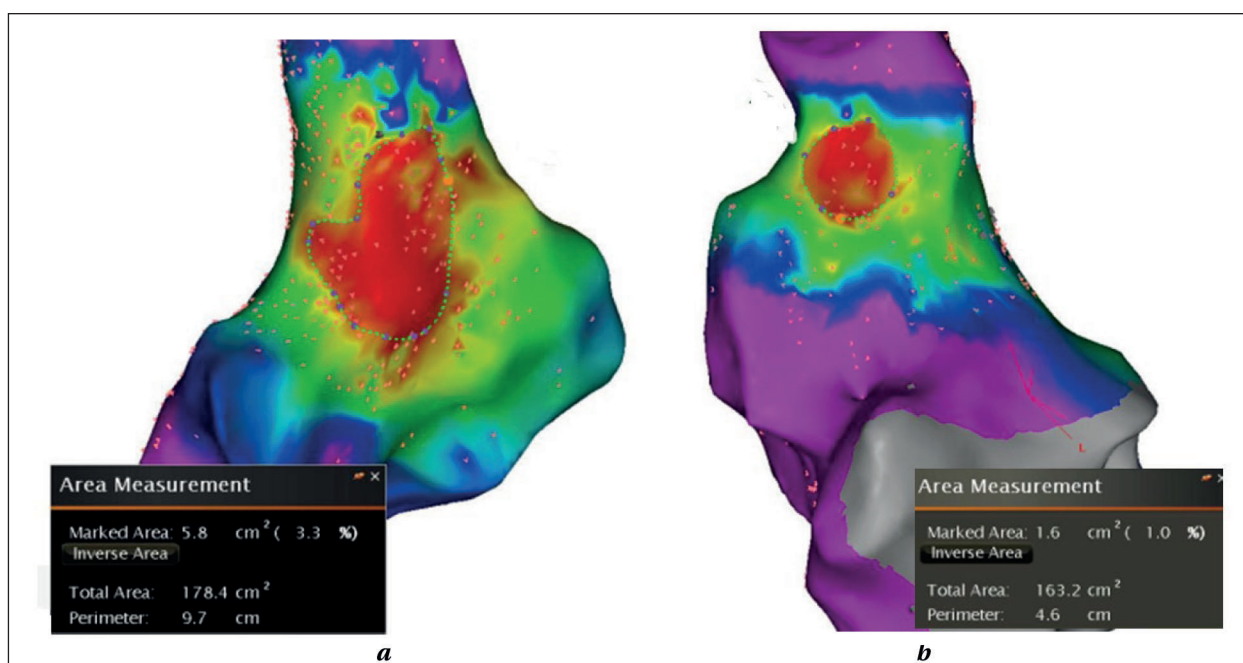


Рис. 2. Зона ранней деполяризации (обозначена красным цветом) в правом предсердии у пациента с хорошими показателями регуляторно-адаптивных возможностей (а) — ИРАС в пределах 50,0–79,3 балла и с удовлетворительными показателями регуляторно-адаптивных возможностей (b).

Fig. 2. The zone of early depolarization (marked in red) in the patient's right atrium with good indicators of regulatory and adaptive capabilities (a) — shown are IRAS values within the range of 50.0–79.3 and with satisfactory indicators of regulatory and adaptive capabilities (b).

меньше, чем при хороших РАВ. При этом отношение площади ранней деполяризации к площади сердца уменьшалось на 52,5%. Средняя площадь зоны ранней деполяризации в правом предсердии, у лиц с низкими РАВ составляла 0,4 см² (0,25% от площади предсердия), с удовлетворительными — 2,9 см² (2,9%), с хорошими — 6,8 см² (4,0%).

Таким образом, выявили статистически значимую прямую зависимость между ИРАС, определяемую по функциональной пробе СДС и площади синоатриальной области сердца.

Показано, что у лиц с низкими РАВ анамнез фибрилляции предсердий составила 5,8±0,7 лет, при удовлетворительных РАВ — 4,5±0,7 лет, при хороших 3,8±0,5 лет. Коэффициент корреляции между длительностью заболевания и ИРАС — 0,92 (по Пирсону).

Коэффициент корреляции между площадью зоны ранней деполяризации и длительностью заболевания по Пирсону также равен 0,92.

Заключение

Выявили обратную зависимость между длительностью существования пароксизмальной формы фибрилляции предсердий и параметрами регуляторно-адаптивных возможностей: чем длительность заболевания меньше, тем регуляторно-адаптивные возможности больше. В то же время имеется прямая зависи-

tive capabilities were. At the same time, there was a direct correlation between the parameters of regulatory and adaptive capabilities, on the one hand, and the area of the early depolarization zone in the sinoatrial region of the right atrium, on the other.

The functional test for cardiorespiratory synchronism is implemented with involvement of the vagus nerve. Parasympathetic fibers innervate the sinoatrial region. Hence, the length of paroxysmal atrial fibrillation, and regulatory and adaptive capabilities of the body directly depend on amplified parasympathetic influence on the sinoatrial region.

мость между параметрами регуляторно-адаптивных возможностей и площадью зоны ранней деполяризации в синоатриальной области правого предсердия.

В реализации функциональной пробы сердечно-дыхательного синхронизма принимает участие блуждающий нерв. Парасимпатические волокна иннервируют синоатриальную область. Таким образом, длительность пароксизмальной фибрилляции предсердий и регуляторно-адаптивные возможности организма напрямую зависят от усиления парасимпатического влияния на синоатриальную область.

Литература

1. Филатов А.Г., Тарашвили Э.Г. Эпидемиология и социальная значимость фибрилляции предсердий. *Аналы Аритмологии*. 2012; (2): 5–14.
2. Дамулин И.В., Андреев Д.А. Фибрилляция предсердий и инсульт. *Российский медицинский журнал*. 2015; 21 (6): 41–45.
3. Дамулин И.В., Андреев Д.А., Салпагарова З.К. Кардиоэмболический инсульт. *Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика*. 2015; (1): 80–86 DOI: 10.14412/2074-2711-2015-1-80-86
4. Gardarsdottir M., Sigurdsson S., Aspelund T., Rokita H., Launer L.J., Gudnason V., Arnar D.O. Atrial fibrillation is associated with decreased total cerebral blood flow and brain perfusion. *Europace*. 2018; 20 (8): 1252–1258. DOI: 10.1093/europace/eux220
5. Скирденко Ю.П., Шустов А.В., Жеребилов В.В., Николаев Н.А. Фибрилляция предсердий: современные проблемы и перспективы медицинского сопровождения, лечения и профилактики. *Рациональная фармакотерапия в кардиологии* 2016; 12 (2): 196–203. DOI: 10.30/996/1819-6446.
6. Cheniti G., Vlachos K., Pambrun T., Hooks D., Frontera A., Takigawa M., Bourier E., Kitamura T., Lam A., Martin C., Dumas-Pommier C., Puyo S., Pillois X., Duchateau J., Klotz N., Denis A., Derval N., Jais P., Cochet H., Hocini M., Haissaguerre M., Sacher F. Atrial Fibrillation Mechanisms and Implications for Catheter Ablation. *Front. Physiol.* 2018; 9: 1458. DOI: 10.3389/fphys.2018.01458
7. Түлеутаев Р.М., Абзалиев К.Б., Ошакпаев А., Тайманова Р.С., Ракишев Б.А., Ибрагимов Т.Ю. Мини-инвазивная торакоскопическая радиочастотная абляция легочных вен при лечении фибрилляции предсердий. *Наука о жизни и здоровье. Вестник АГНУВ*, 2017; №3. — С 55–57.
8. Ang R., Earley M.J. The role of catheter ablation in the management of atrial fibrillation. *Clin Med (Lond)*. 2016; 16 (3): 267–271. DOI: 10.7861/clinmedicine.16-3-267
9. Арешкина И.Г., Дмитриченко Д.В., Шнайдер Н.А., Народова Е.А. Эффективность и безопасность стимуляции блуждающего нерва у пациентов, страдающих фармакорезистентной эпилепсией. *Эпилепсия и пароксизмальные состояния*. 2019; 11 (1): 27–36. DOI: 10.17749/2077-8333.2019.11.1.27-36
10. Johnson R.L., Wilson Ch.G. A review of vagus nerve stimulation as a therapeutic intervention *J Inflamm Res* 2018; 11: 203–213. DOI: 10.2147/JIR.S163248
11. Сыровнев В.А., Лебедев Д.С., Михайлов Е.Н. Стимуляция блуждающего нерва в кардиологии. *Трансляционная медицина*. 2017; Т. 4. № 2. С. 6–16. DOI: 10.18705/2311-4495-2017-4-2-6-16
12. He W., Wang X.-Y., Zhou L., Li Z.-M., Jing X.-H., Lu Z.-L., Zhao Y.-F., Shi H., Hu L., Su Y.-S., Zhu B. Transcutaneous auricular vagus nerve stimulation for pediatric epilepsy: study protocol for a randomized controlled trial. *Trials*. 2015; 16: 371. DOI: 10.1186/s13063-015-0906-8.
13. Stavrakis S., Humphrey MB, Scherlag BJ, Borggreffe M., Kubo S.H., Lieberman R.A., Milasinovic G., Berman B.J., Djordjevic S., Neelagar S., Schwartz P.J., Starling R.C., Mann D.L. Low-level transcutaneous electrical vagus nerve stimulation suppresses atrial fibrillation. *Journal of the American College of Cardiology*. 2015; 65 (9): 867–875 DOI: 10.1016/j.jacc.2014.12.026.
14. Gold M.R., Van Veldhuisen D.J., Hauptman P.J., Borggreffe M., Kubo S.H., Lieberman R.A., Milasinovic G., Berman B.J., Djordjevic S., Neelagar S., Schwartz P.J., Starling R.C., Mann D.L. Vagus nerve stimulation for the treatment of heart failure: the INOVATE-HF trial. *Journal of the American College of Cardiology* 2016; . 68 (2): 149–158. DOI: 10.1016/j.jacc.2016.03.525
15. Сыровнев В.А., Лебедев Д.С., Михайлов Е.Н. Стимуляция блуждающего нерва в кардиологии. *Трансляционная медицина* 2017; 4 (2): 23–33. DOI: 10.18705/2311-4495-2017-4-2-6-16.
16. Burashnikov A., Antzelevitch C. Reinduction of atrial fibrillation immediately after termination of the arrhythmia is mediated by late phase 3 early after depolarization-induced triggered activity. *Circulation*. 2003; 107 (18): 2355–2360.
17. Patterson E., Lazzara R., Szabo B., Liu H., Tang D., Li Y.H., Scherlag B.J., Po S.S. Sodium-calcium exchange initiated by the Ca²⁺ transient: an arrhythmia trigger within pulmonary veins. *Journal of the American College of Cardiology*. 2006; 47 (6): 1196–1206.
18. Zhang Y., Scherlag BJ, Lu Z., Niu G.-D., Yamanashi W.S., Hogan C., Fields J., Ghias M., Lazzara R., Jackman W.M., Po S. Comparison of atrial fibrillation inducibility by electrical stimulation of either the extrinsic or the intrinsic autonomic nervous systems. *Journal of interventional cardiac electrophysiology*. 2009; 24 (1): 5–10. DOI: 10.1007/s10840-008-9297-z. Epub 2008 Sep 23.
19. Покровский В.М. Формирование ритма сердца в организме человека и животных. — Краснодар: Кубань-книга, 2007: 143.
20. Покровский В.М. Сердечно-дыхательный синхронизм в оценке регуляторно-адаптивного статуса организма. — Краснодар: 2010; 243.

References

1. Filatov A.G., Tarashvili E.G. Epidemiology and social significance of atrial fibrillation. *Analy Aritmologii*. 2012; . (2): 5–14 [In Russ.].
2. Damulin I.V., Andreev D.A. Atrial fibrillation and stroke. *Rossiiskij meditsinskij zhurnal*. 2015; 21 (6): 41–45 [In Russ.].
3. Damulin I.V., Andreev D.A., Salpagarova Z.K. Cardioembolic stroke. *Neurologiya, neyropsikhiatriya, psikhosomatika*. 2015; (1): 80–86 [In Russ.] DOI: 10.14412/2074-2711-2015-1-80-86
4. Gardarsdottir M., Sigurdsson S., Aspelund T., Rokita H., Launer L.J., Gudnason V., Arnar D.O. Atrial fibrillation is associated with decreased total cerebral blood flow and brain perfusion. *Europace*. 2018; 20 (8): 1252–1258. DOI: 10.1093/europace/eux220
5. Skirdenko Yu.P., Shustov A.V., Zherebilov V.V., Nikolaev N.A. Atrial fibrillation: current problems and prospects of medical support, treatment and prevention. *Ratsionalnaya farmakoterapiya v kardiologii*. 2016; 12 (2): 196–203. [In Russ.] DOI: 10.30/996/1819-6446.
6. Cheniti G., Vlachos K., Pambrun T., Hooks D., Frontera A., Takigawa M., Bourier E., Kitamura T., Lam A., Martin C., Dumas-Pommier C., Puyo S., Pillois X., Duchateau J., Klotz N., Denis A., Derval N., Jais P., Cochet H., Hocini M., Haissaguerre M., Sacher F. Atrial Fibrillation Mechanisms and Implications for Catheter Ablation. *Front. Physiol.* 2018; 9: 1458. DOI: 10.3389/fphys.2018.01458
7. Tuleutaev P.M., Abzaliev K.B., Oshakpaev A., Tajmanova P.C., Rakishev B.A., Ibragimov T.Yu. Mini-invasive thoracoscopic radiofrequency ablation of pulmonary veins in the treatment of atrial fibrillation. *Nauka o zhizni i zdorove. Vestnik AGIUV*. 2017; №3. — С 55–57 [In Russ.].
8. Ang R., Earley M.J. The role of catheter ablation in the management of atrial fibrillation. *Clin Med (Lond)*. 2016; 16 (3): 267–271. DOI: 10.7861/clinmedicine.16-3-267
9. Areshkina I.G., Dmitrenko D.V., Shnajder N.A., Narodova E.A. Efficacy and safety of vagus nerve stimulation in patients with pharmacoresistant epilepsy. *Epileptiya i paroksizmalnye sostoyaniya*. 2019; 11 (1): 27–36 [In Russ.]. DOI: 10.17749/2077-8333.2019.11.1.27-36
10. Johnson R.L., Wilson Ch.G. A review of vagus nerve stimulation as a therapeutic intervention *J Inflamm Res* 2018; 11: 203–213. DOI: 10.2147/JIR.S163248
11. Syrovnev V.A., Lebedev D.S., Mikhajlov E.N. Vagus nerve stimulation in cardiology. *Translyatsionnaya meditsina*. 2017; 4 (2): 6–16 [In Russ.]. DOI: 10.18705/2311-4495-2017-4-2-6-16
12. He W., Wang X.-Y., Zhou L., Li Z.-M., Jing X.-H., Lu Z.-L., Zhao Y.-F., Shi H., Hu L., Su Y.-S., Zhu B. Transcutaneous auricular vagus nerve stimulation for pediatric epilepsy: study protocol for a randomized controlled trial. *Trials*. 2015; 16: 371. DOI: 10.1186/s13063-015-0906-8.
13. Stavrakis S., Humphrey MB, Scherlag BJ, Borggreffe M., Kubo S.H., Lieberman R.A., Milasinovic G., Berman B.J., Djordjevic S., Neelagar S., Schwartz P.J., Starling R.C., Mann D.L. Low-level transcutaneous electrical vagus nerve stimulation suppresses atrial fibrillation. *Journal of the American College of Cardiology*. 2015; 65 (9): 867–875 DOI: 10.1016/j.jacc.2014.12.026.
14. Gold M.R., Van Veldhuisen D.J., Hauptman P.J., Borggreffe M., Kubo S.H., Lieberman R.A., Milasinovic G., Berman B.J., Djordjevic S., Neelagar S., Schwartz P.J., Starling R.C., Mann D.L. Vagus nerve stimulation for the treatment of heart failure: the INOVATE-HF trial. *Journal of the American College of Cardiology* 2016; 68 (2): 149–158. DOI: 10.1016/j.jacc.2016.03.525
15. Syrovnev V.A., Lebedev D.S., Mikhajlov E.N. Vagus nerve stimulation in cardiology. *Translyatsionnaya meditsina*. 2017; 4 (2): 23–33 [In Russ.]. DOI: 10.18705/2311-4495-2017-4-2-6-16.
16. Burashnikov A., Antzelevitch C. Reinduction of atrial fibrillation immediately after termination of the arrhythmia is mediated by late phase 3 early after depolarization-induced triggered activity. *Circulation*. 2003; 107 (18): 2355–2360.
17. Patterson E., Lazzara R., Szabo B., Liu H., Tang D., Li Y.H., Scherlag B.J., Po S.S. Sodium-calcium exchange initiated by the Ca²⁺ transient: an arrhythmia trigger within pulmonary veins. *Journal of the American College of Cardiology*. 2006; 47 (6): 1196–1206.
18. Zhang Y., Scherlag BJ, Lu Z., Niu G.-D., Yamanashi W.S., Hogan C., Fields J., Ghias M., Lazzara R., Jackman W.M., Po S. Comparison of atrial fibrillation inducibility by electrical stimulation of either the extrinsic or the intrinsic autonomic nervous systems. *Journal of interventional cardiac electrophysiology*. 2009; 24 (1): 5–10. DOI: 10.1007/s10840-008-9297-z. Epub 2008 Sep 23.
19. Pokrovsky V.M. Formation of the heart rhythm in the human and animal body. — Krasnodar: Kuban-kniga, 2007: 143 [In Russ.].
20. Pokrovsky V.M. Cardio-respiratory synchronism in the assessment of the regulatory and adaptive status of the body. — Krasnodar: 2010; 243 [In Russ.].
21. Pokrovskii V.M., Lily V. Polischuk Cardiorespiratory synchronism in estimation of regulatory and adaptive organism status. *Journal of Integrative Neuroscience*. 2016; 15 (1): 19–35. DOI: 10.1142/S0219635216500060

21. Pokrovskii V.M., Lily V. Polischuk Cardiorespiratory synchronism in estimation of regulatory and adaptive organism status. *Journal of Integrative Neuroscience*. 2016; 15 (1): 19–35. DOI: 10.1142/S0219635216500060
22. Pokrovskii V.M., Ntchepurenko A.A., Tarasov D.G., Korotkov K.G., Abushkevich V.G. Sinoatrial node pacemaker cell pool dynamics upon synchronization with vagus nerve rhythm *Journal of applied iotechnology and bioengineering*. 2019; 6 (3): 114–116. DOI: 10.1406/Jabb.2019.06.00182,
23. Полищук Л.В., Усатилов С.В., Шкиря Т.В., Покровский В.М. Статистическое прогнозирование в создании экспресс-методики определения уровня регуляторно-адаптивного статуса организма человека. *Кубанский научный медицинский вестник*. 2014; 6 (148): 65–70. DOI: 10.25207/1608-6228-2014-6-65-70
24. Покровский В.М., Кашина Ю.В., Абушкевич В.Г., Таценко Е.Г. Дополнительный показатель для оценки уровня адаптации. *Медицинский вестник Северного Кавказа*. 2018; 14 (1): 57–60. DOI: 10.14300/mnnc.2019.14049
25. Пензоян Г.А., Кашина Ю.В., Абушкевич В.Г., Покровский В.М. Интегративная оценка функционального состояния здоровых девушек в зависимости от фазы и продолжительности менструального цикла. *Вестник Российского университета дружбы народов*. Серия: Медицина. 2019; 23 (2): 141–146. DOI: 10.22363/2313-0245-2019-23-2-141-146
22. Pokrovskii V.M., Ntchepurenko A.A., Tarasov D.G., Korotkov K.G., Abushkevich V.G. Sinoatrial node pacemaker cell pool dynamics upon synchronization with vagus nerve rhythm *Journal of applied iotechnology and bioengineering*. 2019; 6 (3): 114–116. DOI: 10.1406/Jabb.2019.06.00182,
23. Polishchuk L.V., Usatkov S.V., Shkirya T.V., Pokrovskij V.M. Statistical forecasting in the creation of express methods for determining the level of regulatory and adaptive status of the human body. *Kubanskij nauchnyj medicinskij vestnik*. 2014; 6 (148): 65–70 [In Russ.]. DOI: 10.25207/1608-6228-2014-6-65-70
24. Pokrovskij V.M., Kashina Yu.V., Abushkevich V.G., Tacenko E.G. An additional indicator to assess the level of adaptation. *Medicinskij vestnik Severnogo Kavkaza*. 2018; 14 (1): 57–60 [In Russ.]. DOI: 10.14300/mnnc.2019.14049
25. Penzhoyan G.A., Kashina YU.V., Abushkevich V.G., Pokrovskij V.M. Integrative assessment of the functional state of healthy girls depending on the phase and duration of the menstrual cycle. *Vestnik Rossijskogo universiteta družby narodov. Seriya: Meditsina*. 2019; 23 (2): 141–146 [In Russ.]. DOI: 10.22363/2313-0245-2019-23-2-141-146

Поступила 06.03.2020

Поступила 06.03.2020

Особенности развития и течения синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания при хирургических вмешательствах у детей с онкологическими заболеваниями

Н. П. Леонов¹, В. В. Шукин¹, Г. А. Новичкова¹, М. А. Масчан¹,
Ф. И. Атауллаханов¹⁻⁴, С. С. Яшин⁵, М. А. Зейналов¹, Е. А. Спиридонова^{1,5}

¹ Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева Минздрава России, Россия, 117997, г. Москва, ул. Саморы Машела, д. 1

² Физический факультет Московского государственного университета им. М. В. Ломоносова, Россия, 119991, ГСП-1, г. Москва, Ленинские горы, МГУ им. М. В. Ломоносова, д. 1, стр. 2

³ Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН, Россия, 109029, Москва, ул. Средняя Калитниковская, д. 30

⁴ Московский физико-технический институт (государственный университет), Россия, 141701, Московская область, г. Долгопрудный, Институтский переулок, д. 9.

⁵ Московский государственный медико-стоматологический университет им. А. И. Евдокимова, Россия, 127473, г. Москва, ул. Делегатская, д. 20, стр. 1

Features of Development and Course of Disseminated Intravascular Coagulation Syndrome During Surgical Interventions in Children with Oncological Diseases

Nikolay P. Leonov¹, Vladislav V. Schukin¹, Galina A. Novichkova¹, Mikhail A. Maschan¹,
Fazoil I. Ataullakhanov¹⁻⁴, Sergey S. Yashin⁵, Azer M. Zeynalov¹, Elena A. Spiridonova^{1,5}

¹ Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, 1 Samory Mashela Str., 117997, Moscow, Russia

² Lomonosov Moscow State University, Faculty of Physics, 12 Leninskiye Gory Russia, GSP-1, 119991, Moscow, Russia

³ Center for Theoretical Problems of Physicochemical Pharmacology, Russian Academy of Sciences, 30 Middle Kalitnikovskaya Str., 109029, Moscow, Russia

⁴ Moscow Institute of Physics and Technology,

9 Institutsky Side Str., 141701, Dolgoprudny, Russia

⁵ A. I. Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, 20 Delegatskaya Str., 127473, Moscow, Russia

Для цитирования: Н. П. Леонов, В. В. Шукин, Г. А. Новичкова, М. А. Масчан, Ф. И. Атауллаханов, С. С. Яшин, М. А. Зейналов, Е. А. Спиридонова. Особенности развития и течения синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания при хирургических вмешательствах у детей с онкологическими заболеваниями. *Общая реаниматология*. 2020; 16 (3): 54–75. DOI: 10.15360/1813-9779-2020-3-54-75 [На русск. и англ.]

For citation: Nikolay P. Leonov, Vladislav V. Schukin, Galina A. Novichkova, Mikhail A. Maschan, Fazoil I. Ataullakhanov, Sergey S. Yashin, Azer M. Zeynalov, Elena A. Spiridonova. Features of Development and Course of Disseminated Intravascular Coagulation Syndrome During Surgical Interventions in Children with Oncological Diseases. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2020; 16 (3): 54–75. DOI: 10.15360/1813-9779-2020-3-54-75 [In Russ. and Engl.]

Резюме

Кровотечению всегда сопутствует коагулопатия, а ее трансформация в синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания (ДВС-синдром) связана с повышенным уровнем заболеваемости и смертности.

Цель исследования. Охарактеризовать особенности развития и течения ДВС-синдрома при кровотечениях, а также выявить основные предикторы его формирования при оперативных вмешательствах у детей с онкологическими заболеваниями.

Материалы и методы. Ретроспективное исследование у детей в возрасте до 18 лет с онкологическими заболеваниями, получавших хирургическое лечение в период с 2017 по 2019 годы. Отобрали детей, получавших гемотрансфузии и гемостатическую терапию при интраоперационном кровотечении. Полученную когорту ($n=207$) разделили на две группы с использованием модифицированной системы оценки ISTH: дети с ДВС-синдромом ($n=59$), без ДВС-синдрома ($n=148$). Провели сравнение демографических, клинических и лабораторных факторов между группами. В окончательную модель

Адрес для корреспонденции:

Николай Петрович Леонов
E-mail: NikoLeonov@yandex.ru

Correspondence to:

Nikolay P. Leonov
E-mail: NikoLeonov@yandex.ru

многофакторной логистической регрессии включили признаки, которые были до развития ДВС-синдрома на 2-е сутки после операции и были отобраны в результате однофакторного анализа ($p < 0,05$), имели менее 10% пропущенных данных и были клинически правдоподобными. Точность прогнозирования многофакторной модели проверили по анализу площади под кривой ROC.

Результаты. Установили, что ДВС-синдром у детей с онкологическими заболеваниями часто развивается при операциях в области забрюшинного пространства (OR=2,09 [1,07; 4,05]; $p=0,03$) и печени (OR=3,86 [1,72; 8,67]; $p=0,001$). Полиорганная недостаточность (ПОН) была более тяжелой и была представлена легочной, печеночной и почечной недостаточностью в группе с выявленным ДВС-синдромом. Развитие ПОН сопровождалось снижением показателей тканевой перфузии и ростом D-димера. Вероятность выявления острого тромбоза после операции была в 4,5 раза выше в группе пациентов с ДВС-синдромом, чем в группе без ДВС-синдрома (OR=4,5 [1,4; 14,3]; $p=0,01$). 90-дневная выживаемость составила в группе пациентов с ДВС-синдромом — $84,41 \pm 6,49\%$ [71,69%; 97,13%], а в группе без ДВС-синдрома — $96,22 \pm 3,12\%$ [90,1%; 100%]. Многофакторный анализ показал, что возраст менее 8 лет, количество тромбоцитов менее $150 \times 10^9/\text{л}$, гипокальциемия менее 1 ммоль/л и период интраоперационной критической гипотонии более 25 минут являются предикторами развития ДВС-синдрома после операции. ROC-анализ показал превосходное качество полученной прогностической модели (AUC=0,94 [0,9; 0,97]).

Заключение. У детей с онкологическими заболеваниями, при наличии кровотечения, коагулопатия в послеоперационном периоде трансформируется в ДВС-синдром, протекающий клинически с развитием органной недостаточности. Возраст менее 8 лет, количество тромбоцитов менее $150 \times 10^9/\text{л}$, гипокальциемия менее 1 ммоль/л и период интраоперационной критической гипотонии более 25 минут являются предикторами развития ДВС-синдрома. Крайним выражением ДВС-синдрома «органного типа» является прогрессирование тромботического синдрома до реализации осложнений, угрожающих жизни, что и уменьшает 90-дневную выживаемость на 12%.

Ключевые слова: синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания; полиорганная недостаточность; кровотечение; онкологические заболевания; тромбоз; коагулопатия

Summary

Coagulopathy always accompanies blood loss, and its transformation into disseminated intravascular coagulation syndrome (DIC) is associated with increased morbidity and mortality.

Objective: to characterize the features of the development and course of DIC during bleeding, as well as identify the main predictors of its formation during surgical interventions in children with oncological diseases.

Material and Methods. A retrospective study of children under 18 years of age with oncological pathology who received surgical treatment for the period from 2017 to 2019 years. Children who received blood transfusion and hemostatic therapy with intraoperative bleeding were selected. The resulting cohort ($n=207$) was divided into two groups using the modified ISTH assessment system: children with DIC ($n=59$), without DIC ($n=148$). Demographic, clinical, and laboratory factors were compared between groups. The final model of multivariate logistic regression included signs that were before the development of DIC on the second day after the operation and were selected as a result of univariate analysis ($P < 0.05$), had less than 10% missing data and were clinically plausible. The prediction accuracy of the multivariate model was checked by analyzing the area under the ROC curve.

Results. DIC was found to develop often in children with cancer during surgical operations in the retroperitoneal space (OR=2.09 [1.07; 4.05]; $P=0.03$) and liver (OR=3.86 [1.72; 8.67]; $P=0.001$). Multiple organ failure (MOF) was more severe and was represented by pulmonary, hepatic and renal failure in the group with identified DIC. The development of MOF was accompanied by a decrease in tissue perfusion and an increase in D-dimer. The probability of detecting acute thrombosis after surgery was 4.5 times higher in the group of patients with DIC than in the group without DIC (OR=4.5 [1.4; 14.3]; $P=0.01$). 90-day survival was $84.41 \pm 6.49\%$ [71.69%; 97.13%] in the group of patients with DIC, and $96.22 \pm 3.12\%$ [90.1%; 100%] in the group without DIC. Multivariate analysis showed that age less than 8 years, platelet count less than $150 \times 10^9/\text{l}$, hypocalcemia less than 1 mmol/l and the period of intraoperative critical hypotension for more than 25 minutes are predictors of the development of DIC after surgery. ROC analysis showed excellent quality of the obtained predictive model (AUC=0,94 [0,9; 0,97]).

Conclusion. In children with oncological diseases, in the presence of bleeding, coagulopathy in the postoperative period is transformed into a DIC-syndrome, proceeding clinically with the development of organ failure. Age less than 8 years, platelet count less than $150 \times 10^9/\text{l}$, hypocalcemia less than 1 mmol/L and a period of intraoperative critical hypotension of more than 25 minutes are predictors of the development of DIC. The extreme expression of the «organ» type DIC is the progression of thrombotic syndrome to life threatening complications, which reduces the 90-day survival by 12%.

Keywords: disseminated intravascular coagulation syndrome; multiple organ failure; bleeding; oncological pathology; thrombosis; coagulopathy

Введение

Кровопотеря вносит значительный вклад в смертность при любых видах хирургических вмешательств, за счет развития и прогрессирования синдрома полиорганной недостаточности (СПОН) [1]. Смертность от СПОН высока и, по результатам различных исследований, колеблется в широких пределах: от 44 до 50% у взрослых и с 11 до 54% — у педиатрических больных [2]. Терапия интраоперационной кровопотери в понимании клиницистов ассоциируется с трансфузией большого объема гемоконпонентов и инфузионных сред за короткий промежуток времени, что само по себе несет риск осложнений и является одним из факторов прогрессирования полиорганной недостаточности и высокой смертности [3]. Коагулопатия всегда сопутствует кровопотере, а ее трансформация в синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания (ДВС-синдром) связана с увеличением уровня смертности на 10–15% [4, 5].

Хорошо известно, что дети с онкологическими заболеваниями имеют фоновые гематологические изменения, которые при условии минимального экзо(эндо)генного воздействия могут трансформироваться в тяжелые, представляющие угрозу для жизни, состояния. ДВС-синдром — одно из таких состояний, которое всегда развивается вторично по отношению к различным базовым расстройствам [6]. Еще в 2009г. Levi M. описал подходы к терапии ДВС-синдрома, обратив внимание на различия его клинических типов [7]. В 2012 году Wada H. et al. сформулировал четыре патофизиологических типа ДВС-синдрома. Их различия строятся на интенсивности процессов гиперкоагуляции и гиперфибринолиза [8]. При одинаковой силе процессов гиперкоагуляции и гиперфибринолиза развивается массивное кровотечение. Этот тип ДВС-синдрома называется «истошающим» и наблюдается у пациентов с некупированным кровотечением после обширных хирургических операций или при акушерской патологии. При преобладании гиперкоагуляции основным симптомом является органная недостаточность. Этот тип ДВС-синдрома называется «органным» («гиперкоагуляционным» или «гипофибринолитическим») и часто наблюдается при инфекционной патологии и травме, в том числе хирургической. Когда доминирует процесс гиперфибринолиза — развивается кровотечение. Этот тип ДВС-синдрома называется «гиперфибринолитическим» и часто наблюдается у пациентов с лейкозами, акушерской патологией, аневризмой аорты. При слабости процессов гиперкоагуляции и гиперфибрино-

Introduction

Blood loss largely contributes to mortality in any type of surgery due to development and progression of multiple organ failure (MOF) [1]. MOF-related morbidity is high and, according to different studies, varies between 44 and 50% in adults and between 11 and 54% in pediatric patients [2]. To clinicians' opinion, the intraoperative blood loss therapy is associated with transfusion of a large volume of blood components and infusion media for a short period of time, which alone bears the risk of complications and is a factor of multiple organ failure progression and high mortality [3]. Coagulopathy always accompanies blood loss and its transformation into disseminated intravascular coagulation syndrome (DIC) is associated with 10–15% increase of morbidity [4, 5].

It is well known that children with oncological diseases have background hematological disturbances, which, in case of minimal exo(endo)-genous action, might transform into severe life-threatening conditions. DIC is one of such conditions that is always secondary to various base disorders [6]. As early as year 2009, Levi M. described approaches to DIC therapy pointing out differences between its clinical types [7]. In 2012, Wada H. et al. worded four pathophysiological types of DIC. Their differentiation is based on the intensity of hypercoagulation and hyperfibrinolysis processes [8]. When hypercoagulation and hyperfibrinolysis are equally strong, massive bleeding develops. This type of DIC is called 'exhausting' and is observed in patients with non-reversed bleeding after major surgeries or obstetric pathologies. When hypercoagulation dominates, the main symptom is organ failure. DIC of this type is called 'organ' ('hypercoagulative' or 'hypofibrinolytic') and is frequently observed during infection pathologies and injuries including surgical. When hyperfibrinolysis dominates, a bleeding develops. DIC of this type is called 'hyperfibrinolytic' and is frequently observed in patients with leukemia, obstetric pathologies, and aortic aneurism. When the hypercoagulation and hyperfibrinolysis processes are weak there are almost no clinical symptoms, though hemostasis disorders can be identified in a laboratory. DIC of this type is called 'asymptomatic'.

In case of an acute intraoperative blood loss, at first we can speak only about presence of coagulopathy, i.e. hypocoagulation caused by thrombocytopenia, coagulation factors' deficit, and dilution [9]. In the very beginning, there is no microthrombosis or multiple organ failure. Additional factors are required for them to develop: severe hypoxia, shock, a major surgical injury, massive blood transfusions, hypothermia, hemolysis, comorbid infection, impaired platelet adhesion and aggregation due to progressing anemic syndrome,

лиза нет почти никаких клинических симптомов, хотя нарушения системы гемостаза лабораторно определяются. Этот тип ДВС называется «асимптомным».

При острой интраоперационной кровопотере изначально мы можем говорить только о наличии коагулопатии, то есть о гипокоагуляции, вызванной тромбоцитопенией, дефицитом факторов свертывания и дилуцией [9]. Микротромбоз и полиорганная недостаточность изначально отсутствуют. Для их развития требуются дополнительные факторы: тяжелая гипоксия, шок, обширная хирургическая травма, массивные гемотрансфузии, гипотермия, гемолиз, присоединение вторичной инфекции, нарушения адгезии и агрегации тромбоцитов за счет прогрессирования анемического синдрома, метаболические и электролитные изменения, такие как метаболический ацидоз, гипокальцемия и гиперхлоремия [10]. При полноценном и своевременном хирургическом гемостазе и адекватной заместительной терапии развития полиорганной недостаточности не происходит. При реализации дополнительных факторов происходит увеличение концентрации тромбина, системная активация и потребление «факторов-субстратов», антикоагулянтов и тромбоцитов, образуются фибриновые тромбы, которые блокируют систему микроциркуляции. После этого запускается процесс гиперфибринолиза, который способен привести к кровотечению. Поэтому, основной морфологической характеристикой ДВС-синдрома является образование тромбов в микроциркуляторном русле, приводящее к снижению доставки кислорода к клеткам и тканям, что и является причиной развития тяжелого СПОН [11].

Цель исследования — характеристика особенностей развития и течения, а также выявление основных предикторов формирования ДВС-синдрома при кровотечениях во время хирургических вмешательств у детей с онкологическими заболеваниями. Необходимость проведения данного исследования обусловлена оценкой эффективности существующей анестезиологической технологии обеспечения операций у детей с онкологическими заболеваниями.

Материал и методы

Провели ретроспективное обсервационное исследование. У всех пациентов и их законных представителей взяли информированное согласие на хранение, сбор и обработку медицинских данных, в том числе в исследовательских целях. Публикуемая информация обезличена, этические принципы соблюдены. В исследование отобрали данные детей до 18 лет с онкологическими заболеваниями, получивших хирургическое лечение в ФГБУ «НМИЦ ДГОИ

metabolic and electrolytic disorders such as metabolic acidosis, hypocalcemia, and hyperchloremia [10]. Full-value and timely surgical hemostasis and adequate replacement therapy prevent development of MOF. Implementation of additional factors leads to increased thrombin concentration, systemic activation and consumption of 'substrate factors', anticoagulants and platelets, formation of fibrin thrombi that block microcirculation. Thereafter, the process of hyperfibrinolysis is triggered, which can result in a hemorrhage. Therefore, formation of thrombi in the microcirculation bloodstream resulting in reduced oxygen deliver to cells and tissues and causing development of severe MOF is the main morphological feature of DIC [11].

The purpose of this study is to characterize the features of the development and course of DIC during bleeding, as well as identify the main predictors of its formation during surgical interventions in children with oncological diseases. The study relevance is related to efficacy assessment of the current anesthetic techniques of supporting surgery in children with oncological diseases.

Materials and Methods

A retrospective observational study has been carried out. Informed consent to medical data keeping, gathering and processing including research purposes was obtained from all lawful representatives of children under the study. The published information was anonymized, the ethical principles were observed. Children under 18 years of age with oncological pathology who received surgical treatment in Federal State Budgetary Institution, The Dmitry Rogachev National Medical Research Center for Children's Hematology, Oncology, and Immunology, the Russian Health Ministry, for the period from 2017 to 2019 years were chosen for the study ($n=2036$). The exclusion criteria included absence of an intraoperative hemorrhage that required use of blood components; a preoperative hemorrhage that required blood component therapy and preoperative DIC; preoperative antiplatelet and/or anticoagulant therapy; confirmed preoperative infection complications of bacterial or fungal origin such as a catheter-related blood and urinary tract infection, pneumonia (CPIS>6), neuroinfections; resuscitation measures 30 days before surgery; MLV and/or inotropic support 7 days before surgery; presence of decompensated heart failure (Class IV according to modified Ross classification) and/or one of the following factors: left ventricle ejection fraction <55%, TAPSE <17 mm, non-resolved congenital heart defect, or stunt-dependent systemic-pulmonary blood circulation, pulmonary hypertension (Ppa>35 mmHg); severe liver failure: PELD (Pediatric End-Stage Liver Disease) score over 20 in children under 12 years of age and MELD (Model of End-Stage Liver Disease) score over 20 in children older than 12 years of age); Failure stage and a higher stage according to pRIFLE. The resulting cohort was split into groups of patients: the 1st (main) group included children with DIC on postoperative day 2, the 2nd (control) group included children without DIC. Patients for whom there were no data to diagnose DIC on postop-

им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России за период с октября 2017 по октябрь 2019г ($n=2036$). Критериями исключения были: отсутствие интраоперационного кровотечения, требующего применения гемоконцентратов; наличие кровотечения до операции, требующее проведения гемоконцентратной терапии и ДВС-синдрома; прием антиагрегантов и/или антикоагулянтов до операции; наличие доказанных инфекционных осложнений бактериальной или грибковой этиологии до операции, таких как катетер-ассоциированные инфекции кровотока и мочевыводящих путей, пневмония (CPIIS>6 баллов), нейроинфекции; проведенные реанимационные мероприятия за 30 дней до операции; проведение ИВЛ и/или инотропной поддержки за 7 дней до операции; наличие декомпенсированной сердечной недостаточности (Класс IV по модифицированной классификации Ross) и/или одного из следующих факторов — фракции выброса левого желудочка <55%, TAPSE <17 mm, наличие некоррегированного врожденного порока сердца или шунт-зависимого системно-легочного кровотока, легочной гипертензии (Рла>35 mmHg); наличие тяжелой печеночной недостаточности (более 20 баллов по шкале PELD (Pediatric End-Stage Liver Disease) у детей до 12 лет и по шкале MELD (Model of End-Stage Liver Disease) у детей после 12 лет); стадии недостаточность (Failure) и выше по шкале pRIFLE. После применения данных критериев полученную когорту разделили на две группы пациентов: 1-я группа (основная) — дети с ДВС-синдромом на вторые сутки после операции, 2-я (контрольная) — без ДВС-синдрома. При этом пациенты, у которых не было данных для оценки наличия или отсутствия ДВС синдрома на 2-е сутки после операции, были исключены из анализа. Дизайн исследования представлен на рис. 1.

Диагностику ДВС-синдрома на 2-е сутки после операции проводили по модифицированной системе оценки ISTH (International society on thrombosis and haematostasis). Оценка по данной шкале основана на суммировании баллов, которые получают, учитывая количество тромбоцитов ($>100 \times 10^9/\text{л} = 0$, $<100 \times 10^9/\text{л} = 1$ и $<50 \times 10^9/\text{л} = 2$), содержание фибриногена ($>100 \text{ мг/дл} = 0$, $<100 \text{ мг/дл} = 1$), протромбиновое время ($<15 \text{ с} = 0$, $>15 \text{ с} = 1$, $>18 \text{ с} = 2$) и содержание D-димера ($<301 \text{ нг/мл} = 0$, $>301 \text{ нг/мл} = 1$, $>400 \text{ нг/мл} = 2$). На наличие ДВС-синдрома указывала сумма баллов по данной шкале, равная 5 баллам и более.

Из электронных историй болезни, наркозных карт и журналов мониторинга регистрировали показатели мониторинга, данные лабораторных исследований, особенности проводимой терапии. Собирали данные о демографии пациентов, области вмешательства, проведенной предоперационной полихимиотерапии и лучевой терапии, оценке анестезиологического риска. Оценку тяжести СПОН проводили с использованием шкалы pSOFA [12].

Тяжесть поражений печени оценили по шкале PELD у детей до 12 лет, шкале MELD — у детей после 12 лет. Для характеристики почечной дисфункции использовали шкалу pRIFLE. Определение скорости клубочковой фильтрации проводили по модифицированному уравнению Шварца. Максимальные значения вазоинотропного индекса (VIS) были использованы для учета интенсивности проводимой

еративе day 2 were excluded for the analysis. The study design is shown on fig. 1.

DIC diagnosis on postoperative day 2 was made using modified ISTH (International society on thrombosis and haematostasis) assessment system. The assessment is based on summing up scores of platelet count ($>100 \times 10^9/\text{л} = 0$, $<100 \times 10^9/\text{л} = 1$ and $<50 \times 10^9/\text{л} = 2$), fibrinogen ($>100 \text{ mg/dl} = 0$, $<100 \text{ mg/dl} = 1$), prothrombin time ($<15 \text{ sec} = 0$, $>15 \text{ sec} = 1$, $>18 \text{ sec} = 2$), and D-dimer ($<301 \text{ ng/ml} = 0$, $>301 \text{ ng/ml} = 1$, $>400 \text{ ng/ml} = 2$). The total score of 5 and over indicated the presence of DIC.

Monitoring figures, laboratory findings, and therapy features were taken from electronic case files, narcosis sheets, and monitoring logs. Data on patients' demography, area of intervention, preoperative polychemotherapy and radiation therapy, anesthesiology risk assessment were collected. MOF severity was assessed according to pSOFA [12].

Liver impairment severity was assessed using PELD score in children under 12 years of age and using MELD score — in children older than 12 years of age. Renal dysfunction was assessed with the help of pRIFLE. Glomerular filtration rate was determined using modified Schwarz's equation. Maximal values of the vasoconstrictive index (VIS) were used to account inotropic support intensity during a surgery and postoperative 24 hours. The volume and quality of infusion and transfusion therapy were accounted. Total blood loss, the length of intraoperative critical hypotension, and the events of massive blood loss were recorded. According to the American Heart Association, in children, hypotension is regarded as critical at systolic arterial blood pressure < 60 mm Hg in newborns; < 70 mm Hg in infants under 1 year of age; $<70 \text{ mm Hg} + (2 \times \text{age in years})$ — in children aged 1 to 10 years; <90 mm Hg in children older than 10 years of age [13]. The massive blood loss criteria include a blood loss exceeding one volume of circulating blood during 24 hours, or loss of 50% of the circulating blood volume within 3 hours, or the requirement for transfusion of 10% of the circulating blood volume every 10 minutes during active bleeding [14]. Renal replacement therapy during 30 postoperative days, the events of acute thrombosis and surgical revision for surgical hemostasis, the length of mechanical lung ventilation and patient's stay in ICU, and 90-day mortality and survival were accounted.

Anesthetic surgery management was carried out following the unified protocol adopted in the center. Children did not receive premedication on the eve of surgery. Preoperative preparation included an extended examination that included laboratory diagnostics (total blood count; urinalysis; coagulogram; blood chemistry — renal and liver tests, blood serum electrolytic composition; infection monitoring; blood group and Rh factor), and instrumental diagnostics (chest X-ray; ECG and Echo-CG). Intraoperative baseline monitoring of general anesthesia efficacy included: respiratory capacity and minute volume, and airways pressure; inspiratory oximetry; CO₂ analysis; pulse oximetry; invasive and non-invasive arterial blood pressure measurement; electrocardiography; measurement of anesthetic concentration in the inhaled mixture and breathing gas flow; thermometry. Induction into anesthesia was performed using sevoflurane through fast inhalation induction based on pulmonary capacity, or, if vascular access is possible, 1% propofol intravenously at 1.5–2.5 mg/kg. Then, after the central ve-

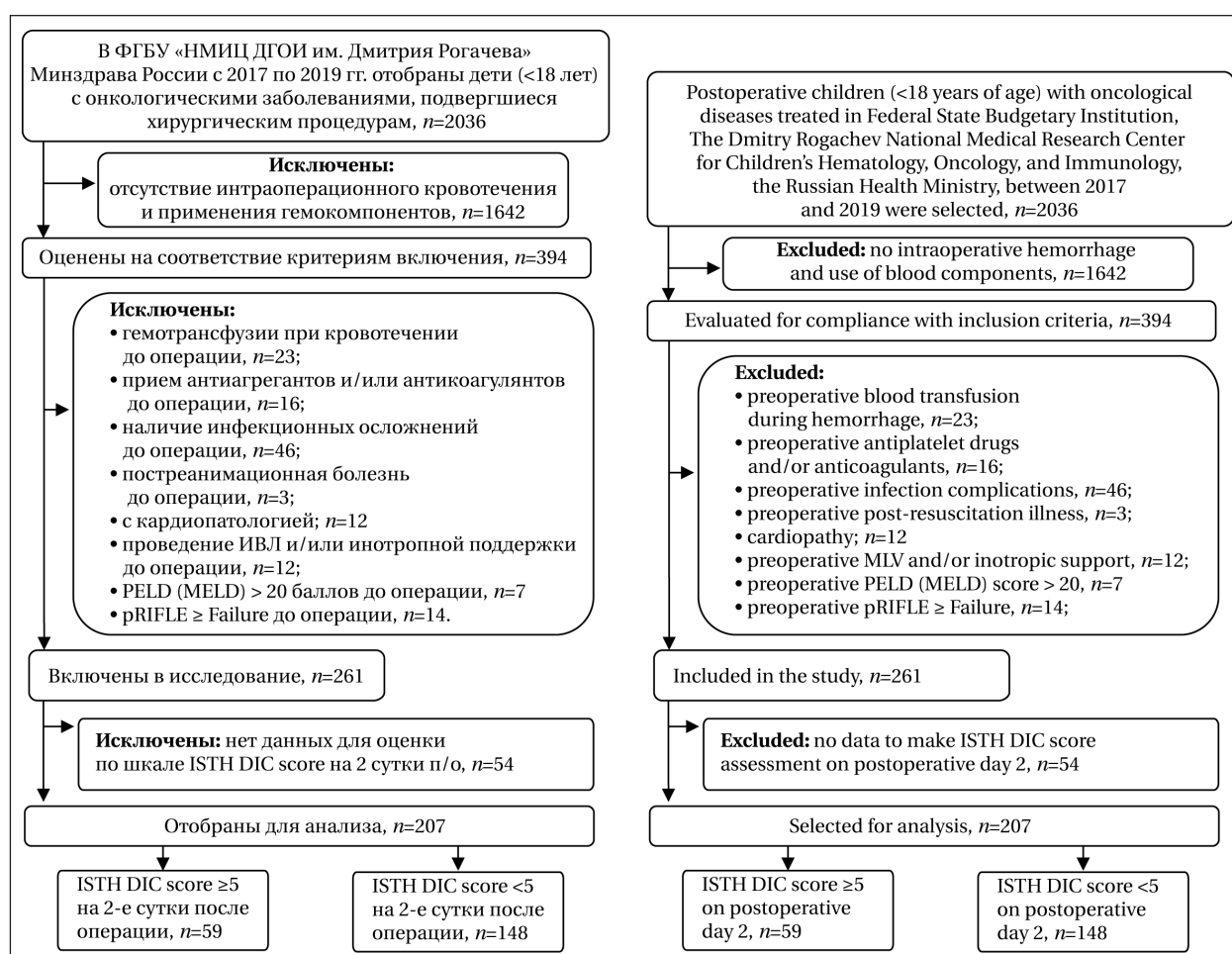


Рис. 1. Дизайн исследования.

Fig. 1. Study design.

инотропной поддержки на операции и в течение 24 часов после операции. Проводили учет объема и качества проведенной инфузионной и трансфузионной терапии. Регистрировали общую кровопотерю, длительность периода критической гипотензии на операции и случаи массивной кровопотери. Согласно рекомендациям Американской кардиологической ассоциации критической гипотензией у детей считаются показатели систолического артериального давления ниже расчетных: < 60 мм рт. ст. у новорожденных; < 70 мм рт. ст. у детей до 1 года жизни; < 70 мм рт. ст. + (2 × возраст в годах) — у детей от 1 до 10 лет; < 90 мм рт. ст. у детей старше 10 лет [13]. Критериями массивной кровопотери являются: потеря крови, превышающая один объем циркулирующей крови в течение 24 часов, либо потеря 50% объема циркулирующей крови в течение 3-часового периода, либо необходимость в трансфузии 10% ОЦК каждые 10 минут при активном кровотечении [14]. Проводили учет применения заместительной почечной терапии в течение 30 суток после операции, случаев острого тромбоза и повторного хирургического вмешательства с целью хирургического гемостаза, длительности искусственной вентиляции легких, срока пребывания пациента в ОРИТ, 90-дневной смертности и выживаемости.

Анестезиологическое обеспечение операций проводили по единому, принятому в центре, прото-

нους access had been established, neuromuscular relaxants (pipecuronium bromide at a dose of 0.04–0.06 mg/kg or rocuronium bromide at a dose of 0.6 mg/kg) and narcotic analgesics (fentanyl, 2–5 mg/kg) were administered and trachea intubation was subsequently performed. During surgery and at its end, prophylaxis with antibiotics was carried out. Normal body temperature was maintained intraoperatively with the help of a thermal mattress and convection air systems to warm the patient. If medically required, the epidural space catheterization with morphine (0.05–0.1 mg/kg) or Ropivacaine (0.2–0.4 mg/kg/hr.) analgesia was carried out. Urine catheter and gastric tubes were inserted and radial artery was catheterized for invasive arterial blood pressure monitoring. Combined anesthesia was maintained by inhalation of sevoflurane (1 MAC) and continuous intravenous infusion of fentanyl (5–10 mg/kg/hr); myoplegia was maintained by continuous infusion of a neuromuscular relaxant. Mechanical lung ventilation was carried out in the normal ventilation mode with intraoperative monitoring of CO₂ and arterial (venous) blood gases every hour. The infusion therapy was performed using crystalloid solutions according to rule 4–2–1 following the Holliday, Segar, or Oh scheme [15]. In case of hypoalbuminemia of less than 30 g/l, transfusion of 25% albumin at 5–10 ml/kg was done. In case of bleeding a bolus Gelo-fusine dose of 10–15 ml/kg was administered; and to maintain the target arterial blood pressure, noradrena-

колу. Накануне операции детям не назначали премедикацию. Предоперационная подготовка предусматривала расширенное обследование, включающее лабораторную диагностику (общий анализ крови; общий анализ мочи; коагулограмму; биохимический анализ крови — почечные и печеночные пробы, электролитный состав сыворотки крови; инфекционный мониторинг; определение группы крови и резус фактора) и инструментальную диагностику (рентген органов грудной клетки; ЭКГ и ЭхоКГ). При выполнении вмешательств базовый мониторинг эффективности общей анестезии включал: регистрацию дыхательного и минутного объемов, а также давления в дыхательных путях; инспираторную оксиметрию; капнометрию; пульсоксиметрию; инвазивное и неинвазивное измерение артериального давления; электрокардиографию; измерение концентрации анестетика во вдыхаемой смеси и потока дыхательной смеси; термометрию. Индукцию в анестезию осуществляли севофлураном, методом быстрой ингаляционной индукции по жизненной емкости легких, или, при наличии сосудистого доступа, внутривенно 1% пропофолом 1,5–2,5 мг/кг. Затем, после обеспечения центрального венозного доступа, выполняли введение миорелаксантов (пипекурония бромид в дозе 0,04–0,06 мг/кг или рокурония бромид 0,6 мг/кг) и наркотических анальгетиков (фентанил 2–5 мкг/кг) с последующей интубацией трахеи. Во время операции и после ее окончания проводили антибиотикопрофилактику. Поддержание нормотермии на операции осуществляли за счет использования термоматраса и конвекционных воздушных систем для обогрева пациента. По показаниям выполняли катетеризацию эпидурального пространства, с анальгезией морфином (0,05–0,1 мг/кг) или ропивакаином (0,2–0,4 мг/кг/час). Устанавливали мочевого и желудочные зонды, катетеризировали лучевую артерию с целью инвазивного мониторинга артериального давления. Поддержание анестезии осуществляли с помощью комбинированной анестезии — ингаляционно подавали севофлуран (1 MAC), внутривенно проводили постоянную инфузию фентанила (5–10 мкг/кг/час), миоплегию поддерживали методом постоянной инфузии миорелаксанта. Искусственную вентиляцию легких проводили в режиме нормовентиляции под контролем капнометрии и артериальных (венозных) газов крови, которые выполнялись каждый час во время операции. Инфузионную терапию проводили кристаллоидными растворами согласно правилу 4–2–1 по схеме Holliday, Segar или Oh [15]. При гипоальбуминемии менее 30 г/л проводили трансфузию 25% альбумина 5–10 мл/кг. При кровотечении вводили болюс гелофузина 10–15 мл/кг, а также для поддержания целевого артериального давления использовали инфузию норадrenalина — 0,05–0,3 мкг/кг/мин, до устранения гиповолемии. Гемостатическую терапию начинали с введения аминокaproновой кислоты — 2 мл/кг или транексамовой кислоты — 15 мг/кг. После проводили забор крови для экстренного выполнения коагулограммы. При массивном кровотечении применяли свежемороженную плазму (СЗП) — 20 мл/кг, если этого было недостаточно — использовали концентрат факторов свертывания (Протромплекс 600) в возрастных

line was infused at 0.05–0.3 mg/kg/min until hypovolemia was reversed. The hemostatic therapy began with administration of amino caproic acid at a dose of 2 ml/kg, or tranexamic acid at 15 mg/kg. Thereafter, blood was sampled for emergency coagulogram. In case of massive bleeding, fresh-frozen plasma (FFP) — 20 ml/kg — was used; when that was insufficient, factor concentrate (Prothromplex 600) at age doses was used. If a bleeding continued, children were administered with an additional dose of FFP (15–20 ml/kg — at 1.5-fold INR over the norm and fibrinogen less than 1 g/l); cryoprecipitate (at fibrinogen less than 1 g/l — 0.5 dose/kg); platelet concentrate (at platelets count less than $50 \times 10^9/l$ — 0.3–0.5 dose/kg); additional 2 ml/kg dose of amino caproic acid, or continuous infusion of tranexamic acid at 2–5 mg/kg/hr. At the end of surgery, depending on the child's general condition, children were aroused and, after observation in the post anesthesia care unit, transferred to a specialized unit, or not aroused and transferred under MLV to ICU where MLV continued. Immediately after transfer from the operating room, as a rule, MLV was performed with $FiO_2=100\%$. Later, FiO_2 was selected with regard to blood gases until adequate figures were achieved. When necessary, children received vasoactive drugs: adrenaline, noradrenaline, dopamine. Sedation and analgesia was achieved by bolus doses or infusions of remifentanyl and/or fentanyl, which were discontinued shortly before extubation. Enteral feeding was commenced within the first 48 hours after surgery. The ICU postoperative examination plan included standard laboratory tests (total blood count; urinalysis; coagulogram; blood chemistry — renal and liver tests, blood serum electrolytes; bacteriological monitoring), and instrumental diagnostics (chest X-ray; ECG and Echo-CG).

Statistical methods. Demographic characteristics were presented with the help of descriptive statistics, continuous data — as median and interquartile ranges. Parameters characterizing qualitative indicators were shown as an absolute figure and a relative value in percent (%). For qualitative indicators, contingency tables where the Pearson Chi-square (χ^2) test with Yates' correction was applied if $n_{events}=5-9$ in one of cells; and if $n_{events}<5$, Fisher's exact test was used. For quantitative evaluation of differences found between the groups under study and a relation between a certain outcome and a risk factor, the odds ratio (OR) was calculated with the upper and lower 95% confidence interval (95%CI). Normality of quantitative indicators' distribution was checked by the Shapiro–Wilk test. The inter-group comparison of quantitative indicators between two groups, which distribution was asymmetric, or their dispersions were not homogeneous at a normal distribution, was performed using the Mann–Whitney *U*-test. For the comparison of indicators in the main and control groups at treatment stages, repeated measures analysis of variance was applied. Survivability was analyzed by building life tables with graphical presentation of survivability curves according to Kaplan–Meier. Comparison of survivability curves was carried out using logrank test. Statistical hypotheses were considered confirmed at significance level $P<0.05$, for post hoc comparisons — at $P<0.017$. The final stepwise logistic regression model included indicators, which had been present before DIC development on postoperative day two, were selected through single-factor analysis ($P<0.05$), had less than 10% of missing data,

дозировках. Если кровотечение продолжалось, то больным назначали: дополнительную дозу СЗП (15–20 мл/кг — при удлинении МНО в 1,5 раза от нормы и содержании фибриногена менее 1 г/л); криопреципитат (при содержании фибриногена менее 1 г/л — 0,5 дозы/кг); тромбомассу (при количестве тромбоцитов менее $50 \times 10^9/\text{л}$ — 0,3–0,5 дозы/кг); дополнительные 2 мл/кг аминокaproновой кислоты или постоянную инфузию транексамовой кислоты — 2–5 мг/кг/час. После завершения операции, в зависимости от общего состояния, пациентов активизировали и после наблюдения в палате пробуждения переводили в профильное отделение, либо активизацию не проводили и больных на ИВЛ переводили в ОРИТ. После перевода в отделение интенсивной терапии пациенту продолжали ИВЛ. Сразу после перевода из операционной ИВЛ осуществляли, как правило, с $\text{FiO}_2=100\%$. В последующем FiO_2 подбирали с учетом газового состава крови до достижения адекватных показателей. При необходимости пациенты получали вазоактивные препараты: адреналин, норадреналин, допамин. Седации и анальгезии достигали путем введения болюсов или инфузии реланиума и/или фетанила, которые прекращали незадолго до экстубации. Энтеральное питание начинали в течение первых 48 часов после операции. План послеоперационного обследования в ОРИТ включал стандартные лабораторные тесты (общий анализ крови; общий анализ мочи; коагулограмму; биохимический анализ крови — почечные и печеночные пробы, электролитный состав сыворотки крови; бактериологический мониторинг) и инструментальную диагностику (рентген органов грудной клетки; ЭКГ и ЭхоКГ).

Статистические методы. Демографические характеристики представили описательной статистикой, непрерывные данные — как медианные и межквартильные диапазоны. Для показателей, характеризующих качественные признаки, указали абсолютное число и относительную величину в процентах (%). Для качественных признаков применили анализ таблиц сопряженности, где оценивали значение статистики Пирсона Хи-квадрат (χ^2) с поправкой Йейтса при $n_{\text{явлений}}=5-9$ в одной из ячеек, а при $n_{\text{явлений}} < 5$ использовали точный критерий Фишера. Для количественной оценки найденных различий исследуемых групп и связи между определенным исходом и фактором риска применили расчет отношения шансов (OR) с верхним и нижним 95% доверительным интервалом (95%CI). Проверку нормальности распределения количественных признаков провели с использованием критерия Шапиро-Уилка. Межгрупповое сравнение количественных показателей для двух групп, имеющее асимметричное распределение, либо при отсутствии гомогенности дисперсий при нормальном распределении, провели по *U*-критерию Манна-Уитни. Для сравнения показателей в основной и контрольной группах на этапах лечения использовали дисперсионный анализ повторных измерений. Анализ выживаемости провели путем построения таблиц дожития с графическим изображением кривых выживаемости по методу Каплана-Майера. Сравнение кривых выживаемости провели с помощью логрангового критерия. Статистические гипотезы считались подтвер-

and were clinically plausible. The multivariate analysis results were presented as an odds ratio and 95% confidence intervals; $P < 0.05$ were considered statistically significant. The accuracy of multivariate model forecasting was checked by analyzing the area under ROC-curve. To determine parameter cutoff points, characteristic curves (ROC-curves) were built. The value on the ROC-curve with the highest sum of sensitivity and specificity was determined as the parameter cutoff point. Statistical analysis of data was carried out according to standard methods using MedCalc version 11.3.3 (MedCalc Software) and STATISTICA version 8.0 (StatSoft, Inc.).

Results and Discussion

394 children with a bleeding that required a hemostatic therapy were identified from 2036 children subjected to surgery during 2 years. After the exclusion criteria were applied, the resultant cohort selected for analysis consisted of 207 children. From them, 59 children (15%) experienced DIC according to ISTH on postoperative day 2.

tables 1–4 show inter-group comparisons of the main characteristics under study. The quantitative indicators in the study groups had a distribution that differed from normal ($P < 0.05$).

Comparison of demographic and clinical data showed that children in the DIC group were of younger age, shorter, had a smaller body weight, a larger total blood loss and a greater number of massive blood loss events, a longer period of critical hypotension during surgery. The cases of metabolic acidosis, hypocalcemia and hyperchloremia were recorded more often in that group, too. The analysis of differences between the groups in the surgical field showed that a surgery on liver and retroperitoneal space are associated with a higher probability of DIC. Further statistical analysis established that in children with oncological diseases, the probability of DIC related to a surgery on liver is 3.86 times higher (OR=3.86 [1.72; 8.67]; $P=0.001$), and related to a surgery on retroperitoneal space is 2.09 times higher (OR=2.09 [1.07; 4.05]; $P=0.03$) compared to other surgeries. It was also discovered that in that group of patients, the probability of DIC related to an orthopedic surgery is 72% lower (OR=0.28 [0.11; 0.69]; $P=0.006$) than other surgeries. The odds ratio analysis has shown that there is no statistically significant relation between nasopharynx surgeries and development of DIC (OR=0.09 [0.01; 1.58]; $P=0.1$).

Analysis of the infusion and hemostatic therapy performed intraoperatively and during the first 24 hours postoperatively showed that children in the DIC group received higher volumes of colloids (Gelofusine and 25% albumin) and crystalloids (0.9% sodium chloride and Sterofundin), also required a larger volume of RBC suspension, fresh-frozen plasma, and platelet concentrate. Besides, in the DIC group, the scope of intraoperative and postoperative inotropic support was significantly greater than the group without DIC.

жденными при уровне значимости $p < 0,05$, для апостериорных сравнений $p < 0,017$. В окончательную модель пошаговой логистической регрессии включили признаки, которые были до развития ДВС-синдрома на вторые сутки после операции, отобранные в результате однофакторного анализа ($p < 0,05$), с менее 10% пропущенных данных, и были клинически правдоподобными. Результаты многофакторного анализа представили как отношение шансов и 95% доверительные интервалы; p значения $< 0,05$ считали статистически значимыми. Точность прогнозирования многофакторной модели проверили по анализу площади под кривой ROC. Для определения точки разделения параметров построили характеристические кривые (ROC). Значение на ROC с наибольшей суммой чувствительности и специфичности определили как точку разделения параметра. Статистический анализ данных провели согласно общепринятым методам, используя программы MedCalc версии 11.3.3 (MedCalc Software) и STATISTICA версии 8.0 (StatSoft, Inc.).

Результаты и обсуждение

Идентифицировали 394 пациента с кровотечением, потребовавшим применение гемостатической терапии, из 2036 прооперированных за 2 года больных. После применения критериев исключения когорты, отобранная для анализа, содержала 207 больных. Из них, 59 больных (15%) имели на 2-е сутки после операции ДВС-синдром согласно шкале ISTH.

В табл. 1–4 представили межгрупповые сравнения основных исследуемых характеристик. Количественные показатели в группах исследования имели распределение, отличное от нормального ($p < 0,05$).

Сравнение демографических и клинических данных показало: больные в группе с ДВС-синдромом имели меньший возраст, рост, массу тела, большую общую кровопотерю и число случаев массивной кровопотери, больший период критической гипотензии во время операции. Также в данной группе чаще регистрировали случаи метаболического ацидоза, гипокальцемии и гиперхлоремии. Анализ различий групп по области операции показал, что операции на печени и забрюшинном пространстве сопряжены с большей вероятностью развития ДВС-синдрома. Дальнейший статистический анализ выявил, что у детей с онкологическими заболеваниями вероятность развития ДВС-синдрома при операциях на печени в 3,86 раза выше ($OR = 3,86$ [1,72; 8,67]; $p = 0,001$), а при операциях в области забрюшинного пространства в 2,09 раза выше ($OR = 2,09$ [1,07; 4,05]; $p = 0,03$), чем при других операциях. Также выявили, что у данной группы больных при ортопедических операциях на 72% уменьшается вероятность развития ДВС-синдрома ($OR = 0,28$ [0,11; 0,69]; $p = 0,006$), чем при других

Comparison of laboratory tests' data between the two groups before surgery showed that children in the DIC group had a smaller count of platelets, fibrinogen, and a more prominent anemia syndrome vs. the group without DIC. 48 hours after surgery, significant differences between the study groups were found in all indicators given in the table. The anemia syndrome, hyperbilirubinemia, decreased GFR, hypoalbuminemia, impaired tissue perfusion (hyperlactatemia and reduced oxygen saturation of pooled venous blood) on the second postoperative day were considerably more severe in the DIC group. The latter group of patients experienced more severe hemostasis impairment in the extrinsic, intrinsic, and final coagulation pathways and more significant thrombocytopenia, hypofibrinogenemia, and hyperfibrinolysis, i.e. alterations typical for coagulopathy. The group without DIC did not feature so significant changes. On the seventh day it was discovered that the albumin figures did not differ between the groups and were improving. Total bilirubin figures were significantly higher in the DIC group and remained at the level of postoperative day two figures. In the group without DIC, bilirubin decreased and tended to preoperative figures. On the postoperative day seven, GFR was progressively worsening and significantly lower in the DIC group. In the group without DIC, GFR remained normal.

It has been established that in the DIC group, the probability of revision for surgical hemostasis was 8.3 times higher than in the group without DIC ($OR = 8.3$ [1.6; 42.2]; $P = 0.01$). The hemorrhage therapy continued in ICU immediately after surgery according to the Center's protocol. A bleeding fully stopped by the end of the first 24 hours. Subsequent blood transfusions were performed in ICU for replacement and correction purposes. The acute thrombosis cases verified postoperatively during the 90-day follow-up period had the following locations: the inferior and superior venae cava, jugular veins, kidney and liver vessels, celiac trunk vessels, also intracardiac thrombi and pulmonary artery thrombi. In the DIC group, the probability of detecting acute thrombosis was 4.5 times higher compared to the group without DIC ($OR = 4.5$ [1.4; 14.3]; $P = 0.01$).

The repeated measures analysis of variance for MOF severity assessed according to pSOFA established differences between the groups ($P < 0.001$), differences in time periods ($P < 0.001$), and differences between the groups in their time periods ($P < 0.001$). The Mann-Whitney U -test of intra-group differences in MOF severity in the groups at each stage of the study found that there was no significant difference between the groups in MOF severity before surgery ($P = 0.1$), while on postoperative days two ($P < 0.001$) and seven ($P < 0.001$) MOF severity was higher in the DIC group. The repeated measures analysis of variance for liver fail-

Таблица 1. Демографические и клинические данные.

Table 1. Demographic and clinical data.

Indicators	DIC (+), n=59	DIC (-), n=148	Statistical analysis
Gender: Male, n (%) / Female, n (%)	28 (47%)/31 (53%)	75 (51%)/73 (49%)	$\chi^2=0.18$; $P=0.68$
Age (years)	3 (1.5; 8)	7 (2; 14)	$U=3198$; $P=0.003$
Body weight (kg)	14 (10; 24)	20.5 (13; 49)	$U=3139$; $P=0.002$
Height (cm)	100 (82; 136)	129 (89; 164)	$U=1813.5$; $P=0.02$
Surgical field, n (%):			
Brain	6 (10.2%)	23 (15.5%)	$\chi^2_{(YC)}=0.61$; $P=0.43$
Mediastinum and lungs	7 (11.9%)	9 (6.1%)	$\chi^2_{(YC)}=1.25$; $P=0.26$
Liver	16 (27.1%)	13 (8.8%)	$\chi^2=11.8$; $P<0.001$
Spleen	3 (5%)	2 (1.4%)	$P=0.14$
Retroperitoneal space	21 (35.6%)	31 (20.9%)	$\chi^2=4.8$; $P=0.03$
Intestines	0	7 (4.7%)	$P=0.2$
Bones	6 (10.2%)	43 (29.1%)	$\chi^2_{(YC)}=7.31$; $P=0.007$
Nasopharynx	0	12 (8.1%)	$P=0.021$
Soft tissue of the head and neck	0	8 (5.4%)	$P=0.11$
Chemotherapy and Radiation before surgery, n (%)	42 (71%)	89 (60%)	$\chi^2=2.22$; $P=0.14$
ASA risk, n (%)			
I	7 (11.9%)	28 (18.9%)	$\chi^2_{(YC)}=1.03$; $P=0.31$
II	29 (49.1%)	55 (37.2%)	$\chi^2=2.52$; $P=0.11$
III	19 (32.2%)	50 (33.8%)	$\chi^2=0.05$; $P=0.83$
IV	4 (6.8%)	15 (10.1%)	$P=0.6$
pSOFA before surgery (points)	1 (0; 2)	2 (0; 3)	$U=3730$; $P=0.1$
PELD(MELD) before surgery (points)	0 (0; 0)	0 (0; 6.8)	$U=3868$; $P=0.2$
pRIFLE before surgery, n (%)			
Risk	10 (16.9%)	34 (23%)	$\chi^2=0.92$; $P=0.34$
Injury	4 (6.8%)	16 (10.8%)	$P=0.45$
Blood loss (ml/kg)	33 (15; 73)	15 (7; 31)	$U=2763$; $P<0.001$
Massive blood loss, n (%)	18 (30.5%)	10 (6.8%)	$\chi^2=20.35$; $P<0.001$ $OR=6$ [2.6; 13.9]; $P<0.001$
Duration of critical hypotension during surgery (min)	35 (25; 40)	10 (0; 15)	$U=1179$; $P<0.001$
pH<7.2 and $HCO_3^-<20$ mmol/L [#] , n (%)	50 (84.7%)	67 (45.3%)	$\chi^2_{(YC)}=25.17$; $P<0.001$ $OR=6.7$ [3.1; 14.7]; $P<0.001$
iCa ²⁺ ≤1 mmol/L [#] , n (%)	10 (16.9%)	8 (5.4%)	$\chi^2_{(YC)}=5.7$; $P=0.017$ $OR=3.6$ [1.3; 9.7]; $P=0.011$
Cl ⁻ ≥110 mmol/L [#] , n (%)	47 (79.7%)	76 (51.4%)	$\chi^2=12.2$; $P<0.001$ $OR=3.7$ [1.8; 7.6]; $P<0.001$

Note. For table 1–4, Fig. 2: DIC — disseminated intravascular coagulation. pH<7.2 and $HCO_3^-<20$ mmol/L — metabolic acidosis; iCa²⁺≤1 mmol/L — hypocalcemia; Cl⁻≥110 mmol/L — hyperchloremia; [#] — during surgery and the first 24 hours after surgery. Used: Mann–Whitney test, analysis of contingency tables (Chi-square test, Chi-square test with Yates correction, Fisher's exact test), odds ratio (OR) with upper and lower 95% confidence interval (95% CI).

Примечание. Для табл. 1–4: indicators — показатели; для табл. 1–4, рис. 2: DIC — синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания; gender — пол; male — мужской; female — женский; age (years) — возраст (годы); body weight — масса тела; height — вес; surgical field — область операции; brain — головной мозг; mediastinum and lungs — средостение и легкие; liver — печень; spleen — селезенка; retroperitoneal space — забрюшинное пространство; intestines — кишечник; bones — кости скелета; nasopharynx — носоглотка; soft tissue of the head and neck — мягкие ткани головы и шеи; chemotherapy and radiation — химиотерапия и лучевая терапия; ASA risk — оценка риска анестезии; pSOFA (points) — оценка тяжести СПОН (баллы); PELD (MELD) — оценка тяжести печеночной недостаточности; pRIFLE, risk, injury — оценка почечной функции, риск, повреждение; blood loss — кровопотеря; massive — массивная; duration of critical hypotension during surgery (min) — длительность критической гипотензии во время операции (мин); pH<7.2 and $HCO_3^-<20$ mmol/L — метаболический ацидоз; iCa²⁺≤1 mmol/L — гипокальцемия; Cl⁻≥110 mmol/L — гиперхлоремия; [#] — during surgery and the first 24 hours after surgery before surgery — во время операции и первые 24 часа после операции; before surgery — до операции. Применяли: тест Манна–Уитни, анализ таблиц сопряженности (Хи-квадрат, Хи-квадрат с поправкой Йейтса, точный критерий Фишера), отношение шансов (OR) с верхним и нижним 95% доверительным интервалом (95% CI).

операциях. Анализ отношения шансов показал, что нет статистической значимой связи между операциями в области носоглотки и развитием ДВС-синдрома ($OR=0.09$ [0.01; 1.58]; $p=0.1$).

Анализ данных проведенной инфузионной и гемостатической терапии интраоперационно и в 1-е сутки после операции показал, что больные в группе с ДВС-синдромом имели большие объемы применения коллоидов (Гелофузина и 25% раствора альбумина) и кристаллоидов (0,9% раствора натрия хлорида и

ure severity assessed by PELD(MELD) score identified differences between the groups ($P<0.012$), differences in time periods ($P<0.001$), and differences between the groups in their time periods ($P<0.001$). The Mann–Whitney U -test of intra-group differences in liver failure severity at each stage of the study discovered that there was no significant difference between the groups in liver failure severity before surgery ($P=0.2$), while on postoperative days two ($P<0.001$) and seven ($P=0.01$) liver failure severity was higher in the DIC group.

Таблица 2. Особенности лекарственной терапии.**Table 2. Drug therapy.**

Indicators	DIC (+), n=59	DIC (-), n=148	Statistical analysis
Crystalloids (ml/kg)			
— 0.9% NaCl	9 (0; 23)	1 (0; 9)	$U=3231$; $P<0.004$
— Ringer's Lactate	0 (0; 22)	0 (0; 0)	$U=3949$; $P=0.28$
— Sterofundin® ISO	100 (35; 192)	62 (39; 105)	$U=3448$; $P=0.018$
Total crystalloids volume	142 (79; 247)	79 (58; 128)	$U=2818$; $P<0.001$
Colloids (ml/kg)			
— Gelofusine®	12 (0; 36)	3 (0; 12)	$U=2969$; $P<0.001$
— Albumin (Human) 25% solution	4 (0; 7)	0 (0; 0)	$U=1969$; $P<0.001$
RBCs (ml/kg)	27 (19; 48)	15 (10; 24)	$U=2089$; $P<0.001$
FFP (ml/kg)	26 (19; 44)	16 (8; 24)	$U=2461$; $P<0.001$
Cryoprecipitate (ml / kg)	0 (0; 0)	0 (0; 0)	$U=3801$; $P=0.15$
Platelet Concentrate (ml / kg)	0 (0; 8)	0 (0; 0)	$U=2843$; $P<0.001$
EAKK (mg/kg)	2.2 (2; 2.5)	2 (2; 2.5)	$U=840$; $P=0.33$
Tranexamic acid (mg/kg)	28 (16; 33)	22 (16; 27)	$U=706$; $P=0.09$
Ratio RBCs/FFP	1.1 (0.9; 1.5)	1.1 (0.8; 1.3)	$U=3262$; $P=0.1$
Prothromplex, n (%)	6 (10.2%)	9 (6.1%)	$\chi^2_{(YC)}=0.53$; $P=0.47$
VISmax during surgery (points)	20 (10; 40)	6 (0; 15)	$U=2096$; $P<0.001$
VISmax within 24 hours after surgery (points)	2 (0; 20)	0 (0; 0)	$U=2829$; $P<0.001$

Note. Used: Mann–Whitney test, analysis of contingency tables (Chi-square test with Yates correction).

Примечание. Crystalloids — кристаллоиды; 0,9% NaCl (normal saline) — физиологический раствор; Ringer's lactate — Рингера лактат; Sterofundin® ISO — Стерофундин; total crystalloids volume — общий объем кристаллоидов; colloids — коллоиды; Gelofusine® — Гелофузин; Albumin (Human) 25% solution — 25% раствор альбумина; RBCs (red blood cells) — эритроцитарная взвесь; FFP (fresh frozen plasma) — свежзамороженная плазма; cryoprecipitate — криопреципитат; platelet concentrate — тромбоцитарная масса; EAKK (ϵ -aminocaproic acid) — ϵ -аминокапроновая кислота; tranexamic acid — транексам; prothromplex — протромплекс; VISmax (maximum vasoconstrictor index) — максимальный вазоконстрикторный индекс; during surgery (points) — в течение операции (баллы); within 24 hours after surgery — в течение 24 часов после операции. Применяли — тест Манна–Уитни, анализ таблиц сопряженности (Хи-квадрат с поправкой Йейтса).

Стерофундина), а также требовали большего объема эритроцитарной взвеси, свежзамороженной плазмы и тромбоцитарной массы. Кроме этого, в группе больных с ДВС-синдромом объем инотропной поддержки на операции и после нее был значительно больше по сравнению с группой больных без ДВС-синдрома.

Сравнение данных лабораторных исследований двух групп до операции показало, что больные в группе с ДВС-синдромом имели меньшее количество тромбоцитов, фибриногена и более выраженный анемический синдром по сравнению с группой без ДВС-синдрома. Через 48 часов после операции выявили значимые различия между исследуемыми группами по всем представленным в таблице показателям. Анемический синдром, гипербилирубинемия, снижение СКФ, гипоальбуминемия, нарушения тканевой перфузии (гиперлактатемия и снижение насыщения кислородом смешанной венозной крови) на вторые сутки после операции были значительно выражены в группе больных с ДВС-синдромом. Данная группа больных имела более тяжелые изменения показателей гемостаза по внешнему, внутреннему и конечному пути свертывания крови, а также более выраженные тромбоцитопению, гипофибриногеномию и гиперфибринолиз, то есть изменения, характерные для коагулопатии. В группе без ДВС-синдрома таких выраженных изменений не было. На седьмые сутки обнару-

The DIC group displayed a longer MLV period and ICU stay vs. the group without DIC. It was also found that the incidence of kidney failure on the seventh day and the prevalence of renal replacement therapy (RRT) during the 30-day postoperative follow-up period was higher in patients with DIC. The probability of RRT was 9.8 times higher in the DIC group compared to the group without DIC (OR=9.8 [2; 48.8]; $P=0.005$).

The probability of 90-day mortality was 8.3 times higher in DIC patients vs. the group without DIC (OR=8.3 [1.6; 42.2]; $P=0.01$).

The 90-day survival with a standard deviation and 95% confidence intervals was equal to $84.41 \pm 6.49\%$ [71.69%; 97.13%] in the DIC group and $96.22 \pm 3.12\%$ [90.1%; 100%] in the group without DIC. The survival curves of the study groups and the findings of their comparison are given in fig. 2. The ad hoc test proved lower survival in the DIC group ($P=0.009$).

As a result of the single-factor analysis, the following indicators were selected: body weight; age; fibrinogen, preoperative platelet and BRC counts; maximal values of VIS index; critical hypotension duration; blood loss volume; presence of a massive blood loss, metabolic acidosis, hypocalcemia and hyperchloremia; used volumes of infusions and transfusion solutions. Those indicators were included in the final equation for the multivariate analysis of DIC predictors. The findings of the stepwise logistic regression analysis are shown in table 5.

Таблица 3. Данные лабораторных исследований.
Table 3. Laboratory tests data.

Indicators	DIC (+), n=59	DIC (-), n=148	Statistical analysis
Platelet count ($\times 10^9/l$)			
before surgery	180 (104; 280)	274 (215; 345)	$U=2300$; $P<0.001$
after 48 hours	52 (31; 81)	162 (122; 204)	$U=804$; $P<0.001$
aPTT (sec.)			
before surgery	32 (30.2; 34.6)	31.3 (29; 34.6)	$U=3328$; $P=0.25$
after 48 hours	47.5 (38.7; 72.5)	33.7 (29.2; 39.7)	$U=975$; $P<0.001$
PT (sec.)			
before surgery	12.6 (12.2; 13.7)	12.5 (11.8; 13.4)	$U=3250$; $P=0.17$
after 48 hours	19.6 (16.6; 25.8)	14.2 (12.9; 15.6)	$U=1036$; $P<0.001$
Fibrinogen (g/l)			
before surgery	2.3 (1.8; 3)	2.6 (2.02; 3.22)	$U=3005$; $P=0.036$
after 48 hours	0.9 (0.7; 1.2)	1.7 (1.3; 1.9)	$U=1454$; $P<0.001$
TCT (sec.)			
before surgery	25.8 (23.7; 28.5)	24.8 (22.9; 27.3)	$U=3082$; $P=0.06$
after 48 hours	32.7 (28.1; 37.1)	27 (25.2; 30.6)	$U=1165$; $P<0.001$
D-dimer (mg/ml)			
before surgery	0 (0; 0)	0 (0; 0)	$U=3480$; $P=0.39$
after 48 hours	1.1 (0.8; 1.5)	0.15 (0; 0.3)	$U=300$; $P<0.001$
Hemoglobin (g/l)			
before surgery	102 (95; 118)	112 (103; 122)	$U=2880$; $P=0.014$
after 48 hours	84 (79; 93)	104 (96; 113)	$U=709$; $P<0.001$
Lactate (mmol/l)			
before surgery	1.1 (0.8; 1.4)	1 (0.8; 1.4)	$U=3601$; $P=0.72$
after 48 hours	3.1 (1.9; 5)	1.2 (0.9; 2.0)	$U=1085$; $P<0.001$
SvO ₂ (%)			
before surgery	94 (90; 98)	93 (86; 96)	$U=3179$; $P=0.11$
after 48 hours	72 (61; 84)	82 (72; 90)	$U=2448$; $P<0.001$
Albumin (g/l)			RM-ANOVA (BSE — $P=0.04$; WSE-T — $P<0.001$; WSE-T*G — $P<0.21$)
before surgery	39 (35; 43)	40 (36; 44)	$U=3783$; $P=0.13$
after 48 hours	28 (22; 34)	31 (26; 36)	$U=3180$; $P=0.002$
on the 7 th day	36 (33; 40)	37 (34; 41)	$U=3830$; $P=0.17$
Total bilirubin ($\mu\text{mol/l}$)			RM-ANOVA (BSE — $P=0.025$; WSE-T — $P<0.005$; WSE-T*G — $P<0.001$)
before surgery	7.8 (4.7; 11.9)	9.4 (5.5; 15)	$U=3662$; $P=0.25$
after 48 hours	19 (13.2; 32.8)	14.7 (10.6; 25.2)	$U=2870$; $P=0.003$
on the 7 th day	20.1 (10.8; 52)	10.7 (7.4; 19.7)	$U=2442$; $P<0.001$
GFR (ml/min/1.73m ²)			RM-ANOVA (BSE — $P=0.002$; WSE-T — $P<0.001$; WSE-T*G — $P<0.001$)
before surgery	63 (43; 92)	76 (61; 103)	$U=3702$; $P=0.1$
after 48 hours	54 (36; 84)	81 (67; 95)	$U=2671$; $P<0.001$
on the 7 th day	48 (27; 67)	94 (69; 109)	$U=2045$; $P<0.001$

Note. Used: RM-ANOVA: BSE — Between-subjects factors (differences between groups); WSE — within subjects effects (T — differences in time periods, T * G — differences between groups in their time periods); Mann-Whitney test.

Примечание. Platelet count — число тромбоцитов; aPTT (Activated Partial Thromboplastin Time) — активированное частичное тромбопластиновое время; PT (Prothrombin time) — протромбиновое время; TCT (thrombin clotting time) — тромбиновое время; fibrinogen — фибриноген; D-dimer — Д-димер; hemoglobin — гемоглобин; lactate — лактат; SvO₂ (mixed venous blood oxygen saturation) — насыщение кислородом смешанной венозной крови; albumin — альбумин; total bilirubin — общий билирубин; GFR (glomerular filtration rate) — скорость клубочковой фильтрации; before surgery — до операции; after 48 hours — через 48 часов; on the 7th day — на 7 сутки. Применяли — RM-ANOVA: BSE — межгрупповой эффект (различия между группами); WSE — внутригрупповые эффекты (T — различия временных периодов; T*G — различия между группами в их временных рядах); тест Манна-Уитни.

жили, что показатели альбумина не отличались между исследуемыми группами и улучшались. Показатели общего билирубина были значительно выше в группе с ДВС-синдромом, оставаясь на уровне показателей, полученных на вторые сутки после операции. Тогда как в группе больных без ДВС-синдрома показатели билирубина уменьшались и стремились к дооперационным значениям. СКФ на седьмые сутки после операции прогрессивно ухудшалась и была значительно ниже в группе боль-

The multivariate analysis discovered that the age, preoperative platelet count, the duration of intraoperative critical hypotension, and hypocalcemia are independently related to DIC formation on postoperative day two in children with oncological diseases. According to the model presented, the probability of postoperative DIC development increases by 19% for every minute of critical hypotension, decreases by 20% for every year of life and by 1% for every 1000 platelets per microliter. Besides, detection of hypocalcemia ($i\text{Ca}^{+2} \leq 1 \text{ mmol/L}$) in-

Таблица 4. Послеоперационное состояние больных.**Table 4. The postoperative condition of patients.**

Indicators	DIC (+), n=59	DIC (-), n=148	Statistical analysis
Duration of mechanical ventilation (hours)	16 (4; 72)	2 (0; 6)	$U=2145$; $P<0.001$
pSOFA (points)			
for 2 days	7 (6; 8)	1 (0; 3)	$U=137$; $P<0.001$
on the 7 th day	4 (3; 8)*	1 (0; 2)*	$U=518$; $P<0.001$
pRIFLE on the 7 th day, n (%)			
Risk	15 (25.4%)	35 (23.6%)	$\chi^2=0.07$; $P=0.79$
Injury	8 (13.6%)	16 (10.8%)	$\chi^2_{(YC)}=0.1$; $P=0.75$
Failure	3 (5.1%)	0	$P=0.02$
RRT within 30 days after surgery, n(%)	7 (11.9%)	2 (1.4%)	$P=0.003$
PELD(MELD) (points)			
- for 2 days	6.3 (5; 12,6)	1.4 (0; 9)	$U=2589$; $P<0.001$
- on the 7 th day	2 (0; 10,1)*	0 (0; 8)*	$U=3400$; $P=0.01$
Repeated surgical hemostasis within 48 hours after surgery, n (%)	6 (8.5%)	2 (1.4%)	$P=0.007$
Acute thrombosis, n (%)	8 (13.6%)	5 (3.4%)	$\chi^2_{(YC)}=5.8$; $P=0.02$
Length of stay in the ICU (hours)	72 (17; 192)	18 (15; 32)	$U=2450$; $P<0.001$
90-day mortality (%)	6 (10.2%)	2 (1.4%)	$P=0.007$

Note. Used: Mann–Whitney test; analysis of contingency tables (Chi-square test, Chi-square test with Yates correction, Fisher's exact test); calculation of the odds ratio (OR) with 95% confidence intervals; * — $P<0.05$ for the Wilcoxon test.

Примечание. Duration of mechanical ventilation (hours) — длительность ИВЛ (часы); pSOFA (points) for 2 days, on the 7th day — оценка тяжести СПОН (баллы) на 2-е сутки, на 7-е сутки; pRIFLE, risk, injury, failure — оценка почечной функции, риск, повреждение, недостаточность; RRT (renal replacement therapy) within 30 days after surgery — ЗИП (заместительная почечная терапия) в течение 30 дней после операции; PELD(MELD) — оценка печеночной недостаточности; repeated surgical hemostasis within 48 hours after surgery — повторный хирургический гемостаз в течение 48 часов после операции; acute thrombosis — острый тромбоз; length of stay in the ICU (hours) — длительность пребывания в ОРИТ (часы); 90-day mortality — 90-дневная смертность. Применяли — тест Манна–Уитни; анализ таблиц сопряженности (Хи-квадрат, Хи-квадрат с поправкой Йейтса, точный критерий Фишера); расчет отношения шансов (OR) с 95% доверительными интервалами; * — $p<0,05$ для теста Уилкоксона.

ных с ДВС-синдром. В группе больных без ДВС-синдрома СКФ сохранялась на уровне нормы.

Установили, что в группе с ДВС-синдромом вероятность повторного хирургического вмешательства с целью хирургического гемостаза в 8,3 раза выше, чем в группе без ДВС-синдрома ($OR=8,3$ [1,6; 42,2]; $p=0,01$). В ОРИТ сразу после операции терапия геморрагического синдрома продолжалась согласно протоколу центра. Кровотечение полностью прекращалось к концу первых суток. Дальнейшие гемотрансфузии в отделение ОРИТ носили заместительный и корригирующий характер. Верифицированные после операции в течение периода наблюдения 90 дней случаи острого тромбоза имели следующую локализацию: нижняя и верхняя полые вены, яремные вены, почечные и печеночные сосуды, сосуды чревного ствола, а также внутрисердечные тромбы и тромбы в легочной артерии. В группе больных с ДВС-синдромом вероятность обнаружения острого тромбоза была в 4,5 раза выше по сравнению с группой без ДВС-синдрома ($OR=4,5$ [1,4; 14,3]; $p=0,01$).

При использовании дисперсионного анализа повторных измерений для степени тяжести СПОН, оцененной по шкале pSOFA, выявили различия между группами ($p<0,001$), различия временных периодов ($p<0,001$) и различия между группами в их временных периодах ($p<0,001$). При анализе межгрупповых раз-

traoperatively and within the first postoperative 24 hours 10-fold raises the probability of DIC diagnosis during the postoperative period. The area under ROC-curve was equal to: $AUC=0.94$ [0.9; 0.97], thus proving the excellent prognosis quality of the resultant model.

For the resultant DIC predictors, dichotomization by determining cutoff points on ROC curves produced the following findings: for variable 'age', the cutoff point was 8 years of age ($AUC=0.63$ [0.55; 0.72] $P=0.001$; sensitivity — 76%; Specificity — 45%); for critical hypotension duration — 25 min. ($AUC=0.87$ [0.8; 0.93] $P<0.001$; sensitivity — 75%; specificity — 99%); for the platelet count — $150 \times 10^9/l$ ($AUC=0.69$ [0.61; 0.78] $P<0.001$; sensitivity — 49%; Specificity — 87%).

The technological development of surgical oncology, anesthesiological and postoperative intensive care during oncological pathologies for the recent four decades has assisted extension of indications for resection of tumors which were previously considered difficult or undesirable. Children with large hypervascularized tumors encapsulating large blood vessels are now regarded as acceptable candidates for surgery. A surgery on such children is associated with a much greater severity of multiple organ failure and high mortality due to realization of the risk of intra — and postoperative blood loss, development and progression of a coagulopathy, perfusion impairments during unstable hemodynamics, postoperative thrombotic events, and

личий показателей тяжести СПОН в группах на каждом этапе исследования с использованием *U*-критерия Манна–Уитни установили, что до операции не было значимых различий между группами в тяжести СПОН ($p=0,1$), а на вторые ($p<0,001$) и седьмые сутки ($p<0,001$) тяжесть СПОН была выше в группе больных с ДВС-синдромом. При использовании дисперсионного анализа повторных измерений для степени тяжести печеночной недостаточности при ее оценке по шкалам PELD(MELD) выявили различия между группами ($p<0,012$), различия временных периодов ($p<0,001$) и различия между группами в их временных периодах ($p<0,001$). При анализе межгрупповых различий показателей тяжести печеночной недостаточности в группах на каждом этапе исследования с использованием *U*-критерия Манна–Уитни установили, что до операции не было значимых различий между группами в тяжести печеночной недостаточности ($p=0,2$), а на вторые ($p<0,001$) и седьмые сутки ($p=0,01$) тяжесть печеночной недостаточности была выше в группе больных с ДВС-синдромом.

В группе больных с ДВС-синдромом отмечались большие длительность ИВЛ и срок пребывания в ОРИТ по сравнению с группой без ДВС-синдрома. Также установили, что частота больных с почечной недостаточностью на седьмые сутки и частота применения заместительной почечной терапии (ЗПТ) за период наблюдения 30 дней после операции была выше у больных с ДВС-синдромом. При этом вероятность проведения ЗПТ была в 9,8 раз выше в группе больных с ДВС-синдромом, по сравнению с группой без ДВС-синдрома ($OR=9,8$ [2; 48,8]; $p=0,005$).

Вероятность 90-дневной летальности была в 8,3 раза выше у больных с ДВС-синдромом по сравнению с группой без ДВС-синдрома ($OR=8,3$ [1,6; 42,2]; $p=0,01$).

90-дневная выживаемость со стандартным отклонением и 95% доверительными интервалами составила в группе пациентов с ДВС-синдромом — $84,41 \pm 6,49\%$ [71,69%; 97,13%],

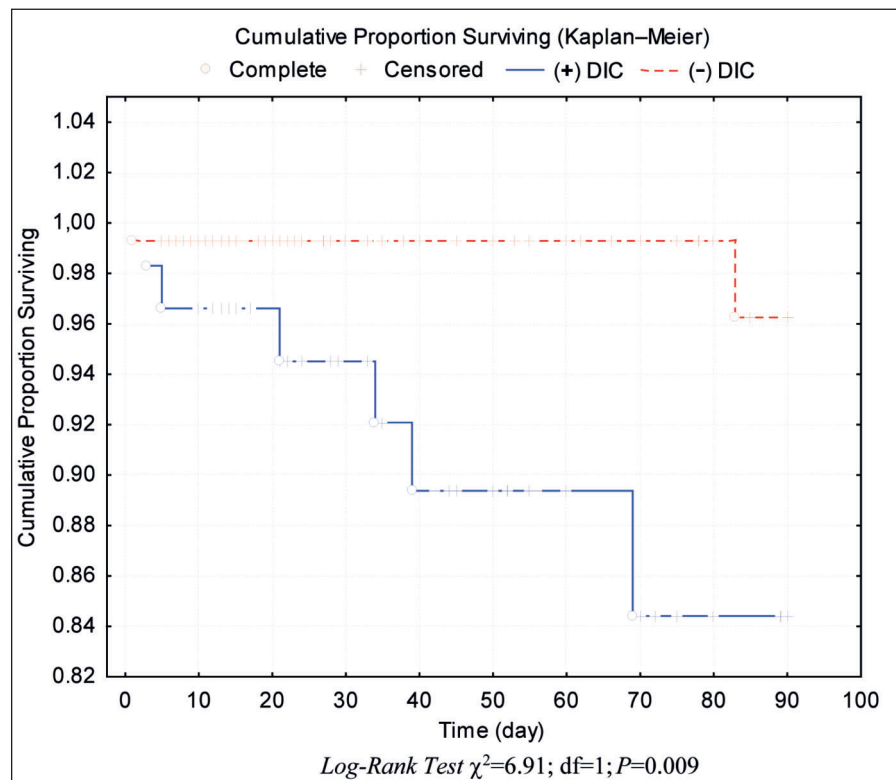


Рис. 2. Анализ выживаемости.
Fig. 2. Survival analysis.

the risks of massive blood transfusion and infusion therapy [16]. This explains the high probability of DIC development during liver and retroperitoneal space surgeries.

In spite of the fact that in this study, before surgery the resultant cohort did not include children with bleedings, MOF symptoms, an infection pathology, iatrogenic factors predisposing to a coagulopathy, it had been found that every sixth patient with a bleeding during a surgical correction of an oncological pathology developed DIC. This result approaches the DIC prevalence described in septic shock patients [17]. The low probability of DIC development during orthopedic surgeries demonstrated herein is connected with an older age of children of this group, predominance of little surgical traumas, greater opportunities for surgical and anesthesiological management of such interventions, which allows controlling the risk of thrombohemorrhagic complications.

Preoperative presence in children with oncological disease of an early age with a small body weight of such factors as a low platelet count and low fibrinogen is an indicator of misadaptation of the blood coagulation system in spite of absence of MOF, an infection pathology or iatrogenic factors of the said mechanism decompensation [18]. Intraoperatively, this mechanism is initiated because of sometimes inevitable bleeding into the hypocoagulation syndrome that is called 'coagulopathy'.

Таблица 5. Предикторы ДВС-синдрома у детей с онкологическими заболеваниями после операции
Table 5. Predictors of DIC in children with oncological diseases after surgery

Predictor	Multivariate analysis		
	OR	±95% CI	P value
Age (years)	0.8	[0.7; 0.9]	<0.001
Duration of critical hypotension during surgery (min)	1.19	[1.12; 1.25]	<0.001
$iCa^{2+} \leq 1$ mmol/l during surgery and the first 24 hours after surgery	10	[2; 47]	0.004
Platelet count before surgery ($\times 10^9/l$)	0.99	[0.98; 0.99]	<0.001

Note. Overall model fit $\chi^2=137$; $df=4$; $P<0.001$. ROC curve analysis — $AUC \pm SE$ 0.94 $\pm$ 0.02 95%CI [0.9; 0.97].

Примечание. Age (years) — возраст (годы); duration of critical hypotension during surgery (min) — длительность критической гипотензии во время операции (мин), $iCa^{2+} \leq 1$ mmol/l during surgery and the first 24 hours after surgery — уровень ионизированного кальция в сыворотке крови менее 1 ммоль/л в течение операции и в первые 24 часа после операции, Platelet count before surgery — количество тромбоцитов до операции. Оценка правдоподобности итоговой модели $\chi^2=137$; $df=4$; $p<0.001$. Анализ кривой ROC для оценки точности прогнозирования — $AUC \pm SE$ 0,94 $\pm$ 0,02 95%CI [0,9; 0,97].

а в группе без ДВС-синдрома — 96,22 $\pm$ 3,12% [90,1%; 100%]. Кривые выживаемости исследуемых групп, а также результаты их сравнения представили на рис. 2. По результатам логрангового теста доказали, что выживаемость в группе с ДВС-синдромом была ниже ($p=0,009$).

В результате однофакторного анализа отобрали признаки: масса тела; возраст; показатели фибриногена, количества тромбоцитов, гемоглобина до операции; максимальные показатели VIS индекса; длительность периода критической гипотензии; объем кровопотери; наличие массивной кровопотери, метаболического ацидоза, гипокальцемии и гиперхлоремии; объемы использованных инфузионных и трансфузионных растворов. Данные показатели включили в итоговое уравнение для проведения многофакторного анализа предикторов ДВС-синдрома. Результаты пошагового логистического регрессионного анализа представили в табл. 5.

В результате многофакторного анализа выявили, что возраст, предоперационное количество тромбоцитов, длительность периода критической гипотензии на операции, гипокальцемия независимо связаны с формированием ДВС-синдрома на вторые сутки после операции у детей с онкологическими заболеваниями. Согласно представленной модели, вероятность развития ДВС-синдрома в послеоперационном периоде увеличивается на 19% для каждой минуты критической гипотензии, уменьшается на 20% для каждого года жизни и на 1% для каждой 1000 клеток тромбоцитов на микролитр. Кроме этого, выявление факта гипокальцемии ($iCa^{2+} \leq 1$ mmol/L) интраоперационно и в первые 24 часа после операции в 10 раз увеличивает вероятность диагностики ДВС-синдрома в послеоперационном периоде. Площадь под ROC-кривой составила $AUC=0,94$ [0.9; 0.97], что показывает отличное качество прогнозирования полученной модели.

Для полученных предикторов развития ДВС-синдрома привели результаты дихотомии-

Many factors promote its progression. Administration of a large volume of infusion solutions causes dilution of coagulation factors [19]. In spite of predominant usage of balanced crystalloid solutions, hypervolemic metabolic acidosis, which is a factor of vascular endothelium damage and hypocoagulation bleeding progressing, develops inevitably. In 2014, based on the findings of a multi-center randomized study in children younger than 36 months of age, Nicola Disma demonstrated that Sterofundin infusion exceeding 46.7 ml per 1 kg causes hyperchloremia. The Sterofundin chloride concentration might well be too high for infants [20]. Gelofusine renders opposite effects on the hemostasis system: on the one hand, dilution of coagulation factors might increase the risk of excessive bleeding; on the other hand, a gelatin-related amplification of the aggregative properties of platelets, which leads to hypercoagulation and might be accompanied with decreased density of functioning capillaries and vascular resistance growth, has been proven. Modified gelatins are not recommended in children with impaired coagulation system or high risk of thrombotic complications [21]. Calcium is important: it supports the contractile capacity of myocardium and smooth muscle cells, is involved in platelet adhesion, provides activation of factors II, VII, IX, and X and C and S proteins, plays a role in the stabilization of fibrinogen and platelets in a developing thrombus. A hypocoagulation promoting hypocalcemia develops not so much due to calcium consumption in the course of coagulation as due to concurrent transfusion of sodium citrate administered together with blood components because liver hypoperfusion and hypothermia might compromise sodium citrate clearance [22]. In spite of factors predisposing to hypocoagulation and bleeding progression, there are also intraoperative hypercoagulation factors. Firstly, a surgical trauma initiates the coagulation system action according to the cellular coagulation theory [23]. Secondly, employment of an aggressive hemostatic and blood replacement therapy supports the hemostatic mechanism ac-

зации с помощью определения точки отсечения при построении ROC-кривых: для переменной «возраст» точка отсечения составила 8 лет (AUC=0,63 [0,55; 0,72] $p=0,001$; Чувствительность 76%; Специфичность 45%); для длительности критической гипотензии — 25 мин (AUC=0,87 [0,8; 0,93] $p<0,001$; Чувствительность 75%; Специфичность 99%); для уровня тромбоцитов $150 \times 10^9/\text{л}$ (AUC=0,69 [0,61; 0,78] $p<0,001$; Чувствительность 49%; Специфичность 87%).

За последние 4 десятилетия развитие технологий хирургической онкологии, анестезиологической и послеоперационной интенсивной терапии при онкологических заболеваниях способствовало расширению показаний к резекции опухолей, которые в прошлом считались трудными или нежелательными. Пациенты с большими гиперваскуляризованными опухолями, инкапсулирующими крупные кровеносные сосуды, теперь считаются приемлемыми кандидатами для хирургического лечения. Выполнение операции у таких пациентов сопряжено с значительным увеличением тяжести полиорганной недостаточности и высокой смертностью за счет реализации рисков интра — и послеоперационной кровопотери, развития и прогрессирования коагулопатии, перфузионных повреждений в период нестабильной гемодинамики, тромботических событий в послеоперационном периоде, а также рисков массивной гемотрансфузионной и инфузионной терапии [16]. Это объясняет высокую вероятность развития ДВС-синдрома при операциях на печени и забрюшинном пространстве.

Несмотря на то, что в данном исследовании полученная когорта до операции не содержала больных с кровотечениями, признаками СПОН, инфекционной патологией, ятрогенными факторами предрасполагающими к коагулопатии, выявлено, что каждый шестой пациент с кровотечением во время хирургической коррекции онкологической патологии развивает ДВС-синдром. Данный результат приближается к распространенности ДВС-синдрома описанной среди больных с септическим шоком [17]. Низкая вероятность развития ДВС-синдрома при ортопедических операциях, показанная в представленном исследовании, связана с большим возрастом больных данной группы, преобладанием малотравматичных хирургических процедур, большими возможностями хирургического и анестезиологического менеджмента данных вмешательств, позволяющим справиться с риском развития тромбгеморрагических осложнений.

У онкологических больных раннего возраста с низкой массой тела в предоперационном периоде наличие таких факторов как низкое количество тромбоцитов и фибриногена

tion. Thirdly, the pathophysiological centralization of blood circulation combined with a lengthy critical hypotension episode and a forced therapy with large doses of noradrenalin compromise perfusion, which leads to reduced delivery of oxygen to cells and tissues, while loss of endothelial hypocoagulation properties at a background of dilution and depletion of anticoagulant factors of the blood coagulation system predisposes to thrombus formation [24, 25].

These are the changes that cause a severe MOF. It is known that DIC is characterized by formation of fibrin markers (fibrinogen and fibrin degradation products) and reflects an acquired (inflammatory) or non-inflammatory disorder of microvasculature. World literature pays much attention to this mechanism of MOF development, while pathophysiological features of this process and approaches to a therapy for this condition are still investigated [18, 25]. So, coagulopathy transformation into an organ-type DIC takes place as early as intraoperatively during the first 24 postoperative hours. This fact is supported by a proven significant impairment of tissue perfusion (decreased pooled venous saturation and hyperlactatemia), growth of D-dimer in the DIC group. MOF during DIC involves lungs, liver, and cardiovascular system. In addition to fibrin markers, the laboratory peculiarities include: thrombocytopenia, decreased RBC, albumin, and GFR, as well as hyperbilirubinemia. According to the study findings, GFR decreased progressively in the DIC group not only due to kidney damage caused by hyperchloremia but due to ischemic impairment and microthrombus formation, too. This fact accounts for the growth of cases of kidney risk, damage, and failure diagnoses according to pRIFLE and a greater incidence of renal replacement therapy procedures in DIC patients. That group also had a higher PELD(MELD) score on postoperative day two. Hypocoagulation, hypoalbuminemia and renal dysfunction affected this result. Ischemic liver impairment is also associated with hyperbilirubinemia, which, in spite of hypoalbuminemia removal and INR normalization by the seventh day, persisted at the previous level. DIC patients required a prolonged mechanical lung ventilation due to lung parenchyma impairment at a background of an aggressive transfusion and infusion therapy. Verification, within 30 postoperative days, of a greater prevalence of life-threatening acute thrombosis located in kidneys, liver, and lungs in DIC patients confirms this hypothesis. These circumstances evidently increase the length of ICU stay and 90-day mortality in this group of patients.

Considering the retrospective study findings, it can be surmised that the current technique of prophylaxis and therapy of hemostatic and hemodynamic critical incidents needs improvement. An

является показателем дезадаптации системы свертывания крови, несмотря на отсутствие СПОН, инфекционной патологии и ятрогенных факторов декомпенсации данного механизма [18]. Во время операции данный механизм реализуется на фоне порой неизбежного хирургического кровотечения в гипокоагуляционный синдром, который называют коагулопатией. Его прогрессирование обеспечивает многие факторы. Введение большого объема инфузионных растворов вызывает дилуцию факторов свертывания [19]. Несмотря на использование преимущественно сбалансированных кристаллоидных растворов неизбежно развивается гиперхлоремический метаболический ацидоз, который, как известно, является фактором повреждения эндотелия сосудов и прогрессирования гипокоагуляционного кровотечения.

В 2014 году Nicola Disma основываясь на результатах проведенного мультицентрового рандомизированного исследования у детей младше 36 месяцев показал, что при инфузии стерофундина более 46,7 мл на 1 кг возникает гиперхлоремия. Вполне возможно, что концентрация хлорида в стерофундине слишком велика для детей младшей возрастной группы [20]. Действие гелофузина на систему гемостаза разнонаправлено: с одной стороны, дилуция факторов свертывания может привести к увеличению риска повышенной кровоточивости, с другой — доказано усиление агрегационных свойств тромбоцитов при применении желатина, приводящее к гиперкоагуляции, что может сопровождаться уменьшением плотности функционирующих капилляров и ростом сосудистого сопротивления. Применение модифицированных желатинов не рекомендовано при недостаточности системы свертывания и у пациентов с высоким риском тромботических осложнений [21].

Роль кальция важна — он обеспечивает сократительную способность миокарда и гладкомышечных клеток, участвует в адгезии тромбоцитов, обеспечивает активацию II, VII, IX и X факторов, а также белков C и S, играет роль в стабилизации фибриногена и тромбоцитов в развивающемся тромбе. Гипокальцемия, способствующая гипокоагуляции, развивается не столько за счет потребления кальция в процессе свертывания, сколько за счет сопутствующей трансфузии цитрата натрия, вводимого вместе с гемокомпонентами, ведь из-за гипоперфузии и гипотермии в печени может ухудшаться клиренс цитрата натрия [22].

Несмотря на предрасполагающие факторы гипокоагуляции и прогрессирования кровотечения, имеются и гиперкоагуляционные факторы во время операции. Во-первых, хирургиче-

adequate program of transfusion and hemostatic therapy for massive postoperative bleeding in children cannot be applied without an adequate bedside monitoring of the blood coagulation system. Conventional prescription of a 'total coagulogram' to all patients has a poor, limited diagnostic value. Thromboelastography can provide valuable data for targeted hemostasis therapy enabling defining concrete indications to use of this hemostatic drug or other [26–28]. Besides, an opinion exists that substitution of donor hemostatic products with recombinant fibrinogen products and coagulation factor concentrates may improve care outcome. For example, foreign experience shows efficacy of the transfusion-free fresh-frozen plasma strategy (FFP-free strategy) and fibrinogen concentrate in postcardiosurgical adults [29, 30]. The European Consensus on surgery recommends preferable use of isotonic balanced solutions and 1–2.5% glucose as an infusion therapy in pediatric practice [31]. Their safety, however, is yet to be assessed in children with oncological diseases undergoing surgery. According to international standards, surgery in children must be carried out under monitoring of hemodynamic parameters including cardiac output measurement. An intraoperative goal-directed therapy (GDT) taking into account hemodynamic parameters and tissue perfusion indicators can improve the efficacy of volume and inotropic therapy with regard to a particular clinical situation. Numerous studies demonstrate potential advantages of GDT, but there is no general consensus on GDT usage [32, 33]. The advantages of GDT in surgical patients and ICU include reduced incidence of cardiovascular complications and arrhythmia, acute kidney injury, respiratory failure, wound infection, faster recovery of normal gastrointestinal tract functions, and shorter stay in ICU and hospital [34]. A goal-directed therapy should commence as soon as possible because its late commencement does not decrease the 30-day mortality and prevalence of severe complications during stay in hospital compared to usual treatment of oncological patients who experienced a high-risk surgery [35].

Oncological patients are characterized by a high risk of development of thrombotic complications including pulmonary artery thromboembolism. Such complications worsen care outcomes and are among leading causes of death in patients with malignant neoplasms [36]. The study has found that in children with oncological diseases, postoperative MOF during DIC development is associated with progression of thrombotic processes and high prevalence of life-threatening thrombotic complications. Early prophylaxis and therapy for these conditions might improve survivability of this population of patients. Nevertheless, the problem of bleeding during thrombolytic therapy does not lose its relevance. Medicinal activation of the plas-

ская травма инициирует работу свертывающей системы согласно клеточной теории свертывания [23]. Во-вторых, применение агрессивной гемостатической и гемозаместительной терапии поддерживает работу гемостатического механизма. В-третьих, патофизиологическая централизация кровообращения, в совокупности с длительным эпизодом критической гипотензии, а также вынужденная терапия большими дозами норадреналина ухудшают перфузию, приводя к снижению доставки кислорода к клеткам и тканям, а потеря гипокоагуляционных свойств эндотелия на фоне дилатации и истощения антикоагулянтных факторов системы свертывания крови предрасполагает к тромбообразованию [24, 25].

Эти изменения и являются причиной развития тяжелого СПОН. Как известно, ДВС-синдром характеризуется образованием фибриновых маркеров (продукты распада фибриногена и фибрина) и отражает приобретенное (воспалительное) или невоспалительное расстройство микроциркуляторного русла. Этому механизму развития СПОН в мировой научной литературе уделяется большое внимание, а патофизиологические особенности данного процесса и подходы к терапии данного состояния до сих пор исследуются [18, 25].

Таким образом, коагулопатия трансформируется уже на этапе операции и первых суток после нее в ДВС-синдром «органного типа». Подтверждением данного фактора является доказанное значительное ухудшение показателей перфузии тканей (снижение смешанной венозной сатурации и гиперлактатемия), рост D-димера в группе больных с ДВС-синдромом. Полиорганная недостаточность при ДВС-синдроме представлена поражением легких, печени, сердечно-сосудистой системы. Лабораторными особенностями помимо фибриновых маркеров являются: тромбоцитопения, пониженные значения гемоглобина, альбумина, СКФ, гипербилирубинемия.

По результатам проведенного исследования в группе больных с ДВС-синдромом СКФ прогрессивно снижалась, что является не только результатом повреждения почек в результате гиперхлоремии, но и результатом ишемического повреждения и микротромбообразования. С этим фактом связан рост случаев диагностики по шкале pRIFLE почечного риска, повреждения и недостаточности, а также большая частота процедур заместительной почечной терапии у больных ДВС-синдромом. Также у данной группы больных была выше оценка по шкале PELD(MELD) на вторые сутки после операции. На данный результат влияли гипокоагуляция, гипоальбуминемия и почечная дисфункция.

min fibrinolysis system leads to depletion of the blood coagulation system. Hence, usage of plasminogen activators always bears a risk of bleeding. Subtilisin-based medicines lead to lysis of denatured proteins only and do not affect soluble protein factors of blood coagulation. Application of subtilisin-based drugs might help avoiding the risk of bleeding and achieving the optimal thrombolytic effect [37].

Thus, to abate the severity of organs' injuries during surgeries in children with oncological diseases and improve clinical outcomes, it is necessary to develop a tailored technology that would combine approaches and methods of resolving hemodynamic and hemostasis impairments and make application of the infusion, blood transfusion, hemostatic and antiplatelet therapies rational.

Conclusion

Children with oncological diseases have a high risk of DIC development during intraoperative bleeding that amounts to 15%.

The probability of DIC is increasing during liver and retroperitoneal space surgeries.

In children under 8 years of age with oncological diseases, during the postoperative period, in the setting of a low baseline platelet count (less than $150 \times 10^9/l$), hypocalcemia ($iCa^{+2} \leq 1$ mmol/L) and lengthy intraoperative critical hypotension (over 25 min), coagulopathy transforms into 'organ'-type DIC characterized by a lung, liver, and kidney failure.

Reduced tissue perfusion along with increased D-dimer concentration demonstrate microthrombus formation and organ-type DIC development.

The uttermost presentation of the 'organ-type' DIC is the thrombotic syndrome progression leading to life-threatening complications, which decreases the 90-day survival by 12%.

Successfulness of surgeries in children with oncological diseases requires the development of new techniques for prophylaxis and management of 'organ-type' DIC.

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

С ишемическим повреждением печени связана и гипербилирубинемия, которая несмотря на устранение гипоальбуминемии и нормализацию МНО к седьмым суткам сохранялась на прежнем уровне. Больные с ДВС-синдромом требовали продленной искусственной вентиляции легких, что обусловлено повреждением ткани легких на фоне агрессивной трансфузионной и инфузионной терапии. Верификация в течение 30 дней после операции большей частоты жизнеугрожающих ост-

рых тромбозов почечной, печеночной, легочной локализации у больных ДВС-синдромом подтверждает данную гипотезу. Данные обстоятельства объяснимо увеличивают длительность госпитализации в ОРИТ и 90-дневную смертность у больных данной группы.

Учитывая полученные в проведенном ретроспективном исследовании данные можно полагать, что существующая технология профилактики и терапии гемостатических и гемодинамических критических инцидентов нуждается в улучшении. Применение адекватной программы трансфузионной и гемостатической терапии при массивном послеоперационном кровотечении у детей невозможно без адекватного прикроватного мониторинга системы свертывания крови. Шаблонное назначение всем больным «общей коагулограммы» имеет низкую, ограниченную диагностическую ценность. Технология тромбоэластографии способна предоставить ценные данные для целенаправленной терапии гемостаза, позволяя конкретизировать показания к применению того или иного гемостатического препарата [26–28].

Помимо этого, есть мнение, что замена донорских гемостатических препаратов на рекомбинантные препараты фибриногена и концентратов факторов свертывания способно улучшить результаты терапии. Так, например, зарубежный опыт показывает эффективность применения стратегии свободной от трансфузий свежезамороженной плазмы (FFP-free strategy) и эффективность применения концентрата фибриногена у взрослых после кардиохирургических операций [29, 30]. Согласно рекомендациям Европейского консенсуса на операции для инфузионной терапии в педиатрической практике отдано предпочтение использованию изотонических сбалансированных растворов и 1–2,5% глюкозе [31]. Но изучение их безопасности в популяции детей хирургического профиля с онкологическими заболеваниями остается на настоящий момент актуальным вопросом. Согласно мировым стандартам хирургические операции у детей должны проводиться в условиях мониторинга параметров гемодинамики, включающего и измерение сердечного выброса. Интраоперационная цель-ориентированная терапия (ЦОТ), учитывающая гемодинамические параметры и показатели тканевой перфузии способна улучшить эффективность применяемой волюмической и инотропной терапии в зависимости от конкретной клинической ситуации. Многочисленные исследования показывают потенциальные преимущества ЦОТ, но единого мнения об использовании ЦОТ не существует [32, 33].

Преимуществами ЦОТ у хирургических пациентов, а также в отделениях интенсивной

терапии являются снижение частоты сердечно-сосудистых осложнений и аритмий, острого почечного повреждения, дыхательной недостаточности, раневой инфекции, быстрой нормализацией функции желудочно-кишечного тракта, снижение времени пребывания в ОРИТ и госпитализации [34]. Цель-ориентированная терапия должна начинаться как можно раньше, т.к. позднее ее начало не снижает 30-дневную смертность и частоту тяжелых осложнений во время пребывания в стационаре по сравнению с обычным лечением у онкологических больных, перенесших операцию высокого риска [35].

Для онкологических больных характерен высокий риск развития тромботических осложнений, в том числе тромбоэмболии легочной артерии. Эти осложнения ухудшают исходы лечения и занимают одно из лидирующих мест среди причин смерти больных злокачественными новообразованиями [36]. В проведенном исследовании выявлено, что у детей с онкологическими заболеваниями при развитии ДВС-синдрома СПОН в послеоперационном периоде связан с прогрессированием тромботических процессов и высокой частотой жизнеугрожающих тромботических осложнений. Ранняя профилактика и терапия данных состояний может улучшить выживаемость пациентов данной популяции. Но проблема кровотечений во время проведения тромболитической терапии не перестает быть актуальной. Медикаментозная активация системы плазминового фибринолиза приводит к истощению свертывающей системы крови. Следовательно, использование активаторов плазминогена всегда несет в себе риск кровотечений. Лекарственные средства на основе субтилизинов приводят к лизису только денатурированных белков, не влияя на растворимые белковые факторы свертывания крови. Возможно, применение препаратов на основе субтилизинов поможет избежать риска кровотечения и достигнуть оптимального тромболитического эффекта [37].

Таким образом, при хирургических операциях у детей с онкологическими заболеваниями для уменьшения тяжести органных поражений и улучшения клинических исходов необходима разработка индивидуализированной технологии, которая объединит подходы и методы решения проблем нарушений гемодинамики и системы гемостаза, а также сделает рациональным применение инфузионной, геотрансфузионной, гемостатической и анти-тромботической терапии.

Заключение

В популяции детей с онкологическими заболеваниями при интраоперационном кро-

вотечении риск развития ДВС-синдрома высок и составляет 15%.

Вероятность реализации данного процесса увеличивается при операциях на печени и в области забрюшинного пространства.

У детей младше 8 лет с онкологическими заболеваниями в послеоперационном периоде при исходно низком числе тромбоцитов (менее $150 \times 10^9/\text{л}$), гипокальцемии ($\text{iCa}^{+2} \leq 1 \text{ mmol/l}$) и длительном периоде интраоперационной критической гипотензии (более 25 мин.) происходит трансформация коагулопатии в ДВС-синдром «органного типа», характеризующийся легочной, печеночной и почечной недостаточностью.

Снижение показателей тканевой перфузии в сочетании с ростом D-димера является

фактом реализации процесса микротромбообразования и формирования ДВС-синдрома «органного типа».

Крайним выражением ДВС-синдрома «органного типа» является прогрессирование тромботического синдрома до реализации жизнеугрожающих осложнений, что и уменьшает 90-дневную выживаемость на 12%.

У детей с онкологическими заболеваниями при хирургических операциях необходима разработка новых технологий профилактики и лечения ДВС-синдрома «органного» типа.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература

- Halmin M., Chiesa F., Vasan S.K., Wikman A., Norda R., Rostgaard K., Pedersen O.B., Erikstrup Ch., Nielsen K.R., Titlestad K., Ullum H., Hjalgrim H., Edgren G. Epidemiology of Massive Transfusion: A Binational Study From Sweden and Denmark. *Crit Care Med.* 2016; 44 (3): 468–477. DOI: 10.1097/CCM.0000000000001410.
- Ramírez M. Multiple organ dysfunction syndrome. *Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care.* 2013; 43 (10): 273–277. DOI: 10.1016/j.cppeds.2013.10.003.
- Halmin M., Chiesa F., Vasan S.K., Wikman A., Norda R., Rostgaard K., Birger O., Pedersen V., Erikstrup Ch., Nielsen K.R., Titlestad K., Ullum H., Hjalgrim H., Edgren G. Epidemiology of Massive Transfusion: A Binational Study From Sweden and Denmark. *Crit Care Med.* 2016; 44 (3): 468–477. DOI: 10.1097/CCM.0000000000001410. PMID: 26901542
- Saito S., Uchino S., Hayakawa M., Yamakawa K., Kudo D., Iizuka Y., Sanui M., Takimoto K., Mayumi T., Sasabuchi Y. Japan Septic Disseminated Intravascular Coagulation (JSEPTIC DIC) study group. Epidemiology of disseminated intravascular coagulation in sepsis and validation of scoring systems. *J Crit Care.* 2019; 50: 23–30. DOI: 10.1016/j.jccr.2018.11.009. Epub 2018 Nov 14.
- Hernández-Ramírez O., Sánchez-Hurtado L.A., Ferrer-Burgos G., Guevara-García H., García-Guillen F.J., Namendys-Silva S.A. Incidence of disseminated intravascular coagulation in critically ill cancer patients. *J Intensive Care Soc.* 2019; 20 (3): NP17–NP18. DOI: 10.1177/1751143719840262. Epub 2019 Apr 15.
- Levi M., Sivapalaratnam S. Disseminated intravascular coagulation: an update on pathogenesis and diagnosis. *Expert Rev Hematol.* 2018; 11 (8): 663–672. DOI: 10.1080/17474086.2018.1500173. Epub 2018 Jul 20.
- Levi M., Toh C.H., Thachil J., Watson H.G. Guidelines for the diagnosis and management of disseminated intravascular coagulation. British Committee for Standards in Haematology. *Br J Haematol.* 2009; 145 (1): 24–33. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2009.07600.x. Epub 2009 Feb 12.
- Wada H., Matsumoto T., Hatada T. Diagnostic criteria and laboratory tests for disseminated intravascular coagulation. *Expert Rev Hematol.* 2012; 5 (6): 643–652. DOI: 10.1586/ehm.12.57.
- Куликов А.В., Шифман Е.М., Буланов А.Ю., Заболотских И.Б., Синьков С.В. Интенсивная терапия острых нарушений гемостаза в акушерстве (ДВС-синдром). Клинические рекомендации (протоколы лечения). *Анестезиология и реаниматология.* 2017; 62 (5): 399–406. DOI: 10.18821/0201-7563-2017-62-5-399-406
- Goobie S.M., Haas T. Perioperative bleeding management in pediatric patients. *Curr Opin Anaesthesiol.* 2016; 29 (3): 352–358. DOI: 10.1097/ACO.0000000000000308.
- Gando S. Microvascular thrombosis and multiple organ dysfunction syndrome. *Crit Care Med.* 2010; 38 (2 Suppl): S35–42. DOI: 10.1097/CCM.0b013e3181c9e31d.
- Kawasaki T., Shime N., Straney L., Bellomo R., MacLaren G., Pilcher D., Schlapbach L.J. Paediatric sequential organ failure assessment score (pSOFA): a plea for the world-wide collaboration for consensus. *Intensive Care Med.* 2018; 44 (6): 995–997. DOI: 10.1007/s00134-018-5188-7. Epub 2018 Apr 27.
- Sarganas G., Schaffrath Rosario A., Berger S., Neuhauser H.K. An unambiguous definition of pediatric hypotension is still lacking: Gaps between two percentile-based definitions and Pediatric Advanced Life Support/Advanced Trauma Life Support guidelines. *J Trauma Acute Care Surg.* 2019; 86 (3): 448–453. DOI: 10.1097/TA.0000000000002139.

References

- Halmin M., Chiesa F., Vasan S.K., Wikman A., Norda R., Rostgaard K., Pedersen O.B., Erikstrup Ch., Nielsen K.R., Titlestad K., Ullum H., Hjalgrim H., Edgren G. Epidemiology of Massive Transfusion: A Binational Study From Sweden and Denmark. *Crit Care Med.* 2016; 44 (3): 468–477. DOI: 10.1097/CCM.0000000000001410.
- Ramírez M. Multiple organ dysfunction syndrome. *Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care.* 2013; 43 (10): 273–7. DOI: 10.1016/j.cppeds.2013.10.003.
- Halmin M., Chiesa F., Vasan S.K., Wikman A., Norda R., Rostgaard K., Birger O., Pedersen V., Erikstrup Ch., Nielsen K.R., Titlestad K., Ullum H., Hjalgrim H., Edgren G. Epidemiology of Massive Transfusion: A Binational Study From Sweden and Denmark. *Crit Care Med.* 2016; 44 (3): 468–477. DOI: 10.1097/CCM.0000000000001410. PMID: 26901542
- Saito S., Uchino S., Hayakawa M., Yamakawa K., Kudo D., Iizuka Y., Sanui M., Takimoto K., Mayumi T., Sasabuchi Y. Japan Septic Disseminated Intravascular Coagulation (JSEPTIC DIC) study group. Epidemiology of disseminated intravascular coagulation in sepsis and validation of scoring systems. *J Crit Care.* 2019; 50: 23–30. DOI: 10.1016/j.jccr.2018.11.009. Epub 2018 Nov 14.
- Hernández-Ramírez O., Sánchez-Hurtado L.A., Ferrer-Burgos G., Guevara-García H., García-Guillen F.J., Namendys-Silva S.A. Incidence of disseminated intravascular coagulation in critically ill cancer patients. *J Intensive Care Soc.* 2019; 20 (3): NP17–NP18. DOI: 10.1177/1751143719840262. Epub 2019 Apr 15.
- Levi M., Sivapalaratnam S. Disseminated intravascular coagulation: an update on pathogenesis and diagnosis. *Expert Rev Hematol.* 2018; 11 (8): 663–672. DOI: 10.1080/17474086.2018.1500173. Epub 2018 Jul 20.
- Levi M., Toh C.H., Thachil J., Watson H.G. Guidelines for the diagnosis and management of disseminated intravascular coagulation. British Committee for Standards in Haematology. *Br J Haematol.* 2009; 145 (1): 24–33. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2009.07600.x. Epub 2009 Feb 12.
- Wada H., Matsumoto T., Hatada T. Diagnostic criteria and laboratory tests for disseminated intravascular coagulation. *Expert Rev Hematol.* 2012; 5 (6): 643–652. DOI: 10.1586/ehm.12.57.
- Kulikov A.V., Shifman E.M., Bulanov A.YU., Zabolotskih I.B., Sinkov S.V. Intensive therapy of acute hemostatic disorders in obstetrics (DIC-syndrome). Clinical recommendations (treatment protocols). *Anesthesiol. i Reanimatol.* 2017; 62 (5): 399–406 [In Russ.]. DOI: 10.18821/0201-7563-2017-62-5-399-406
- Goobie S.M., Haas T. Perioperative bleeding management in pediatric patients. *Curr Opin Anaesthesiol.* 2016; 29 (3): 352–358. DOI: 10.1097/ACO.0000000000000308.
- Gando S. Microvascular thrombosis and multiple organ dysfunction syndrome. *Crit Care Med.* 2010; 38 (2 Suppl): S35–42. DOI: 10.1097/CCM.0b013e3181c9e31d.
- Kawasaki T., Shime N., Straney L., Bellomo R., MacLaren G., Pilcher D., Schlapbach L.J. Paediatric sequential organ failure assessment score (pSOFA): a plea for the world-wide collaboration for consensus. *Intensive Care Med.* 2018; 44 (6): 995–997. DOI: 10.1007/s00134-018-5188-7. Epub 2018 Apr 27.
- Sarganas G., Schaffrath Rosario A., Berger S., Neuhauser H.K. An unambiguous definition of pediatric hypotension is still lacking: Gaps between two percentile-based definitions and Pediatric Advanced Life Support/Advanced Trauma Life Support guidelines. *J Trauma Acute Care Surg.* 2019; 86 (3): 448–453. DOI: 10.1097/TA.0000000000002139.

14. Maw G, Furry C. Pediatric Massive Transfusion: A Systematic Review. *Pediatr Emerg Care*. 2018 Aug; 34 (8): 594–598. DOI: 10.1097/PEC.0000000000001570
15. Oh G.J., Sutherland S.M. Perioperative fluid management and postoperative hyponatremia in children. *Pediatr Nephrol*. 2016 Jan; 31 (1): 53–60. DOI: 10.1007/s00467-015-3081-y. Epub 2015 Mar 18.
16. Lison S., Weiss G., Spannagl M., Heindl B. Postoperative changes in procoagulant factors after major surgery. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 2011; 22 (3): 190–196. DOI: 10.1097/MBC.0b013e328343f7be.
17. Byuk S.K., Hyun Y.Ch., Seung M.R., Myung Ch.K., Woong J., Sung H.P., Lee Ch.M., Kim W.Y. The Prevalence and Significance of Overt Disseminated Intravascular Coagulation in Patients with Septic Shock in the Emergency Department According to the Third International Consensus Definition. *Korean J Crit Care Med*. 2016; 31 (4): 334–341 DOI: 10.4266/kjccm.2016.00339
18. Wada H., Matsumoto T., Suzuki K., Imai H., Katayama N., Iba T., Matsumoto M. Differences and similarities between disseminated intravascular coagulation and thrombotic microangiopathy. *Thromb J*. 2018; 16: 14. DOI: 10.1186/s12959-018-0168-2. eCollection 2018.
19. Levi M. Pathogenesis and diagnosis of disseminated intravascular coagulation. *Int J Lab Hematol*. 2018; 40 Suppl 1: 15–20. DOI: 10.1111/ijlh.12830.
20. Disma N., Mameli L., Pistorio A., Davidson A., Barabino P., Locatelli B.G., Sonzogni V., Montobbio G. A novel balanced isotonic sodium solution vs normal saline during major surgery in children up to 36 months: a multicenter RCT. *Paediatr Anaesth*. 2014; 24 (9): 980–986. DOI: 10.1111/pan.12439. Epub 2014 May 14.
21. Александрович Ю.С., Воронцова Н.Ю., Гребенников В.А., Диордиев А.В., Жиркова Ю.В., Кочкин В.С., Лазарев В.В., Лекманов А.У., Матинян Н.В., Пшениснов К.В., Степаненко С.М., Цыпин Л.Е., Шукин В.В., Хамин И.Г. Рекомендации по проведению инфузионно-трансфузионной терапии у детей во время хирургических операций. *Вестник анестезиологии и реаниматологии*. 2018; 15 (2): 68–84. DOI: 10.21292/2078-5658-2018-15-2-68-84
22. Giancarelli A., Birrer K.L., Alban R.F., Hobbs B.P., Liu-DeRyke X. Hypocalcemia in trauma patients receiving massive transfusion. *J Surg Res*. 2016; 202 (1): 182–187. DOI: 10.1016/j.jss.2015.12.036. Epub 2015 Dec 30.
23. Ho K.M., Pavey W. Applying the cell-based coagulation model in the management of critical bleeding. *Anaesth Intensive Care*. 2017; 45 (2): 166–176. DOI: 10.1177/0310057X1704500206
24. Gando S. Hemostasis and thrombosis in trauma patients. *Semin Thromb Hemost*. 2015; 41 (1): 26–34. DOI: 10.1055/s-0034-1398378. Epub 2015 Jan 20.
25. Chang J.C. Disseminated intravascular coagulation: is it fact or fancy? *Blood Coagul Fibrinolysis*. 2018; 29 (3): 330–337. DOI: 10.1097/MBC.0000000000000727.
26. Deppe A.C., Weber C., Zimmermann J., Kuhn E.W., Slottosch I., Liakopoulos O.J., Choi Y.H., Wahlers T. Point-of-care thromboelastography/thromboelastometry-based coagulation management in cardiac surgery: a meta-analysis of 8332 patients. *J Surg Res*. 2016; 203 (2): 424–433. DOI: 10.1016/j.jss.2016.03.008. Epub 2016 Mar 26.
27. Francis R.C.E., Theurl I., Maegele M., Graw J.A. Point-of-Care diagnostics of coagulation in the management of bleeding and transfusion in trauma patients. *Curr Opin Anaesthesiol*. 2020 Feb 4. DOI: 10.1097/ACO.0000000000000836.
28. Dias J.D., Sauaia A., Achneck H.E., Hartmann J., Moore E.E. Thromboelastography-guided therapy improves patient blood management and certain clinical outcomes in elective cardiac and liver surgery and emergency resuscitation: A systematic review and analysis. *J Thromb Haemost*. 2019; 17 (6): 984–994. DOI: 10.1111/jth.14447. Epub 2019 May 13.
29. Fominskiy E., Nepomniashchikh V.A., Lomivorotov V.V., Monaco F., Vitello C., Zangrillo A., Landoni G. Efficacy and Safety of Fibrinogen Concentrate in Surgical Patients: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *J Cardiothorac Vasc Anesth*. 2016; 30 (5): 1196–1204. DOI: 10.1053/j.jvca.2016.04.015. Epub 2016 Apr 16.
30. Ranucci M., Baryshnikova E., Pistuddi V., Menicanti L., Frigiola A. for the Surgical and Clinical Outcome REsearch (SCORE) Group The effectiveness of 10 years of interventions to control postoperative bleeding in adult cardiac surgery. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*. 2017; 24 (2): 196–202. DOI: 10.1093/icvts/ivw339.
31. Bhardwaj N. Perioperative fluid therapy and intraoperative blood loss in children. *Indian J Anaesth*. 2019; 63 (9): 729–736. DOI: 10.4103/ija.IJA_493_19
32. Ding X.F., Yang Z.Y., Xu Z.T., L.-F Li, Yuan B., Guo L.-N., Wang L.-X., Zhu X., Sun T.-W. Early goal-directed and lactate-guided therapy in adult patients with severe sepsis and septic shock: a meta-analysis of randomized controlled trials. *J Transl Med*. 2018; 16 (1): 331. Published 2018 Nov 29. DOI: 10.1186/s12967-018-1700-7
33. Deng Q.W., Tan W.C., Zhao B.C., Wen S.H., Shen J.T., Xu M. Is goal-directed fluid therapy based on dynamic variables alone sufficient to
14. Maw G, Furry C. Pediatric Massive Transfusion: A Systematic Review. *Pediatr Emerg Care*. 2018 Aug; 34 (8): 594–598. DOI: 10.1097/PEC.0000000000001570
15. Oh G.J., Sutherland S.M. Perioperative fluid management and postoperative hyponatremia in children. *Pediatr Nephrol*. 2016 Jan; 31 (1): 53–60. DOI: 10.1007/s00467-015-3081-y. Epub 2015 Mar 18.
16. Lison S., Weiss G., Spannagl M., Heindl B. Postoperative changes in procoagulant factors after major surgery. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 2011; 22 (3): 190–196. DOI: 10.1097/MBC.0b013e328343f7be.
17. Byuk S.K., Hyun Y.Ch., Seung M.R., Myung Ch.K., Woong J., Sung H.P., Lee Ch.M., Kim W.Y. The Prevalence and Significance of Overt Disseminated Intravascular Coagulation in Patients with Septic Shock in the Emergency Department According to the Third International Consensus Definition. *Korean J Crit Care Med*. 2016; 31 (4): 334–341 DOI: 10.4266/kjccm.2016.00339
18. Wada H., Matsumoto T., Suzuki K., Imai H., Katayama N., Iba T., Matsumoto M. Differences and similarities between disseminated intravascular coagulation and thrombotic microangiopathy. *Thromb J*. 2018; 16: 14. DOI: 10.1186/s12959-018-0168-2. eCollection 2018.
19. Levi M. Pathogenesis and diagnosis of disseminated intravascular coagulation. *Int J Lab Hematol*. 2018; 40 Suppl 1: 15–20. DOI: 10.1111/ijlh.12830.
20. Disma N., Mameli L., Pistorio A., Davidson A., Barabino P., Locatelli B.G., Sonzogni V., Montobbio G. A novel balanced isotonic sodium solution vs normal saline during major surgery in children up to 36 months: a multicenter RCT. *Paediatr Anaesth*. 2014; 24 (9): 980–986. DOI: 10.1111/pan.12439. Epub 2014 May 14.
21. Aleksandrovich Yu.S., Vorontsova N.Yu., Grebennikov V.A., Diordiev A.V., Zhirkova Yu.V., Kochkin V.S., Lazarev V.V., Lekmanov A.U., Matinyan N.V., Pshenisnov K.V., Stepanenko S.M., Tsylin L.E., Shchukin V.V., Khamin I.G. Recommendations for infusion-transfusion therapy in children during surgery. *Vestnik anesteziologii i reanimatologii*. 2018; 15 (2): 68–84 [In Russ.]. DOI: 10.21292/2078-5658-2018-15-2-68-84
22. Giancarelli A., Birrer K.L., Alban R.F., Hobbs B.P., Liu-DeRyke X. Hypocalcemia in trauma patients receiving massive transfusion. *J Surg Res*. 2016; 202 (1): 182–187. DOI: 10.1016/j.jss.2015.12.036. Epub 2015 Dec 30.
23. Ho K.M., Pavey W. Applying the cell-based coagulation model in the management of critical bleeding. *Anaesth Intensive Care*. 2017; 45 (2): 166–176. DOI: 10.1177/0310057X1704500206
24. Gando S. Hemostasis and thrombosis in trauma patients. *Semin Thromb Hemost*. 2015; 41 (1): 26–34. DOI: 10.1055/s-0034-1398378. Epub 2015 Jan 20.
25. Chang J.C. Disseminated intravascular coagulation: is it fact or fancy? *Blood Coagul Fibrinolysis*. 2018; 29 (3): 330–337. DOI: 10.1097/MBC.0000000000000727.
26. Deppe A.C., Weber C., Zimmermann J., Kuhn E.W., Slottosch I., Liakopoulos O.J., Choi Y.H., Wahlers T. Point-of-care thromboelastography/thromboelastometry-based coagulation management in cardiac surgery: a meta-analysis of 8332 patients. *J Surg Res*. 2016; 203 (2): 424–433. DOI: 10.1016/j.jss.2016.03.008. Epub 2016 Mar 26.
27. Francis R.C.E., Theurl I., Maegele M., Graw J.A. Point-of-Care diagnostics of coagulation in the management of bleeding and transfusion in trauma patients. *Curr Opin Anaesthesiol*. 2020 Feb 4. DOI: 10.1097/ACO.0000000000000836.
28. Dias J.D., Sauaia A., Achneck H.E., Hartmann J., Moore E.E. Thromboelastography-guided therapy improves patient blood management and certain clinical outcomes in elective cardiac and liver surgery and emergency resuscitation: A systematic review and analysis. *J Thromb Haemost*. 2019; 17 (6): 984–994. DOI: 10.1111/jth.14447. Epub 2019 May 13.
29. Fominskiy E., Nepomniashchikh V.A., Lomivorotov V.V., Monaco F., Vitello C., Zangrillo A., Landoni G. Efficacy and Safety of Fibrinogen Concentrate in Surgical Patients: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *J Cardiothorac Vasc Anesth*. 2016; 30 (5): 1196–1204. DOI: 10.1053/j.jvca.2016.04.015. Epub 2016 Apr 16.
30. Ranucci M., Baryshnikova E., Pistuddi V., Menicanti L., Frigiola A. for the Surgical and Clinical Outcome REsearch (SCORE) Group The effectiveness of 10 years of interventions to control postoperative bleeding in adult cardiac surgery. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*. 2017; 24 (2): 196–202. DOI: 10.1093/icvts/ivw339.
31. Bhardwaj N. Perioperative fluid therapy and intraoperative blood loss in children. *Indian J Anaesth*. 2019; 63 (9): 729–736. DOI: 10.4103/ija.IJA_493_19
32. Ding X.F., Yang Z.Y., Xu Z.T., L.-F Li, Yuan B., Guo L.-N., Wang L.-X., Zhu X., Sun T.-W. Early goal-directed and lactate-guided therapy in adult patients with severe sepsis and septic shock: a meta-analysis of randomized controlled trials. *J Transl Med*. 2018; 16 (1): 331. Published 2018 Nov 29. DOI: 10.1186/s12967-018-1700-7
33. Deng Q.W., Tan W.C., Zhao B.C., Wen S.H., Shen J.T., Xu M. Is goal-directed fluid therapy based on dynamic variables alone sufficient to

- improve clinical outcomes among patients undergoing surgery? A meta-analysis. *Crit Care*. 2018; 22 (1): 298. Published 2018 Nov 14. DOI: 10.1186/s13054-018-2251-2
34. Osawa E.A., Rhodes A., Landoni G., Galas F.R., Fukushima J.T., Park C.H., Clarice H. L., Almeida J.P., Nakamura R.E., Strabelli T.M.V., Pileggi B., Leme A., Fominskiy E., Sakr Y., Lima M., Franco R., Chan R., Piccion, M., Mendes P., Menezes S., Bruno T., Gaiotto F., Lisboa L., Dallan L., Hueb A., Pomerantzeff P., Kalil Filho R., Jatene E., Auler Junior J.O.C., Hajjar L.A. Effect of Perioperative Goal-Directed Hemodynamic Resuscitation Therapy on Outcomes Following Cardiac Surgery: A Randomized Clinical Trial and Systematic Review. *Crit Care Med*. 2016; 44 (4): 724–733. DOI: 10.1097/CCM.0000000000001479.
 35. Gerent A.R.M., Almeida J.P., Fominskiy E., Landoni G., Queiroz de Oliveira G., Itala Rizk S., Tizue Fukushima J., Marques Simoes C., Ribeiro U.Jr3, Lee Park C., Ely Nakamura R., Alves Franco R., Inês Cândido P., Tavares C. R., Camara L., dos Santos Rocha Ferreira G., Pinto Marinho de Almeida E., Filho R. K., Barbosa Gomes Galas F.R., Abrahão Hajjar L. Effect of postoperative goal-directed therapy in cancer patients undergoing high-risk surgery: a randomized clinical trial and meta-analysis. *Crit Care*. 2018; 22 (1): 133. Published 2018 May 23. DOI: 10.1186/s13054-018-2055-4
 36. Сомонова О.В., Маджуга А.В., Елизарова А.Л. Тромбозы и тромбоэмболии в онкологии. Современный взгляд на проблему. *Злокачественные опухоли*. 2014; (3): 172–176. DOI: 10.18027/2224-5057-2014-3-172-176
 37. Мишенина С.В., Мадонов П.Г., Байкалов Г.И., Леонтьев С.Г., Зотов С.П. Пероральный тромболитиз при венозных тромбозах (клиническое исследование) *Тромбоз, гемостаз и реология*. 2019. №4 (80): 54–67. DOI: 10.25555/THR.2019.4.0900
 34. Osawa E.A., Rhodes A., Landoni G., Galas F.R., Fukushima J.T., Park C.H., Clarice H. L., Almeida J.P., Nakamura R.E., Strabelli T.M.V., Pileggi B., Leme A., Fominskiy E., Sakr Y., Lima M., Franco R., Chan R., Piccion, M., Mendes P., Menezes S., Bruno T., Gaiotto F., Lisboa L., Dallan L., Hueb A., Pomerantzeff P., Kalil Filho R., Jatene E., Auler Junior J.O.C., Hajjar L.A. Effect of Perioperative Goal-Directed Hemodynamic Resuscitation Therapy on Outcomes Following Cardiac Surgery: A Randomized Clinical Trial and Systematic Review. *Crit Care Med*. 2016; 44 (4): 724–733. DOI: 10.1097/CCM.0000000000001479.
 35. Gerent A.R.M., Almeida J.P., Fominskiy E., Landoni G., Queiroz de Oliveira G., Itala Rizk S., Tizue Fukushima J., Marques Simoes C., Ribeiro U.Jr3, Lee Park C., Ely Nakamura R., Alves Franco R., Inês Cândido P., Tavares C. R., Camara L., dos Santos Rocha Ferreira G., Pinto Marinho de Almeida E., Filho R. K., Barbosa Gomes Galas F.R., Abrahão Hajjar L. Effect of postoperative goal-directed therapy in cancer patients undergoing high-risk surgery: a randomized clinical trial and meta-analysis. *Crit Care*. 2018; 22 (1): 133. Published 2018 May 23. DOI: 10.1186/s13054-018-2055-4
 36. Somonova O.V., Madzhuga A.V., Elizarova A.L. Thrombosis and thromboembolism in oncology. A modern view of the problem. *Zlo-kachestvennye opukholi*. 2014; (3): 172–176 [In Russ.]. DOI: 10.18027/2224-5057-2014-3-172-176
 37. Mishenina S.V., Madonov P.G., Bajkalov G.I., Leontev S.G., Zotov S.P. Oral thrombolysis in venous thrombosis (clinical trial). *Tromboz, gemostaz i reologiya*. 2019. 4 (80): 54–67 [In Russ.]. DOI: 10.25555/THR.2019.4.0900

Поступила 08.03.2020

Received 08.03.2020

Лекарственный анафилактический шок

А. В. Матвеев^{1,3}, А. Е. Крашенинников¹, А. В. Белостоцкий²,
Д. М. Андреева², С. Д. Марченко², Е. А. Егорова³

¹ Национальный научный центр фармаконадзора,
Россия, 127051, г. Москва, Малая Сухаревская площадь, д. 2, корп. 2

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

³ Медицинская академия им. С. И. Георгиевского Крымский федеральный университет им. В. И. Вернадского,
Россия, 295051, Симферополь, бульвар Ленина, д. 5/7

Drug-Induced Anaphylactic Shock

Alexander V. Matveev^{1,3}, Anatoly E. Krashenninikov¹, Andrew V. Belostotsky²,
Dilbar M. Andreeva², Sevara D. Marchenko², Elena A. Egorova³

¹ National Research Pharmacovigilance Center

2 Malaya Sukharevskaya Square, Bldg. 2, 127051 Moscow, Russia

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

³ Georgievsky Medical Academy, Vernadsky Crimean Federal University,
5/7 Lenin Av., 295006 Simferopol, Russia

Для цитирования: Матвеев, А. Е. Крашенинников, А. В. Белостоцкий, Д. М. Андреева, С. Д. Марченко, Е. А. Егорова. Лекарственный анафилактический шок. *Общая реаниматология*. 2020; 16 (3): 76–84. DOI: 10.15360/1813-9779-2020-3-76-84 [На русск. и англ.]

For citation: Alexander V. Matveev, Anatoly E. Krashenninikov, Andrew V. Belostotsky, Dilbar M. Andreeva, Sevara D. Marchenko, Elena A. Egorova. Drug-Induced Anaphylactic Shock. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2020; 16 (3): 76–84. DOI: 10.15360/1813-9779-2020-3-76-84 [In Russ. and Engl.]

Резюме

Среди основных этиологических факторов, способных вызвать развитие анафилактического шока (АШ) у пациентов, лекарственные препараты составляют 31,2–46,5%.

Цель работы — выявление факторов, ассоциированных с повышенным риском развития АШ, зарегистрированного в 2010–2018 гг. у пациентов в Республике Крым.

Материалы и методы. Объектами исследования стали 112 карт-извещений о нежелательных реакциях (НР) лекарственных средств (ЛС), зарегистрированных в региональной базе спонтанных сообщений ARCADE в Республике Крым за период 2010–2018 гг. На основании карт-извещений провели ретроспективный анализ случаев возникновения лекарственного АШ по следующим показателям: прием и способ введения препаратов, пол, возраст, аллергологический анамнез.

Результаты исследования показали, что лидерами по частоте развития АШ являлись противомикробные препараты местные анестетики, анальгетики-антипиретики, рентгеноконтрастные йодсодержащие вещества и нестероидные противовоспалительные препараты. Случаи развития АШ чаще всего наблюдали у пациентов в возрасте от 31 до 60 лет, у мужчин с большей частотой (57 случаев), чем у женщин (54 случая). В одном случае указания на пол пациента отсутствовали. Лидером по частоте развития случаев АШ являлся цефтриаксон, с применением которого было ассоциировано 22 случая таких НР. Выявили, что в 87 случаях АШ развивался на фоне парентерального введения препаратов, среди которых преобладал внутривенный путь введения (44 случая). Развитие лекарственного АШ в 97 случаях представляло собой угрозу жизни пациента и требовало неотложной фармакотерапии, в 8 картах-извещениях содержалась информация о летальном исходе для пациентов.

Выводы. Стоит обратить внимание на высокую частоту, серьезность и мгновенную скорость развития нежелательных реакций в виде АШ. Учитывая скорость развития АШ и факты игнорирования лекарственного и аллергологического анамнеза, ошибки медикаментозной коррекции следует рассмотреть возможность проведения дополнительных образовательных мероприятий для врачей разных специальностей.

Ключевые слова: анафилактический шок; антибиотики; местные анестетики; анальгетики-антипиретики

Адрес для корреспонденции:

Елена Александровна Егорова
E-mail: elena212007@rambler.ru

Correspondence to:

Elena A. Egorova
E-mail: elena212007@rambler.ru

Summary

Among the major etiological factors that can cause an anaphylactic shock (AS), drugs account for 31.2–46.5%.

Purpose of the work was to identify factors associated with a high AS risk based on 2010–2018 records made in the Republic of Crimea.

Materials and methods. The objects of the study were 112 information reports about adverse reactions (AR) to medicine remedies (MR), which were recorded in the regional database of spontaneous information reports — ARCAD — in the Republic of Crimea during 2010–2018. A retrospective analysis of drug-induced AS cases has been carried out for the following indicators: intake and route of administration of drugs, gender, age, history of allergies.

Results of the study have shown that antimicrobial drugs, local anesthetics, analgesics-antipyretics, X-ray contrast iodine-containing substances, and non-steroidal anti-inflammatory drugs featured the highest AS incidence. Most frequently, AS cases were observed in patients aged 31 to 60 years, with no significant differences between men (57 cases) and women (54 cases). In one case the patient's gender was missed or not stated.

The leader in AS incidence is Ceftriaxone, which application was associated with 22 cases of such AR. In 87 cases, AS was found associated with parenteral administration drugs, the intravenous route of administration being predominant (44 cases). In 97 cases, development of drug-induced AS was life-threatening and required emergency pharmacotherapy; 8 reports contained a lethal outcome record.

Conclusions. Attention should be paid to high incidence, severity, and instant progression rate of adverse reactions in the form of AS. Considering the AS progression rate and facts of ignored past history of drugs and allergies, as well as pharmacological correction errors, additional educational events are worth conducting for physicians specializing in different fields.

Keywords: *anaphylactic shock; antibiotics; local anesthetics; analgesics-antipyretics*

DOI: 10.15360/1813-9779-2020-3-76-84

Введение

Одним из наиболее опасных осложнений лекарственной терапии является анафилактический шок (АШ) [1, 2]. Согласно данным ВОЗ, выявление частоты возникновения анафилактического шока существенно затруднено. Это обусловлено несоответствиями в постановке диагноза и кодировании диагноза АШ в разных странах мира, а также невозможностью проведения проспективных когортных исследований, касающихся его изучения. Средние показатели частоты развития АШ составляют от 80 до 120 случаев на миллион человеко-лет, при этом общий коэффициент летальности достигает 1% (1–5,5 смертельных случаев на миллион населения в год) [2]. Следует отметить, что эти показатели имеют тенденцию к постоянному росту, что связано с увеличением числа потенциальных аллергенов [3].

Среди основных этиологических факторов, способных вызвать развитие АШ у пациентов, выделяют лекарственные препараты (31,2–46,5%), пищевые продукты (23,3–31%) и яды насекомых (14,9–20%) [4–8]. По зарубежным данным, основными группами лекарственных средств, способных вызвать развитие анафилаксии, являются рентгенконтрастные средства, антибактериальные препараты, местные анестетики и средства для наркоза [3, 5, 9]. Значительно реже встречаются случаи развития АШ при постановке кожных проб и проведении аллергенспецифической иммунотерапии.

Introduction

Anaphylactic shock (AS) is one of the most dangerous complications of drug therapy [1, 2]. According to WHO, it is rather difficult to establish anaphylactic shock prevalence because of differences in AS diagnosing and coding between countries worldwide, and impossibility of undertaking prospective cohort studies to investigate it. The average overall prevalence of AS is 80–120 cases per million person-years, and the total mortality reaches 1% (the mortality rate of 1–5.5 per million population per year) [2]. It is worth noting that these indicators tend to grow continuously due to an increasing number of potential allergens [3].

The main etiological factors that can cause AS include medicine remedies (31.2–46.5%), food (23.3–31%), and poisons of insects (14.9–20%) [4–8]. According to international sources, the main groups of drugs capable of causing anaphylaxis are X-ray contrast aids, antibacterial drugs, local anesthetics, and narcosis aids [3, 5, 9]. The cases of AS developed in the course of skin tests or allergen-specific immunotherapy occur much rarer.

Purpose of the work was to identify factors associated with a high AS risk based on 2010–2018 records made in the Republic of Crimea.

Materials and Methods

The objects of the study of anaphylaxis cases were reports on adverse reactions (AR) to medicinal remedies (MR), which were recorded in the regional database of spontaneous reports — ARCAD (Adverse Reactions in Crimea, Autonomic Database), for the period of 2010–2018. 112 anaphylactic shock cases occurred dur-

Цель работы — выявление факторов, ассоциированных с повышенным риском развития АШ, зарегистрированного в 2010–2018 гг. у пациентов в Республике Крым.

Материал и методы

Объектами исследования случаев возникновения анафилаксии являлись карты-извещения о нежелательных реакциях (НР) лекарственных средств (ЛС), зарегистрированные в региональной базе спонтанных сообщений ARCADE (Adverse Reactions in Crimea, Autonomic Database) за период 2010–2018 гг. Отобрали 112 случаев развития анафилактического шока при применении различных групп ЛС у пациентов, получавших лечение в медицинских учреждениях, использующих ЛС амбулаторно или в виде самолечения. Критерием для осуществления отбора случаев НР стало указание на развитие АШ в разделе «Стандартизированное описание реакции» в карте-извещении о нежелательной реакции.

Изучение частоты встречаемости АШ при применении различных групп ЛС проводили с учетом кодов Анатомо-терапевтически-химической (АТХ) классификации лекарственных средств Всемирной организации здравоохранения [10], данных инструкций Государственных реестров лекарственных средств Российской Федерации и Украины (для случаев, зарегистрированных до вступления Республики Крым в состав Российской Федерации).

Серьезность нежелательных реакций, зарегистрированных у пациентов, устанавливали в соответствии с определением, содержащимся в пункте 51 статьи 4 Федерального закона № 61 от 12 апреля 2010 г. «Об обращении лекарственных средств» [11].

При определении частоты событий (доли, % от общего количества) использовали программное обеспечение MS Excel 2016.

Результаты и обсуждение

Случаи развития тяжелых аллергических реакций в виде АШ составили 1,74% от общего количества случаев НР за соответствующий период (6428 карт-извещений).

Первый этап исследования был направлен на определение основных фармакологических групп лекарственных препаратов, применение которых было ассоциировано с развитием аллергической реакции тяжелой степени в виде анафилаксии. Отметим, что лидером по частоте развития АШ за 2010–2018 гг. в Республике Крым являлась группа противомикробных препаратов для системного применения (АТХ-код — J01) 38 случаев. Реже причиной развития АШ у пациентов были препараты группы местных анестетиков (АТХ-код — N01B) 14 случаев, анальгетиков-антипиретиков (АТХ-код — N02B) 10 случаев, рентгеноконтрастных йодсодержащих веществ (АТХ-код — V08A) 8 случаев и нестероидных противовоспалительных препаратов (АТХ-код — M01A) 5 случаев (рис.).

ing use of different groups of MR in patients undergoing treatment in medical institutions, using MR as outpatients or selftreatment were chosen. The criterion for selection of AR cases was a reference to AS development in section 'Standardized Description of Reaction' of the adverse reaction information report.

The incidence of AS associated with different groups of MR was studied with regard to the codes of Anatomical Therapeutic Chemical (ATC) Classification System of the World Health Organization [10], data from instructions of the State Register of Medicinal Remedies of the Russian Federation and Ukraine (for cases recorded before the Republic of Crimea became the part of the Russian Federation).

The severity of adverse reactions recorded in patients was established according to the definition contained in clause 51 of article 4 of Federal Law «On Circulation of Medicinal Remedies» dated 12 April 2010, No. 61 [11].

The frequency of events (fractions, % of the total number) was calculated with the aid of MS Excel 2016.

Results and Discussion

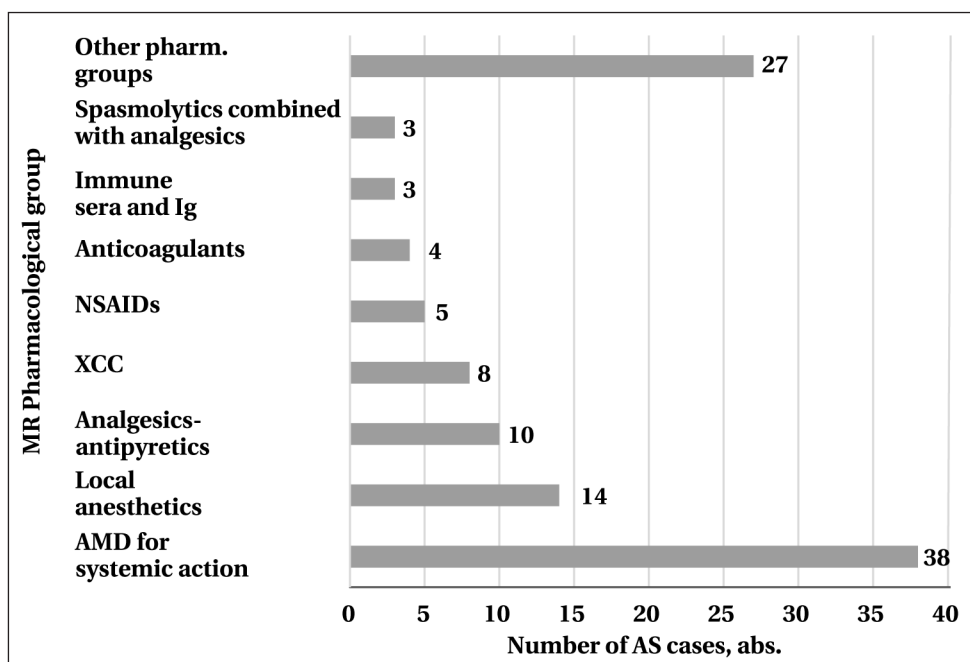
The cases of severe allergic reactions in the form of AS amounted to 1.74% of the total number of AR cases for the respective period (6428 reports).

The first stage of the study was aimed at establishing the main pharmacological groups of drugs, which were associated with development of severe allergic reactions in the form of anaphylaxis. It was noted that leader in AS incidence in the Republic of Crimea during 2010–2018 was the group of antimicrobial drugs for systemic administration (ATC code — J01) — 38 cases. A rarer cause of AS were drugs from the group of local anesthetics (ATC code — N01B) — 14 cases, analgesics-antipyretics (ATC code — N02B) — 10 cases, X-ray contrast iodine-containing substances (ATC code — V08A) — 8 cases, and non-steroidal anti-inflammatory drugs (ATC code — M01A) — 5 cases (fig.). The remaining 37 cases of AS were associated with MR from various pharmacological groups.

A detailed analysis of AS cases during application of antimicrobial drugs for systemic use has shown that the most frequent cause of such complications was the use of antibacterial drugs of the group of cephalosporins (30 cases, 78.9% of the total number of AS cases related to group J01). The prevalence of AS cases during the use of cephalosporins is presented in table 1.

In three cases, development of AS associated with the use of drugs from the group of fluoroquinolones, and two AS cases were observed during treatment of patients with amino glycoside antibiotics (Amikacin) and drugs from the group of penicillins. In one case the AR of emergency type was due to the use of a drug combination containing antibiotic azalide/ azithromycin.

Among local anesthetics, the AS incidence was the highest for lidocaine (6 cases) and combined drugs on the basis of articaine (6 cases). One case



Распределение случаев развития АШ по фармакологическим группам подозреваемых ЛС.
Distribution of AS cases by pharmacological groups of suspected MR.

Note. AMD — antimicrobial drugs; XCC — X-ray contrast compounds; NSAIDs — non-steroidal anti-inflammatory drugs; Ig — immunoglobulins.

Примечание. MR Pharmacological group — фармакологическая группа ЛС; number of AS cases, abs. — число случаев АШ, абс.; other pharm. groups — другие фарм. группы; spasmolytics combined with analgesics — спазмолитики в комб. с анальгетиками; immune sera and Ig — иммунные сыворотки и иммуноглобулины; anticoagulants — антикоагулянты; NSAIDs — нестероидные противовоспалительные средства; XCC — рентгеноконтрастные соединения; analgesics — antipyretics — анальгетики-антипиретики; local anesthetics — местные анестетики; AMD for systemic action — противомикробные средства для системного действия.

Оставшиеся 37 случаев развития АШ были ассоциированы с применением ЛС из различных фармакологических групп.

Детальное изучение случаев развития АШ при применении противомикробных средств для системного применения показало, что наиболее часто причиной развития таких осложнений у пациентов было применение антибактериальных препаратов группы цефалоспоринов (30 случаев, 78,9% от общего количества случаев АШ группы J01). Частоту встречаемости случаев АШ при применении отдельных представителей группы цефалоспоринов представили в табл. 1.

В 3 случаях развитие АШ было связано с применением препаратов группы фторхинолонов, по 2 случая АШ наблюдали при применении у пациентов аминогликозидных антибиотиков (амикацин) и препаратов группы пенициллинов, в 1 случае НР немедленного типа была связана с применением комбинированных препаратов, содержащих антибиотик-азалид азитромицин.

Среди местных анестетиков лидерами по частоте развития АШ стали лидокаин (6 случаев) и комбинированные препараты на осно-

of such AR was observed when novocaine and bupivacaine were used. It should be noted that the AS develops during use of drugs belonging to this group very rarely. Besides, several studies point out the importance of differential diagnosis between an AS response and more commonly occurring vasovagal events including low-dose local anesthetics and featuring similar symptoms (breathing disorders, faintness, arterial blood pressure changes, convulsions) [12, 13].

AS were also observed in patients during the use of antipyretic analgesics. In 5 cases, the clinical

symptoms of AS developed during parenteral administration of analgin. In 3 cases, the AS was associated with the use of drugs containing paracetamol or paracetamol alone.

As for the X-ray contrast iodine-containing substances, AS was noted during administration of iohexol (4 cases), iopromide (3 cases), and diatrizoic

Таблица 1. Распределение случаев развития анафилактического шока при применении препаратов группы цефалоспоринов.

Table 1. Distribution of anaphylactic shock cases during administration of Cephalosporins.

Drug	Reports, abs. number (%)
Generation II Cephalosporins	
Cefuroximum	1 (0.9)
Generation III Cephalosporins	
Ceftriaxone and its combinations	22 (19.6)
Cefotaximum	4 (3.6)
Ceftazidimum	1 (0.9)
Cefpodoximum	1 (0.9)
Cefoperazone combined with other MR	1 (0.9)

Note. For tabl. 1, 2: % to total number of AS cases for 2010–2018.

Примечание. Для табл. 1, 5: Drug — лекарственный препарат; combined with other MR — в комбинации с другими ЛС. Для табл.1–4: Reports, abs. number — абс. число карт-извещений. % от общего количества случаев АШ за 2010–2018 гг.

ве артикаина (6 случаев). По 1 случаю развития подобных НР наблюдали при применении новокаина и бупивакаина. Следует отметить, что при использовании препаратов этой группы анафилактический шок развивался крайне редко. Кроме того, в доступных источниках отмечается важность проведения дифференциальной диагностики анафилактической реакции и более частых вазовагальных проявлений, возникающих при использовании местных анестетиков и имеющих сходную симптоматику (нарушения дыхания, потеря сознания, изменения артериального давления, судороги, в т. ч. и при использовании низких доз) [12, 13].

Отметили случаи развития АШ при применении препаратов группы анальгетиков-антипиретиков. В 5 случаях имело место развития клинических симптомов АШ при парентеральном введении анальгина. В 3 случаях развитие АШ было связано с применением моно — и комбинированных препаратов, содержащих парацетамол.

Среди йодированных рентгенконтрастных соединений развитие АШ наблюдали при введении пациентам йогексола (4 случая), йопромида (3 случая) и диатризовоей кислоты (1 случай). Необходимо отметить, что развитие симптомов, характерных для АШ, при приеме данной группы препаратов происходит не по классическому механизму развития аллергического ответа, а является псевдоаллергической реакцией, обусловленной высвобождением гистамина под влиянием йода [14]. Мы посчитали обоснованным включение этих случаев в наш анализ, т. к. врачами проявления реакции были расценены именно как АШ, что нашло отражение в соответствующей форме извещения. Случаи развития АШ при применении НПВС были связаны с применением диклофенака, кеторолака, мелоксикама и декскетопрофена.

Наиболее часто развитие АШ у пациентов происходило на фоне парентерального введения ЛС, что объяснимо высокими показателями биодоступности при введении с использованием внутривенного и внутримышечного путей введения (табл. 2).

Следующий этап работы был посвящен изучению аллергологического анамнеза пациентов с клиническими проявлениями АШ. Своевременный и правильный сбор аллергологического анамнеза во многом определяет рациональность назначения лекарственных препаратов и позволяет выявить вероятность развития аллергических реакций при их введении. Результаты анализа характера сенсибилизации пациентов показали, что в большинстве случаев аллергологический анамнез был

Таблица 2. Анализ частоты развития случаев анафилактического шока при использовании различных путей введения лекарственных средств.
Table 2. Analysis of anaphylactic shock incidence depending on different routes of drug administration.

Route of administration	Reports, abs. number (%)
Intravenous	44 (39.3)
Intramuscular	37 (33)
Oral	16 (14.3)
Local	7 (6.2)
Regional anesthesia	3 (2.7)
Intracutaneous	1 (0.9)
Parabulbar	1 (0.9)
Paravertebral	1 (0.9)
Intranasal	1 (0.9)
Unknown	1 (0.9)

Примечание. Route of administration — путь введения; intravenous — внутривенно; intramuscular — внутримышечно; oral — внутрь; local — местно; regional anesthesia — проводниковая анестезия; intracutaneous — внутрикожно; parabulbar — парабульбарно; paravertebral — паравертебрально; intranasal — интраназально; unknown — неизвестно.

acid (1 case). It should be noted that during intake of drugs from this group, symptoms typical for AS are due to a pseudoallergic response caused by iodine-induced release of histamine rather than following the induction of general mechanism of allergic response development [14]. We included that cases in our analysis because the physicians considered and reported the responses specifically as AS. NSAIDs that induced AS development included diclofenac, ketorolac, meloxicam and dexketoprofen.

Most frequently, patients experienced AS because of parenteral administration of a MR, which can be explained by high bioavailability typical for intravenous and intramuscular routes of administration (table 2).

The next part of the study included analysis of case histories of allergic patients with clinical presentation of AS. Timely and correctly recorded case histories of patients with allergies containing information on prescription of drugs allows defining the probability of allergic responses to their administration. Analysis of the nature of patients' sensibilization has shown that in most cases the case history of allergies was informative to predict allergic reactions (84 cases, 75%); in 15 cases (13.4%) there was sensibilization to drugs, in 4 cases (3.6%) — to domestic allergens, in 2 cases (1.8%) — to food-based allergens, and in 3 cases (2.7%) a combined sensibilization (to food, domestic and pollen allergens) was observed. In 4 cases (3.5%), the history of allergies was unknown.

Not the least of the parameters requiring thorough study was the interval of time between drug administration and appearance of clinical symptoms of AS (sudden drop of arterial blood pressure, collapse, labored breathing, dyspnea, urticaria, skin itch). The findings have shown that in 19 cases the AS develops in patients during drug administration,

«спокоен» (84 случая, 75%), в 15 случаях (13,4%) имела место сенсibilизация к лекарственным препаратам, в 4 случаях (3,6%) — к бытовым аллергенам, в 2 случаях (1,8%) — к пищевым аллергенам и в 3 случаях (2,7%) наблюдали смешанный тип сенсibilизации (к пищевым, бытовым и пыльцевым аллергенам). В 4 случаях (3,5%) аллергологический анамнез пациентов был неизвестен.

Немаловажным показателем, требующим детального изучения, стало изучение временного промежутка между введением лекарственного препарата и возникновением клинических симптомов АШ (внезапное снижение артериального давления, коллапс, затрудненное дыхание, одышка, крапивница, кожный зуд). Результаты анализа показали, что в 19 случаях развитие симптомов АШ у пациентов происходило на фоне введения лекарственных препаратов, в 15 случаях в течение первых 5 минут после введения, в 17 случаях в течении 30 минут после введения. Эти данные подтверждают высокую скорость развития анафилаксии, что требует подготовки врача к оказанию неотложной медицинской помощи. В 3 случаях развитие клинических симптомов наблюдали в течение первых 45–60 минут после введения подозреваемого лекарственного препарата. В 9 случаях симптомы АШ начали наблюдать более, чем через 1 час после введения ЛС. В 49 случаях нежелательных реакций информация о скорости их развития отсутствовала.

Значимым фактором, необходимым для оценки причинно-следственной связи между приемом подозреваемого лекарственного препарата и возникающей НР, является также количество назначаемых одновременно с ним лекарственных средств. Анализ карт-извещений показал, что развитие симптомов АШ в большинстве случаев (63 случая, 56,2%) наблюдали при введении препаратов в виде монотерапии. Распределение оставшихся случаев представили в табл. 3.

Изучение пола пациентов выявило, что непредвиденные анафилактические реакции возникали у пациентов женского и мужского пола практически с одинаковой частотой — 54 и 57 случаев соответственно. В одной карте-извещении указание на пол пациентов отсутствовало. Распределение пациентов по возрасту выявило, что наиболее часто такие нежелательные реакции были зарегистрированы у пациентов в возрасте от 31 до 60 лет (табл. 4).

Изучение категории НР выявило 8 смертельных исходов вследствие развития АШ на фоне введения ЛС; в 4 случаях смерть была вызвана парентеральным введением препаратов группы β -лактамов антибиотиков: 3 слу-

Таблица 3. Распределение карт-извещений с клиническими проявлениями анафилактического шока по количеству сопутствующих лекарственных средств.

Table 3. Distribution of information reports containing anaphylactic shock presentation by the number of concurrent medicinal remedies.

Number of concurrent medicine remedies	Reports, abs. number
0	63
1 MR	16
2 MR	7
3 MR	10
4 MR	7
5 MR	5
6 MR	3
7 MR	1

Примечание. Для табл. 3, 4: Number of concurrent medicine remedies — количество сопутствующих лекарственных средств.

Таблица 4. Распределение пациентов с клиническими проявлениями анафилактического шока на фоне введения лекарственных средств по возрасту.

Table 4. Distribution of patients with clinical presentation of anaphylactic shock at a background of drug administration by age.

Number of concurrent medicine remedies	Reports, abs. number
Under 1 year	2 (1.8)
1–3 years	—
4–7 years	1 (0.9)
8–10 years	2 (1.8)
11–18 years	6 (5.4)
19–30 years	22 (19.6)
31–45 years	27 (19.6)
46–60 years	26 (23.2)
61–75 years	22 (19.6)
Over 76 years	4 (3.6)

Примечание. Under — до; years — лет; Over — старше.

in 15 cases — within the first 5 minutes after administration, in 17 cases — within 30 minutes after administration. These data confirm a high rate of anaphylaxis development that requires a physician to be trained in emergency medical care. In 3 cases, development of clinical symptoms was observed within the first 45–60 minutes after administration of a suspected drug. In 9 cases, AS symptoms were first observed later than 1 hour after MR administration. In 49 cases of adverse reactions, information about the rate of their development was missing.

A significant factor for evaluation of a cause-effect relation between intake of a suspected drug and occurring AR is the number of drugs prescribed concurrently. Analysis of reports has shown that development of AS symptoms was observed in most cases (63 cases, 56.2%) during drug administration as a monotherapy. Distribution of the remaining cases is shown in table 3.

Analysis of patients' gender revealed that unforeseen AS reactions occurred almost equally in female and male patients: 54 and 57 cases, respec-

чая — на введение цефтриаксона, 1 случай — на введение амоксициллина клавуланата. В 97 случаях развития АШ представляло угрозу жизни пациентов и требовало неотложной фармакотерапии и немедленной отмены введения препарата. В 3 случаях в картах-извещениях содержались указания на необходимость госпитализации пациентов и в 1 случае развитие АШ привело к временной нетрудоспособности пациента. В 3 случаях указания на категорию НР отсутствовали.

АШ является неотложным состоянием, требующем незамедлительного парентерального введения ЛС с целью коррекции нарушений сердечно-сосудистой и дыхательной систем, и спасения жизни пациента. К основным препаратам, входящим в стандарты скорой медицинской помощи при АШ, относятся растворы адреналина гидрохлорида, глюкокортикостероидных препаратов (преднизолон, дексаметазон, гидрокортизон), димедрола и аминофиллина [15, 16].

Анализ проведенной медицинской коррекции в изучаемых случаях возникновения АШ позволил получить следующие результаты: наиболее часто при купировании АШ использовали группы неселективных адреномиметиков, глюкокортикостероидов и противоаллергических средств. Распределение соответствующих групп препаратов по частоте их назначения с целью коррекции НР представили в табл. 5. Раствор адреналина гидрохлорида вводили пациентам в 69,6% случаев, что является рациональным в соответствии со стандартами скорой медицинской помощи при купировании АШ. Частота назначения глюкокортикостероидов с целью коррекции НР составила 94 случая (83,9%), при этом в большинстве случаев препаратом выбора являлся дексаметазон. Антигистаминные препараты для купирования АШ применяли значительно реже. Общее количество назначений препаратов данной группы составило 42–37,5% от всех случаев медицинской коррекции АШ.

Проведение обзора других исследований, посвященных изучению случаев АШ в различных странах мира, позволило выявить сопоставимость полученных нами результатов с данными других исследователей, в работах которых была описана высокая частота лекарственно-индуцированных случаев АШ. Так, исследования, направленные на изучение фатальной анафилаксии у пациентов, проживавших на территории США, за период 1999–2010 годы выявили 2458 таких случаев, и в 58,8% случаев АШ был вызван лекарственными препаратами [8]. В Латинской Америке наиболее часто развитие АШ ассоциирова-

Таблица 5. Частота назначения отдельных групп лекарственных препаратов с целью медикаментозной коррекции анафилактического шока.

Table 5. Frequency of prescription of particular groups of drugs for medicinal correction of anaphylactic shock.

Drug	MR prescriptions, abs. number (%)
Non-selective adrenergic agonists	
Adrenaline hydrochloride	78 (69.6)
Corticosteroids	
Dexamethasone	63 (56.2)
Prednisolone	20 (17.9)
Hydrocortisone	7 (6.2)
Hydrocortisone+prednisolone	4 (3.6)
Antiallergic drugs	
Chloropyramine	18 (16.1)
Clemastine	12 (10.7)
Diphenhydramine	11 (9.8)
Levocetirizine	1 (0.9)

Примечание. MR prescriptions, abs. number — число случаев назначения ЛС с целью коррекции НР, абс.; non-selective adrenergic agonists — неселективные адреномиметики.

tively. In one information report, the patient's gender was not mentioned. Distribution of patients by age established that such adverse reactions occurred most frequently in patients of 31 to 60 years of age (table 4).

Study of the AR category revealed 8 lethal outcomes due to AS to MR; in 4 cases death was caused by parenteral administration of drugs from the group of β -lactam antibiotics, Ceftriaxon (3 cases) and amoxicillin/clavulanate (1 case). In 97 cases, AS was life-threatening and required emergency pharmacological therapy and immediate discontinuation of drug administration. In 3 cases, information reports mentioned the need in patient's hospitalization, and in 1 case AS led to temporary disability. In 3 cases, AR category was not mentioned.

AS is an emergency condition requiring immediate parenteral administration of a MR to correct cardiovascular and respiratory disturbances and save the patient's life. The main drugs considered as the emergency medical care standards for AS include solutions of adrenaline hydrochloride, glucocorticosteroids (prednisolone, dexamethasone, hydrocortisone), dimedrol and aminophylline [15, 16].

Analysis of the treatment options demonstrated that to reverse the AS, non-selective adrenergic agonists, glucocorticosteroids and antiallergic drugs employed most frequently. The distribution of respective groups of drugs by the frequency of their use for AR correction is given in table 5. Adrenalin hydrochloride solution was administered to patients in 69.6% of cases, which is rational according to emergency medical care standards in reversing AS. The frequency of use of glucocorticosteroids for AR correction amounted to 94 cases (83.9%), the most often drug of choice being dexamethasone. Antihistamines were used much rarer to reverse AS.

лось с применением препаратов группы НПВС (57,8%) и антибиотиков (19,5%) [17]. Распространенность АШ в Казани изучалась по данным обращаемости за медицинской помощью в 1995 и 1999 годах и составила: 3,5 и 4,4 % соответственно от всех острых аллергических реакций. ЛС явились причиной АШ в 50 и 62% случаев, соответственно. Ретроспективный анализ медицинских карт пациентов детского возраста за период 2009–2013 годы, проведенный в Южной Корее, выявил 991 случай развития анафилаксии. Случаи развития медикаментозной анафилаксии чаще остальных были зарегистрированы при применении антибиотиков (34,9%) и нестероидных противовоспалительных средств (17,9%) [18]. Анализ представленных данных и собственных результатов позволил выделить фармакологические группы-лидеры по частоте развития АШ: противомикробные средства для системного применения и НПВС [19]. В наших исследованиях достаточно часто (14 и 8 случаев соответственно) развитие АШ было связано с введением местных анестетиков и рентгеноконтрастных соединений, что требует дальнейшего изучения частоты и особенностей развития аллергических и псевдоаллергических реакций тяжелой степени при их применении.

Заключение

Подводя итоги анализа карт-извещений, зарегистрированных в Республике Крым в 2010–2018 годах, стоит обратить внимание на высокую частоту и скорость развития нежелательных реакций в виде анафилактического шока. Среди всех фармакологических групп «лидерами» по частоте развития АШ явились β-лактамы, местные анестетики и анальгетики-антипиретики. Учитывая скорость развития АШ и факты игнорирования лекарственного и аллергологического анамнеза, ошибки медикаментозной коррекции следует рассмотреть возможность проведения дополнительных образовательных мероприятий для врачей разных специальностей, распространение информационных материалов, направленных на устранение ошибок оказания помощи (плакаты, алгоритмы).

Литература

1. Powrie R.O. Anaphylactic shock in pregnancy. *Critical care obstetrics*. 2018; chapter 40: 641–665. DOI: 10.1002/9781119129400.ch40.
2. Pawankar R., Holgate S.T., Canonica G.W., Lockey R.F., Blaiss M.S. World Allergy Organization. *White Book on Allergy: Update 2013*. 2013: 242 p. ISBN-10: 0615929168.
3. Новиков Д. К., Выхристенко Л.Р., Новиков П.Д., Титова Н.Д., Ищенко О.В., Семенова И.В., Янченко В.В. Анафилаксия. Анафилактический шок. Клиническая картина, диагностика, лечение: пособие. Витебск: ВГМУ, 2018. 103 с.

The total number of prescriptions of drugs from this group was equal to 42, i. e. 37.5% of the total number of cases of medical correction of AS.

Our findings were corroborated by a number of international studies described high prevalence of drug-induced AS cases. Studies on fatal anaphylaxis in USA in 1999–2010 discovered 2458 such cases, wherein in 58.8% of cases AS was caused by drugs [8]. In Latin America, the AS development most commonly associated with the use of NSAID drugs (57.8%) and antibiotics (19.5%) [17]. AS incidence rate in Kazan city, Russia, which was studied using the data on medical aid available for 1995 and 1999 years, was found equal to 3.5% and 4.4 % of all acute allergic reactions, respectively. MR were the cause of AS in 50% and 62% of cases, respectively. The retrospective analysis of medical charts of pediatric population for the period of 2009–2013 years, which was carried out in South Korea, identified 991 anaphylaxis cases. The cases of drug-induced anaphylaxis were most often recorded for the use of antibiotics (34.9%) and non-steroid anti-inflammatory drugs (17.9%) [18].

Analysis of published data and our findings highlight the pharmacological groups mostly contributing to AS to include antimicrobial drugs for systemic use and NSAID [19]. In our study, AS has been rather frequently (14 and 8 cases, respectively) associated with administration of local anesthetics and X-ray contrast compounds, which requires further investigation of the incidence and features of development of severe allergic and pseudoallergic reactions during their use.

Conclusion

Summarizing the analysis of information reports recorded in the Republic of Crimea in 2010–2018, the attention should be paid to high incidence and speed of development of AS adverse reactions. Among all pharmacological groups, the 'leaders' in AS prevalence included β-lactam antibiotics, local anesthetics and anti-pyretic analgesics. Considering high AS development rate, the facts of commonly ignored information on drugs and allergies as a part of a case history, and the AS improper therapies, the urgent need in conducting additional education events for physicians specializing in different fields and distribution of information materials (posters, algorithms) aimed at eliminating medical aid errors should be warranted.

References

1. Powrie R.O. Anaphylactic shock in pregnancy. *Critical care obstetrics*. 2018; chapter 40: 641–665. DOI: 10.1002/9781119129400.ch40.
2. Pawankar R., Holgate S.T., Canonica G.W., Lockey R.F., Blaiss M.S. World Allergy Organization. *White Book on Allergy: Update 2013*. 2013: 242 p. ISBN-10: 0615929168.
3. Novikov D.K., Vykhristenko L.R., Novikov P.D., Titova N.D., Ishchenko O.V., Semenova I.V., Yanchenko V.V. Anaphylaxis. Anaphylactic shock. The clinical picture, diagnosis, treatment: allowance. D. Vitebsk: Voronezh State Medical University, 2018. 103 p [In Russ.].

4. Анафилактический шок. Клинические рекомендации. Министерство здравоохранения Российской Федерации. Москва, 2016: 36 с.
5. Wood R.A., Camargo C.A., Lieberman P., Sampson H.A., Schwartz L.B., Zitt M., Collins C., Tringale M., Wilkinson M., Boyle J., Simons F.E. Anaphylaxis in America: The prevalence and characteristics of anaphylaxis in the United States. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2014; 133: 461–467. DOI: 10.1016/j.jaci.2013.08.016.
6. Turner J.P., Gowland H.M., Sharma V., Ierodiakonou D., Harper N., Garcez T., Pumphrey R., Boyle R.J. Increase in anaphylaxis-related hospitalizations but no increase in fatalities: An analysis of United Kingdom national anaphylaxis data, 1992–2012. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2015; 135: 956–963. DOI: 10.1016/j.jaci.2014.10.021.
7. Ye Y., Kim M., Kang H., Kim T., Sohn S., Koh Y., Park H.K., Jang G.C., Kim C.W., Jee Y.K., Hur G.Y., Kim J.H., Kim S.H., Choi G.S., Lee S.K., Park H.S. Predictors of the Severity and Serious Outcomes of Anaphylaxis in Korean Adults: A Multicenter Retrospective Case Study. *Allergy Asthma Immunol.* 2015; 7 (1): 22–29. DOI: 10.4168/aair.2015.7.1.22.
8. Jerschow E., Lin R.Y., Scaperotti M.M., McGinn A.P. Fatal anaphylaxis in the United States, 1999–2010: temporal patterns and demographic associations. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2014; 134 (6): 1318–1328. e7. DOI: 10.1016/j.jaci.2014.08.018.
9. Campbell R.L., Hagan J.B., Manivannan V., Decker W.W., Kanthala A.R., Bellolio M.F., Smith V.D., Li J.T. Evaluation of national institute of allergy and infectious diseases/food allergy and anaphylaxis network criteria for the diagnosis of anaphylaxis in emergency department patients. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2012; 29 (3): 748–52. DOI: 10.1016/j.jaci.2011.09.030.
10. ATC/DDD Index 2019. Available at: https://www.whocc.no/atc_ddd_index/
11. Федеральный закон ФЗ №61 от 12.04.2010 г. «Об обращении лекарственных средств. Режим доступа: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_99350/.
12. Ring J., Franz R., Brockow K. Anaphylactic reactions to local anesthetics. *Chem. Immunol. Allergy.* 2010; 95: 190–200. DOI: 10.1159/000315952.
13. Nakamura N., Tamagawa-Mineoka R., Masuda K., Katoh N. Immediate-type allergic reactions to local anesthetics. *Allergy International.* 2018; 67 (1): 160–161. DOI: 10.1016/j.alit.2017.07.003.
14. Ахмедзянова Д.Г., Рахматуллина Н.М., Сибгатуллина Н.А., Делян В.Ю., Закирова Г.Н., Трофимова О.Р., Пантелеймонова П.М. Острые побочные реакции на введение рентгеноконтрастных веществ в практике врача. *Вестник современной клинической медицины.* 2018; 11 (5): 100–104. DOI: 10.20969/VSKM.2018.11 (5).100-104.
15. Российская ассоциация аллергологов и клинических иммунологов: Федеральные клинические рекомендации по анафилактическому шоку. Утверждены Президиумом РААКИ 23.12.2013 г. Режим доступа: <http://www.raaci.ru/ClinRec/8.Anaphylaxy.pdf>
16. Глотов М.А., Знаменская Л.К., Коняева Е.И. Клинический протокол профилактики и лечения анафилаксии. Симферополь, 2016. 24 с.
17. Jares E. J., Baena-Cagnani C.E., Sanchez-Bognes M., Ensina L.F., Arias-Cruz A. Drug-induced anaphylaxis in Latin American countries. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology: in Practice.* 2015; 3 (5): 780–788. DOI: 10.1016/j.jaip.2015.05.012.
18. Lee S.Y., Ahn K., Kim J., Jang G.C., Min T.K., Yang H.J. A multicenter retrospective case study of anaphylaxis triggers by age in Korean children. *Allergy, asthma & immunology research.* 2016; 8 (6): 535–540. DOI: 10.4168/aair.2016.8.6.535.
19. Матвеев А.В., Крашенинников А.Е., Егорова Е.А., Коняева Е.И. Изучение лекарственно-индуцированных кожных реакций на основании карт-извещений о нежелательных реакциях лекарственных средств в Республике Крым за 2009–2016 гг. *Фармация и фармакология.* 2019; 7 (1): 32–41. DOI: 10.19163/2307-9266-2019-7-1-32-41.
4. Anaphylactic shock. Clinical recommendations. Ministry of Health of the Russian Federation. Moscow, 2016: 36 p [In Russ.].
5. Wood R.A., Camargo C.A., Lieberman P., Sampson H.A., Schwartz L.B., Zitt M., Collins C., Tringale M., Wilkinson M., Boyle J., Simons F.E. Anaphylaxis in America: The prevalence and characteristics of anaphylaxis in the United States. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2014; 133: 461–467. DOI: 10.1016/j.jaci.2013.08.016.
6. Turner J.P., Gowland H.M., Sharma V., Ierodiakonou D., Harper N., Garcez T., Pumphrey R., Boyle R.J. Increase in anaphylaxis-related hospitalizations but no increase in fatalities: An analysis of United Kingdom national anaphylaxis data, 1992–2012. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2015; 135: 956–963. DOI: 10.1016/j.jaci.2014.10.021.
7. Ye Y., Kim M., Kang H., Kim T., Sohn S., Koh Y., Park H.K., Jang G.C., Kim C.W., Jee Y.K., Hur G.Y., Kim J.H., Kim S.H., Choi G.S., Lee S.K., Park H.S. Predictors of the Severity and Serious Outcomes of Anaphylaxis in Korean Adults: A Multicenter Retrospective Case Study. *Allergy Asthma Immunol.* 2015; 7 (1): 22–29. DOI: 10.4168/aair.2015.7.1.22.
8. Jerschow E., Lin R.Y., Scaperotti M.M., McGinn A.P. Fatal anaphylaxis in the United States, 1999–2010: temporal patterns and demographic associations. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2014; 134 (6): 1318–1328. e7. DOI: 10.1016/j.jaci.2014.08.018.
9. Campbell R.L., Hagan J.B., Manivannan V., Decker W.W., Kanthala A.R., Bellolio M.F., Smith V.D., Li J.T. Evaluation of national institute of allergy and infectious diseases/food allergy and anaphylaxis network criteria for the diagnosis of anaphylaxis in emergency department patients. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2012; 29 (3): 748–52. DOI: 10.1016/j.jaci.2011.09.030.
10. ATC/DDD Index 2019. Available at: https://www.whocc.no/atc_ddd_index/
11. Federal Law FL No. 61 dated April 12, 2010 «Circulation of Medicine». Available at: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_99350/ [In Russ.].
12. Ring J., Franz R., Brockow K. Anaphylactic reactions to local anesthetics. *Chem. Immunol. Allergy.* 2010; 95: 190–200. DOI: 10.1159/000315952.
13. Nakamura N., Tamagawa-Mineoka R., Masuda K., Katoh N. Immediate-type allergic reactions to local anesthetics. *Allergy International.* 2018; 67 (1): 160–161. DOI: 10.1016/j.alit.2017.07.003.
14. Akhmedzyanova D.G., Rakhmatullina N.M., Sibgatullina N.A., Delyan V.U., Zakirova G.N., Trofimova O.R., Pantelimonova P.M. Acute adverse reactions for contrast medium infiltration in medical practice. *Vestnik sovremennoj klinicheskoy meditsiny.* 2018; 11 (5): 100–104 [In Russ.]. DOI: 10.20969/VSKM.2018.11 (5).100-104.
15. Russian Association of Allergologists and Clinical Immunologists: Federal Clinical Recommendations for Anaphylactic Shock. Approved by the RAACI Presidium on December 23, 2013. Available at: <http://www.raaci.ru/ClinRec/8.Anaphylaxy.pdf> [In Russ.].
16. Glotov M.A., Znamenskaya L.K., Konyaeva E.I. Clinical protocol for the prevention and treatment of anaphylaxis. Simferopol, 2016. 24 p [In Russ.].
17. Jares E. J., Baena-Cagnani C.E., Sanchez-Bognes M., Ensina L.F., Arias-Cruz A. Drug-induced anaphylaxis in Latin American countries. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology: in Practice.* 2015; 3 (5): 780–788. DOI: 10.1016/j.jaip.2015.05.012.
18. Lee S.Y., Ahn K., Kim J., Jang G.C., Min T.K., Yang H.J. A multicenter retrospective case study of anaphylaxis triggers by age in Korean children. *Allergy, asthma & immunology research.* 2016; 8 (6): 535–540. DOI: 10.4168/aair.2016.8.6.535.
19. Matveev A.V., Krashennnikov A.E., Egorova E.A., Konyaeva E.I. Investigation of medically induced skin reactions based on the analysis of reports of adverse drug reactions in the Republic of Crimea (from 2009 to 2016). *Farmatsiya i farmakologiya (Pharmacy & Pharmacology).* 2019; 7 (1): 32–41 [In Russ.]. DOI: 10.19163/2307-9266-2019-7-1-32-41.

Received 07.08.2019

Поступила 07.08.2019

Оптимизация интенсивной терапии делириозного синдрома при отравлениях 1,4-бутандиолом

А. Г. Синенченко, А. Н. Лодягин, Б. В. Батоцыренов

Санкт-Петербургский НИИ скорой помощи им. И. И. Джанелидзе,
Россия, 192242, г. Санкт-Петербург, Будапештская ул., д. 3, лит. А

Optimizing the Intensive Care Treatment of Delirium in Patients with 1,4-butanediol Intoxication

Andrey G. Sinenchenko, Alexey N. Lodyagin, Bair V. Butotsyrenov

Dzhanelidze Saint Petersburg Research Institute of Emergency Care
3, Budapeshtskaya St., Saint Petersburg 192242, Russia

Для цитирования: А. Г. Синенченко, А. Н. Лодягин, Б. В. Батоцыренов. Оптимизация интенсивной терапии делириозного синдрома при отравлениях 1,4-бутандиолом. *Общая реаниматология*. 2020; 16 (3): 85–93. DOI: 10.15360/1813-9779-2020-3-85-93 [На русск. и англ.]

For citation: Andrey G. Sinenchenko, Alexey N. Lodyagin, Bair V. Butotsyrenov. Optimizing the Intensive Care Treatment of Delirium in Patients with 1,4-butanediol Intoxication. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2020; 16 (3): 85–93. DOI: 10.15360/1813-9779-2020-3-85-93 [In Russ. and Engl.]

Резюме

Цель исследования: совершенствование интенсивной терапии острых отравлений 1,4-бутандиолом, осложненных развитием постинтоксикационного делирия.

Материалы и методы. Проанализировали данные обследования и лечения 40 мужчин с острыми тяжелыми отравлениями 1,4-бутандиолом, осложнившимися развитием постинтоксикационного делирия. Из них 20 пациентам в схеме лечения вводили сукцинат-содержащий препарат, 20 — были пролечены стандартными методами. Контрольную группу составили 18 человек — здоровые лица мужского пола, в возрасте от 25 до 40 лет. Провели оценку клинического течения делирия, показателей системы глутатиона и процессов перекисного окисления липидов в эритроцитах больных, оценку кислородно-транспортной функции организма методом непрямой калориметрии, оценку наличия гамма-гидроксимасляной кислоты в биологических средах по данным газового хроматографа с масс-спектрометрическим детектором.

Результаты. Установили повышение содержания восстановленного глутатиона к 7-м суткам на 50,3 (с 3,68±0,57 до 5,53±0,35 мкмоль/г), гемоглобина (Hb), активности антиоксидантных ферментов и ферментов, принимающих участие в восстановлении глутатиона из окисленной формы: глюкозо-6-фосфат дегидрогеназы — на 17,1 (с 3,68±0,26 до 4,31±0,41 мкмоль/гHb) и глутатион-редуктазы — на 14,9% (с 174,1±16,3 до 200,2±4,11 мкмоль/мин-гHb), снижение активации системы перекисного окисления липидов МДА на — 41,9% (с 7,78±1,06 до 4,52±0,28 нмоль/г Hb).

Заключение. Полученные данные доказали высокую эффективность сукцинат-содержащего препарата в отношении замедления прогрессирования клинического течения постинтоксикационного делирия за счет повышения содержания основного антиоксиданта клетки — восстановленного глутатиона.

Ключевые слова: острое отравление; постинтоксикационный делирий; 1,4-бутандиол; перекисное окисления липидов; система глутатиона; гипоксия; Цитофлавин

Summary

The aim of the study is to explore the best intensive care strategies for acute 1,4-butanediol poisoning complicated by post-intoxication delirium.

Materials and methods. The data of the laboratory testing and treatment of 40 men with acute severe poisoning with 1,4-butanediol, complicated by post-intoxication delirium were analyzed. Twenty patients received succinate-containing drug, others were treated with conventional methods. The control group included 18 healthy male patients aged 25 to 40 years. Clinical course of delirium, parameters of glutathione system and lipid peroxidation in patients' red blood cells, oxygen transport function (by indirect calorimetry), gamma-

Адрес для корреспонденции:

Андрей Георгиевич Синенченко
E-mail: andreysin2013@yandex.ru

Correspondence to:

Andrey G. Sinenchenko
E-mail: andreysin2013@yandex.ru

hydroxybutyric acid level in the biological fluids by gas chromatography/mass spectrometry were evaluated during the study.

Results. An increase in levels of reduced glutathione by 50.3% by day 7 (from 3.68 ± 0.57 to 5.53 ± 0.35 $\mu\text{mol/g}$), hemoglobin (Hb), antioxidant enzymes and glutathione reduction enzymes were found; glucose-6-phosphate dehydrogenase increased by 17.1% (from 3.68 ± 0.26 to 4.31 ± 0.41 $\mu\text{mol/g Hb}$) and glutathione reductase increased by 15% (from 174.1 ± 16.3 to 200.2 ± 4.11 $\mu\text{mol/min/g Hb}$). At the same time, the MDA lipid peroxidation system activation was decreased by 41.9% (from 7.78 ± 1.06 to 4.52 ± 0.28 nmol/g Hb).

Conclusion. The obtained data proved high efficacy of a succinate-containing drug in slowing down the progression of post-intoxication delirium through increasing the level of the main cellular antioxidant, the reduced glutathione.

Keywords: acute poisoning; post-intoxication delirium; 1,4-butanediol; lipid peroxidation; glutathione system; hypoxia; Cytoflavin

DOI: 10.15360/1813-9779-2020-3-85-93

Введение

На сегодняшний день делирий относится к достаточно актуальным проблемам современной медицины [1–3]. Необходимо отметить, что данная проблема типична не только для нашей страны, о чем свидетельствуют многочисленные зарубежные публикации [4–6].

Делирий является одним из распространенных послеоперационных осложнений у пожилых пациентов, у лиц, страдающих распространенным кардиосклерозом и имеющих широкий спектр сопутствующей патологии [7, 8]. Одной из частых причин формирования делириозного синдрома у больных токсикологического профиля, поступающих в отделение реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ), остается алкогольная зависимость [9].

Актуальность данного исследования обусловлена увеличением в общей структуре больных токсикологического профиля встречаемости острых отравлений прекурсором гамма-гидроксимасляной кислоты (ГОМК) — 1,4-бутандиолом (1,4-БД) [10, 11].

Известно, что 1,4-бутандиол, токсичность которого исследована недостаточно, относится к группе неэлектролитных промышленных спиртов [12]. В экспериментальных исследованиях на животных установлено, что при попадании внутрь спирт повышает проницаемость гематоэнцефалического барьера, снижает интенсивность тканевого дыхания, подвергается метаболическим изменениям с образованием его альдегидных и (или) кислотных метаболитов, приводящих к неравномерно выраженным дистрофическим изменениям клеток нервной ткани и отеку головного мозга. Наиболее значимые расстройства при интоксикации спиртом связаны с нарушением нейротрансмиттеров мозга (ГАМК-эргических систем), обеспечивающих баланс процессов возбуждения и торможения [13]. Клинически доказано формирование тяжелых абстинентных состояний, делириозного синдрома у больных с систематическим употреблением токсиканта [14–17].

Introduction

Currently, delirium is one of significant challenges of modern medicine [1–3]. Notably, this issue is common world-wide, as evidenced by numerous international publications [4–6].

Delirium is one of the most common postoperative complications in elderly patients with chronic coronary heart disease and a wide range of associated conditions [7, 8]. Alcohol addiction remains one of the frequent causes of delirium syndrome in intoxicated patients admitted to the intensive care unit (ICU) [9].

Relevance of this study is due to an increase in frequency of acute poisoning by the gamma-hydroxybutyric acid (GHA) precursor, 1,4-butanediol (1,4-BD), among the patients in toxicology wards [10, 11].

The 1,4-butanediol, whose toxicity has not been sufficiently investigated, is a nonelectrolyte industrial alcohol [12]. Ingestion of the alcohol was found to increase the permeability of the blood-brain barrier, reduce the intensity of tissue respiration, undergo metabolic changes with the formation of its aldehyde and (or) acid metabolites, causing non-uniform dystrophic changes in nervous tissue cells and cerebral edema in animal experimental studies. The most significant disorders in this compound intoxication are related to the impaired function of brain neurotransmitters (GABAergic systems), which normally help maintaining the balance between excitation and inhibition [13]. The development of severe withdrawal or delirium syndrome in patients who regularly use the toxicant has been demonstrated clinically [14–17].

Studies on pathophysiology of post-intoxication delirium (PD) induced by psychoactive substances (PS) or alcohol have mainly focused on impaired free-radical oxidation processes and neurological markers [18, 19].

Changes in the lipid peroxidation (LPO) and some indicators of glutathione-dependent antioxidant system and associated biochemical systems in the red blood cells of patients with GHB (1,4-BD) precursor poisoning complicated by PD, as well as

В научных исследованиях, отражающих патофизиологию ПД, обусловленного употреблением психоактивных веществ (ПАВ) и алкоголя, значительная роль отводится нарушению процессов свободнорадикального окисления и нейромаркерам [18, 19].

Остаются неизученными изменения состояния процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и некоторых показателей глутатион-зависимой антиоксидантной системы и сопряженных биохимических систем в эритроцитах больных с отравлениями прекурсорами ГОМК (1,4-БД), осложненных ПД, а также оценка влияния на патологический процесс сукцинат-содержащего препарата.

Цель исследования — совершенствование интенсивной терапии острых отравлений 1,4-бутандиолом, осложненных развитием постинтоксикационного делирия.

Материал и методы

Анализировали эффективность лечения 40 мужчин с ПД в возрасте от 25 до 40 лет, находившихся в отделении реанимации и интенсивной терапии центра лечения острых отравлений многопрофильного стационара. Всех пациентов случайным образом поделили на две группы по характеру применяемой фармакотерапии: 20 пациентов (основная группа, 1-я группа) дополнительно к стандартной интенсивной терапии получили сукцинатсодержащий препарат Цитофлавин «ООО НТФФ Полисан, Санкт-Петербург», 40 мл ежедневно в разведении на 10% растворе глюкозы 2 раза в сутки внутривенно капельно, в течение 7 суток; 20 больных (группа пациентов без Цитофлавина, 2-я группа) — получали стандартную интенсивную терапию. Для сравнения обследовали 18 мужчин в возрасте от 25 до 40 лет (контрольная группа). Средний возраст пациентов 1-ой группы составил — 36,1±6,9 лет, 2-ой группы — 35,7±7,2 лет, мужчин контрольной группы — 35,9±7,4 лет, без значимых межгрупповых различий.

У всех больных с ПД состояние расценили как тяжелое. В биологических средах по данным газового хроматографа с масс-спектрометрическим детектором GCMS-QP2010 SE (Shimadzu, Япония) обнаружили ГОМК, выраженность делирия по шкале DRS-R-98 (Trzepacz и др., 1988) составила 20 баллов и более, стаж систематического употребления ГОМК — больше 1 месяца, тяжесть состояния по шкале Acute Physiology And Chronic Health Evaluation II (APACHE II) (Knaus W.A., 1985) — не более 10 баллов. Диагноз делириозного синдрома соответствовал Международной классификации болезней (МКБ-10) (WHO, 1992).

Исследование пациентов проводили с момента диагностики делириозного синдрома (1-е сутки) и далее на 3-е и 7-е сутки интенсивной терапии.

В биохимическом анализе крови (в эритроцитах пациентов) определяли показатели системы глутатиона и процессов ПОЛ: концентрацию восстановленного глутатиона (ВГ) — по методу G. L. Elman (1959), сульфгидрильных групп белков (СГ) — по Bellomo G. et al (1990), малонового диальдегида (МДА) —

the assessment of efficacy of the succinate-containing drugs in the treatment of such patients remain unexplored.

The aim of the study is to explore ways to improve the intensive care of acute 1,4-butanediol poisoning complicated by post-intoxication delirium development.

Materials and Methods

The efficacy of treatment of 40 men with PD aged 25 to 40 years admitted to the ICU of the Acute Poisoning Treatment Center of a general hospital was evaluated. All patients were divided into two groups based on the drugs they received. First, or main, group included 20 patients who in addition to the conventional intensive care were prescribed Cytoflavin (Cytoflavin succinate, Polisan Ltd, Saint-Petersburg, Russia) dosed 40 ml daily diluted in 10% dextrose6 administered intravenously twice a day for 7 days. The second group consisted of 20 men, who received conventional intensive care. Eighteen men aged 25 to 40 years served as the control group. The average age of the 1st group patients was 36.1±6.9 years, the 2nd group — 35.7±7.2 years, control group — 35.9±7.4 years, without significant intergroup differences.

All the patients with PD were assessed as being severely ill. GHB was found in biological fluids taken from them using the GCMS-QP2010 SE gas chromatograph with mass spectrometry (Shimadzu, Japan), delirium severity on DRS-R-98 scale (Trzepacz et al., 1988) was 20 points or more, the history of regular use of GHB was more than 1 month, the severity of their condition on the scale of Acute Physiology And Chronic Health Evaluation II (APACHE II) (Knaus W. A., 1985) was 10 points and less. The diagnosis of delirium corresponded to the International Classification of Diseases (ICD-10) (WHO, 1992).

The patients were studied from the moment of delirium diagnosis (Day 1) and further on Days 3 and 7 of intensive care.

The following clinical chemistry parameters of glutathione system and lipid peroxidation were measured in the serum or red blood cells: reduced glutathione (RG) by G. L. Elman method (1959), sulfhydryl protein groups (SG) according to Bellomo G. et al (1990), malone dialdehyde (MDA) according to M. Uchiyama (1978), activity of glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) as per A. Kornberg et al. (1955), glutathione reductase (GR) based on I. Garlberg, B. Mannervik (1985) method, glutathione peroxidase (GP) based on A. N. Gavrilova and N. F. Khmara (1986), catalases according to M. A. Koryuk (1988).

The enzyme activity was calculated per gram of hemoglobin in erythrocyte hemolysate. Hemoglobin concentration was determined by hemoglobincyanide method.

A psychometric scale DRS-R-98 was used to assess the evolution and severity of delirium.

The oxygen transport function was evaluated using an indirect calorimeter Quark RMR (COSMED Deutschland GmbH, Italy), the studied parameters included oxygen consumption (VO₂, ml/min) and carbon dioxide production (VCO₂, ml/min).

Statistical analysis of the results was performed using the Statistica for Windows software (version 10). The mean and standard deviation ($M \pm SD$, min-max,

по М. Uchiyama (1978), активность глюкозо-6-фосфат дегидрогеназы (Г-6-Ф-ДГ) — по А. Kornberg et al (1955), глутатион-редуктазы (ГР) — по I. Garlberg, B. Mannervik (1985), глутатион-пероксидазы (ГП) — по А. Н. Гавриловой и Н. Ф. Хмары (1986), каталазы — по М. А. Королюку (1988). Расчет активности ферментов производили на грамм гемоглобина (в гемолизате эритроцитов). Концентрацию гемоглобина определяли гемиглобинцианидным методом.

Для оценки динамики, выраженности и тяжести делириозного синдрома использовали психометрическую шкалу — DRS-R-98.

Оценку кислородно-транспортной функции организма проводили с помощью непрямого калориметра модели Quark RMR (COSMED Deutschland GmbH, Италия), изучали показатели — объем потребления кислорода (VO_2 , мл/мин) и объем выделения углекислого газа (VCO_2 , мл/мин).

Статистическую обработку полученных результатов осуществляли в программе Statistic for Windows (версия 10). Выполняли расчет статистики ($M \pm SD$, min-max, Me [Q25; Q75]). Для изучения динамики изменений параметров внутри групп (сравнение медианных значений параметров в различные моменты времени в пределах одной группы) использовали непараметрический метод — критерий Уилкоксона, для проведения межгрупповых сравнений медианных значений параметров использовали непараметрический критерий — U -критерий Манна-Уитни. Различия между изучаемыми признаками считали статистически значимыми, если p составлял 95 и более процентов ($p < 0,05$).

Результаты и обсуждение

У пациентов, находящихся в психотическом состоянии в 1-е и 3-е сутки ПД наблюдали выраженные изменения баланса про — и антиоксидантных систем (табл. 1).

Установили, статистически значимое снижение концентрации ферментов: ВГ — на — 54,9%, ГП — на — 13,2%, Гл-6ф-ДГ — на — 50,2%, СГ — на — 47,3%, ГР — на — 20,2% в эритроцитах больных с ПД, в сравнении с контрольной группой, в период 1-х суток наблюдения. В свою очередь, угнетения каталазы в изучаемый период не отмечали, как в 1-й, так и 2-й группах, в связи с чем, данный показатель в оценке ферментативного звена антиоксидантной системы являлся неинформативным.

Диагностировали статистически значимое и более выраженное в сравнении с остальными показателями угнетение активности фермента ГП в изучаемых группах в 1-е сутки наблюдения, обусловленное снижением уровня субстрата ГП реакции — ВГ и дефицитом НАДФ·Н. Глутатион-пероксидазная активность в эритроцитах больных 1-й и 2-й групп снизилась до 88,3 и 84,2%, соответственно, по сравнению с этим показателем в группе здоровых лиц.

В период 3-х суток, в исследуемых группах больных с ПД наблюдали специфические отличия, характеризующие влияние сукцината на

Me [Q25; Q75]). For studying the dynamics of changes inside the groups (comparison of median parameters at various time within the same group) we used the non-parametric Wilcoxon test, and for inter-group comparison of median parameters we used the non-parametric Mann–Whitney U -test. The difference was deemed significant at a p -value less than 0.05.

Results and Discussion

In psychotic patients on Days 1 and 3 of PD significant changes in the pro — and antioxidant systems balance were observed (tables 1).

A statistically significant decreases in enzyme activity in RBCs of patients with PD were found: RG — by 54.9%, GP — by 13.2%, G6PD — by 50.2%, SG — by 47.3%, GR — by 20.2% compared to the control group during the first day of observation. Meanwhile, there was no suppression of catalase activity between groups 1 and 2 in studied parameters, and this parameter was considered uninformative for the evaluation of the antioxidant system enzymes.

We diagnosed a significant inhibition of GP enzyme activity in the study groups during the 1st day of observation, which was caused by reduced level of RG (the GP reaction substrate) and a shortage of NADPH. Glutathione peroxidase activity in erythrocytes of the patients from groups 1 and 2 decreased to 88.3 and 84.2%, respectively, compared to the group of healthy volunteers.

On Day 3, the studied groups of patients with PD exhibited differences in effect of succinate on free-radical oxidation activation and glutathione system. The direct effect of free-radical oxidation activation on the activity of glutathione system (RG) and G6PD enzymes was as follows: 3.33–3.06 $\mu\text{mol/g Hb}$ and 3.07–3.55 $\mu\text{mol/min/g Hb}$, respectively, that was considerably lower than in Group 1 (4.2–4.29 $\mu\text{mol/min/g Hb}$ and 3.74–4.10 $\mu\text{mol/min/g Hb}$, respectively) (table 1).

In the group 2 the opposite pattern was observed by Day 3 of treatment. A high rate of lipid peroxidation was found which was 1.85-fold higher than in healthy individuals. The concentration of lipid peroxidation products in the red blood cells of patients was found to be 1.14 times higher than in Group 1. Nevertheless, due to preserved antioxidant protection capacities, there was no critical exhaustion of the antiradical protection system in PD, and the MDA concentration was 5.58–6.2 nmol/g Hb . The results corroborate the previous experimental study showing body's ability to endure the high-intensity lipid peroxidation in critical illness, which is the cornerstone of resistance to hypoxia [20].

It is noteworthy that after 3 days of hospitalization reduced peroxidation processes in erythrocytes were found in the group 1 patients receiving Cytoflavin, i.e. MDA level decreased by 25.3%

Таблица 1. Показатели глутатион-зависимой антиоксидантной системы, сопряженных биохимических систем и активации процессов перекисного окисления липидов у больных с острыми отравлениями 1,4-БД ($M \pm SD$, Q25; Q75).**Table 1. Parameters of glutathione-dependent antioxidant system, associated biochemical systems and lipid peroxidation activation in patients with acute 1,4-BD poisoni ($M \pm SD$, Q25; Q75).**

Parameters	Values in groups at study stages						Control
	+ Cytoflavin			– Cytoflavin			
	Day 1	Day 3	Day 7	Day 1	Day 3	Day 7	
G6PD, μmol/min/g Hb	3.68±0.57 P=0.02** 3.44; 4.28	3.84±0.25 P=0.001** 3.74; 4.10	5.53±0.35 P=0.71** P=0.71* 5.51; 5.89	3.37±0.3 P=0.02** P=0.04* 3.22; 3.56	3.41±0.29 P=0.001** P=0.001* 3.07; 3.55	3.53±0.97 P=0.001** 2.91; 4.01	5.552±0.61 5.3; 5.7
RG, μmol/g Hb	3.68±0.26 P=0.02** 3.43; 3.75	4.22±0.41 P=0.02** 4.2; 4.29	4.31±0.41 P=0.001** 4.2; 4.40	3.48±0.4 P=0.71* P=0.02** 3.22; 3.73	3.58±0.51 P=0.04* P=0.01** 3.33; 3.06	3.61±0.4 P=0.001* P=0.001** 3.33; 3.90	5.782±0.36 5.6; 6.1
GP, μmol/min/g Hb	4.54±0.21 P=0.01** 4.27; 5.14	5.12±0.31 P=0.56** 4.10; 5.87	6.25±0.19 P=0.02** 5.92; 6.54	4.33±0.53 P=0.49* P=0.001** 3.99; 4.79	4.27±0.63 P=0.04* P=0.04** 3.8; 4.6	4.10±0.44 P=0.001* P=0.001** 3.44; 4.33	5.144±0.24 4.8; 5.3
SG, μmol/g Hb	3.79±0.31 P=0.001** 3.65; 4.03	3.88±0.30 P=0.001** 3.7; 4.13	4.21±0.17 P=0.001** 3.86; 4.35	3.95±0.53 P=0.91* P=0.001** 3.75; 4.51	3.85±0.63 P=0.87* P=0.001** 3.22; 4.33	3.82±1.04 P=0.02* P=0.001** 3.51; 3.91	5.601±0.62 5.2; 5.8
Catalase, μmol/min/g Hb	26.8±6.52 P=0.27** 23.0; 32.9	29.2±3.54 P=0.09** 26.8; 31.7	33.6±3.45 P=0.02** 27.9; 36.9	27.4±3.76 P=0.75* P=0.28** 24.6; 29.9	25.90±3.89 P=0.04* P=0.03** 24.3; 29.6	28.3±3.61 P=0.64* P=0.04** 25.2; 32.9	28.07±1.09 27.8; 30.1
GR, μmol/min/g Hb	174.1±16.3 P=0.02** 164.7; 191.1	178.50±9.19 P=0.001** 171.9; 185.5	200.2±4.11 P=0.71** 197.9; 204.4	180.1±18.1 P=0.65* P=0.02** 165.3; 193.5	168.3±17.1 P=0.04* P=0.001** 160.3; 180.5	167.2±16.6 P=0.001* P=0.001** 159.3; 174.3	209.3±23.91 210.1; 212.1
MDA, nmol/g Hb	7.78±1.06 P=0.001** 6.68; 7.92	5.81±0.39 P=0.79** 5.58; 6.2	4.52±0.28 P=0.001** 4.28; 4.77	6.85±0.84 P=0.45* P=0.03** 5.67; 7.22	6.65±0.58 P=0.04* P=0.03** 6.33; 7.08	7.11±1.53 P=0.001* P=0.001** 6.50; 7.65	5.768±0.44 5.4; 5.9

Note. * — P for intergroup difference (+/-Cytoflavin); ** — P vs control group.**Примечание.** Для табл. 1–3: Parameters — показатели; values in groups at study stages — значения в группах на стадиях исследования; day – сутки; G6PD — Гл-6ф-ДГ; RG — ВГ; GP — ГП; SG — СГ; GR — ГР; MDA — МДА. * — p межгрупповое отличие (+/-Cytoflavin); ** — p отличие по сравнению с контрольной группой.

процессы активации свободнорадикального окисления и системы глутатиона, как ведущей составляющей системы антиоксидантной защиты. Диагностировали прямое влияние активации свободнорадикального окисления на концентрацию ферментов системы глутатиона (ВГ) и фермента Гл-6ф-ДГ, их содержание составило — 3,33–3,06 мкмоль/г Hb и 3,07–3,55 мкмоль/ (мин-г Hb), соответственно, значительно ниже, чем в 1-й группе (4,2–4,29 мкмоль/ (мин-г Hb) и 3,74–4,10 мкмоль/ (мин-г Hb), соответственно), (табл. 1).

Во 2-й группе к 3-м суткам лечения отмечали противоположную динамику. Выявили высокую уровень скорость протекания процессов ПОЛ — в 0,85 раза выше, чем у здоровых лиц. В эритроцитах больных установили более высокую концентрацию продуктов ПОЛ — в 1,14 раза выше, чем в 1-й группе. Тем не менее, благодаря сохранению резервов антиоксидантной мощности, критического уровня истощения системы антирадикальной защиты при ПД не наблюдали, концентрация МДА состави-

($P=0.003$), while the RG activity increased by 14.6% ($P=0.02$) and GP activity increased by 2.7% ($P=0.03$) compared to the Day 1 of treatment. However, there were no significant changes in SG, GR and G6PD levels in erythrocytes of the group 1 patients (table 2).

During the evaluation of oxygen transport function by indirect calorimetry an increase in oxygen consumption by 15.8% ($P=0.002$) was detected by Day 3 in patients with PD receiving Cytoflavin and a decrease of this parameter in the group 2 patients by 3.3% ($P=0.24$), compared to Day 1 of study (table 3).

By Day 7 of succinate administration, there was a tendency to increased G6PD by 50.3% (from 3.68 $\pm$ 0.57 to 5.53 $\pm$ 0.35 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g Hb}$), RG by 17.1% (from 3.68 $\pm$ 0.26 to 4.31 $\pm$ 0.41 $\mu\text{mol}/\text{g Hb}$), GP by 37.6% (4.54 $\pm$ 0.21 to 6.25 $\pm$ 0.19 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g Hb}$), GR by 14.9% (from 174.1 $\pm$ 16.3 to 200.2 $\pm$ 4.11 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g Hb}$), reduced lipid peroxidation rate and MSA level by 41.9% (from 7.78 $\pm$ 1.06 to 4.52 $\pm$ 0.28 $\text{nmol}/\text{g Hb}$) in the RBCs of the main group patients. In the group 2 patients, no changes in concentration of RG, GP, GR activity and MDA level were diagnosed in erythrocytes over the same

Таблица 2. Внутригрупповая динамика изменений показателей глутатион-зависимой антиоксидантной системы, сопряженных биохимических систем и активации процессов ПОЛ у больных с острыми отравлениями 1,4-БД, осложненными ПД.**Table 2. Intragroup changes of parameters of glutathione-dependent antioxidant system, associated biochemical systems and lipid peroxidation activation in patients with acute 1,4-BD poisoning complicated by PD.**

Parameters		Values in groups at study stages				
		Day 1	Day 3	Increase/decrease, %	Day 7	Increase/decrease, %
G6DP, $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g Hb}$	1	3.68 $\pm$ 0.57	3.84 $\pm$ 0.25 <i>P</i> =0.22	+4.3	5.53 $\pm$ 0.35 <i>P</i> =0.01	+50.3
	2	3.37 $\pm$ 0.3	3.41 $\pm$ 0.29 <i>P</i> =0.55	+1.2	3.53 $\pm$ 0.97 <i>P</i> =0.09	+10.6
RG, $\mu\text{mol}/\text{g Hb}$	1	3.68 $\pm$ 0.26	4.22 $\pm$ 0.41 <i>P</i> =0.02	+14.6	4.31 $\pm$ 0.41 <i>P</i> =0.01	+17.1
	2	3.48 $\pm$ 0.4	3.58 $\pm$ 0.51 <i>P</i> =0.52	+2.8	3.61 $\pm$ 0.4 <i>P</i> =0.46	+3.73
GP, $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g Hb}$	1	4.54 $\pm$ 0.21	5.12 $\pm$ 0.31 <i>P</i> =0.03	+12.7	6.25 $\pm$ 0.19 <i>P</i> =0.01	+37.6
	2	4.33 $\pm$ 0.53	4.27 $\pm$ 0.63 <i>P</i> =0.55	-1.38	4.10 $\pm$ 0.44 <i>P</i> =0.30	-5.31
GR, $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g Hb}$	1	174.1 $\pm$ 16.3	178.5 $\pm$ 9.19 <i>P</i> =0.51	+2.5	200.2 $\pm$ 4.11 <i>P</i> =0.01	+14.9
	2	180.1 $\pm$ 18.1	168.3 $\pm$ 17.1 <i>P</i> =0.04	-6.5	167.2 $\pm$ 16.6 <i>P</i> =0.04	-7.1
Catalase, $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g Hb}$	1	26.8 $\pm$ 6.52	29.2 $\pm$ 3.54 <i>P</i> =0.31	+8.9	33.6 $\pm$ 3.45 <i>P</i> =0.04	+25.4
	2	27.4 $\pm$ 3.76	25.9 $\pm$ 3.89 <i>P</i> =0.04	-5.4	28.3 $\pm$ 3.61 <i>P</i> =0.07	+3.3
MDA, nmol/g Hb	1	7.78 $\pm$ 1.06	5.81 $\pm$ 0.39 <i>P</i> =0.003	-25.3	4.52 $\pm$ 0.28 <i>P</i> =0.002	-41.9
	2	6.85 $\pm$ 0.84	6.65 $\pm$ 0.58 <i>P</i> =0.57	-2.9	7.11 $\pm$ 1.53 <i>P</i> =0.04	-3.8
SG, $\mu\text{mol}/\text{g Hb}$	1	3.79 $\pm$ 0.31	3.88 $\pm$ 0.3 <i>P</i> =0.69	+2.3	4.21 $\pm$ 0.17 <i>P</i> =0.03	+11.1
	2	3.95 $\pm$ 0.53	3.85 $\pm$ 0.63 <i>P</i> =0.44	-2.5	3.82 $\pm$ 1.04 <i>P</i> =0.47	-3.3

Note. Increase/decrease — percent of increase(+)/decrease(-) vs Day 1; for tables 2,3: 1 — patients taking Cytoflavin; 2 — patients not taking Cytoflavin; *P* — difference vs Day 1.

Примечание. Increase/decrease — коэффициент прироста/снижения в сравнении с 1-и сутками; для табл. 2, 3: 1 — группа больных с Цитофлавином; 2 — группа больных без Цитофлавина; *p* — отличие по сравнению с 1-и сутками терапии.

ла 5,58–6,2 нмоль/г Hb. Полученные результаты согласуются с данными, экспериментального исследования, которое свидетельствуют о том, что в критических состояниях, способность организма выдерживать процессы ПОЛ высокой интенсивности является основой резистентности к гипоксии [20].

Необходимо отметить, что в период 3-х суток, в 1-й группе, на фоне терапии «Цитофлавином», диагностировали уменьшение величины интенсивности протекания перекисных процессов в эритроцитах — снижение содержания МДА на 25,3% (*p*=0,003), статистически значимое повышение активности ВГ на 14,6% (*p*=0,02), ГП на 2,7% (*p*=0,03), в сравнении с 1-и сутками терапии. В свою очередь, в эритроцитах больных 1-й группы не наблюдали значительных изменений концентрации СГ, ГР и Гл-6ф-ДГ (табл. 2).

В ходе оценки кислородно-транспортной функции организма методом непрямой калориметрии диагностировали прирост потребления кислорода на 15,8% (*p*=0,002) к 3-м суткам

time period compared to Day 1, presumably due to strong impact of free-radical oxidation on glutathione system (table 1).

The most severe delirium manifestations in patients were observed on Day 3 from its onset. The overall severity of PD on DRS-R-98 scale in this period in the group 1 was 26.7 $\pm$ 4.8 points and in group 2 — 25.9 $\pm$ 4.1 points with no significant intergroup differences (*P*=0.75). On the other hand, a significant decrease in the overall PD manifestations was diagnosed in patients of group 1 by Day 7: it was as low as 18.1 $\pm$ 4.3 points vs 22.9 $\pm$ 3.3 points in group 2 (*P*=0.03).

We identified a specific pattern of symptom regression in patients who received intensive treatment with Cytoflavin. By Day 7 the patients of the main group first demonstrated reduced anxiety and restlessness, then disorientation and psychotic symptoms subsided. In the group of patients not receiving Cytoflavin, these patterns were not evident. In spite of the intensive treatment, the Group 2 patients still had delirium with allopsychic disorientation, severe anxiety and restlessness associated with abnormal reality perception with predomi-

Таблица 3. Динамика показателей потребления кислорода и выделения углекислого газа у больных с ПД при острых отравлениях 1,4-БД.**Table 3. Changes in oxygen consumption and carbon dioxide production in patients with PD and acute 1,4-BD poisoning.**

Parameters		Values in groups at study stages				
		Day 1	Day 3	Increase/decrease, %	Day 7	Increase/decrease, %
VO ₂ , ml/min	1	265.2±12.8	307.3±21.5 P=0.002	+15.8	286.7±17.2 P=0.04	-6.4
	2	274.7±11.3	265.2±10.4 P=0.24	-3.3	195.4±10.4 P=0.001	-28.8
VCO ₂ , ml/min	1	219.5±12.2	247.3±14.6 P=0.02	+12.7	255.6±18.4 P=0.02	+6.9
	2	220.4±9.7	229.5±11.3 P=0.70	+4.1	201.6±9.4 P=0.04	-8.6

Note. VO₂ — oxygen consumption; VCO₂ — carbon dioxide production; P — differences vs Day 1; increase/decrease — percent of increase(+) / decrease(-) vs Day 1.

Примечание. VO₂ — объем потребления кислорода; VCO₂ — объем выделения углекислого газа; p — отличие по сравнению с 1-и сутками терапии; increase/decrease — коэффициент прироста и снижения в сравнении с 1-и сутками терапии.

у больных с ПД на фоне терапии «Цитофлавином» и снижение данного показателя во 2-й группе на 3,3% ($p=0,24$), в сравнении с 1-и сутками наблюдения (табл. 3).

К 7-м суткам применения сукцината в эритроцитах больных основной группы отмечали тенденцию к росту содержания ферментов Гл-6ф-ДГ на 50,3% (с $3,68 \pm 0,57$ до $5,53 \pm 0,35$ мкмоль/(мин-г Hb)), ВГ на 17,1% (с $3,68 \pm 0,26$ до $4,31 \pm 0,41$ мкмоль/г Hb), ГП на 37,6% ($4,54 \pm 0,21$ до $6,25 \pm 0,19$ мкмоль/(мин-г Hb)), ГР на 14,9% (с $174,1 \pm 16,3$ до $200,2 \pm 4,11$ мкмоль/(мин-г Hb)), снижение скорости протекания ПОЛ и уровня МДА на 41,9% (с $7,78 \pm 1,06$ до $4,52 \pm 0,28$ нмоль/г Hb). Во 2-й группе, в данном временном периоде, изменений концентрация ферментов ВГ, ГП, ГР и содержания МДА в эритроцитах больных, в сравнении с 1-и сутками, не диагностировали по причине активного влияния процессов свободнорадикального окисления на систему глутатиона (табл. 1)

Необходимо отметить, что наиболее выраженные симптомы делирия у больных выявляли на 3-е сутки от его начала. Общая выраженность симптомов ПД по шкале DRS-R-98, в данный период, в 1-й группе составила $26,7 \pm 4,8$ балла и во второй — $25,9 \pm 4,1$ балла, без достоверных межгрупповых отличий ($p=0,75$). В свою очередь, достоверное снижение общей выраженности ПД диагностировали у больных 1-й группы к 7-м суткам — до $18,1 \pm 4,3$ балла, в сравнении со 2-й группой — $22,9 \pm 3,3$ балла ($p=0,03$).

На фоне интенсивной терапии с использованием Цитофлавина выявили последовательность редукции психопатологической симптоматики. В клинической картине у больных 1-й группы к 7-м сутками диагностировали уменьшение, в первую очередь, тревожной симптоматики и двигательного беспокойства, затем, признаков дезориентировки и симптомов психотического уровня. В группе больных без

nance of visual and auditory hallucinations of different intensity. The results of our study corroborate the research data of Livanov G. et al. (2015) demonstrating the positive effect of succinate on the duration and severity of mental disorders in intoxication-induced delirium [21].

Conclusion

The study provided a strong evidence of severe hypoxia-induced metabolic alterations in acute 1,4-BD poisoning complicated by PD. The free-radical oxidation activation and abnormal functioning of antioxidant protection system, including glutathione system being its leading component, seem to contribute to the development of metabolic disorders.

In turn, the obtained data demonstrate a high efficiency of the succinate-containing Cytoflavin drug in slowing down the progression of PD due to an increased level of the main cellular antioxidant, RG, restoration of thiol disulfide cellular balance, increased activity of antioxidant enzymes (catalase, GP) and enzymes involved in the glutathione reduction from the oxidized form (G6PD and GR). The drug had a notable effect on the clinical course of PD and reduced the main symptoms by Day 7 post-treatment due to restored oxygen-dependent respiration with accumulation of NADPH and high-energy compounds necessary for RG production in the tissues.

The obtained quantitative data on the peroxidation protection system, rate and intensity of lipid peroxidation in patients' erythrocytes can be used as additional criteria of PD severity in patients with 1,4-BD poisoning.

использования Цитофлавина такой закономерности выявить не удалось. Несмотря на, проводимую терапию в клинической картине у больных 2-й группы сохранялись признаки делириозного синдрома с аллопсихической дез-

ориентировкой, ярко выраженными симптомами тревоги и двигательного беспокойства на фоне искаженного восприятия окружающей действительности с преобладанием зрительных и слуховых галлюцинаторных переживаний разной интенсивности. Результаты выполненной работы согласуются с данными исследования Ливанова Г. А. и соавт. (2015), которые доказывают положительное влияние сукцинат-содержащего препарата на продолжительность и выраженность психических нарушений при интоксикационном делирии [21].

Заключение

Результаты работы свидетельствуют о выраженных метаболических нарушениях гипоксического характера при острых отравлениях 1,4-БД, осложненных ПД. В формировании данных нарушений особое место занимают процессы активации свободнорадикального окисления и нарушений функции системы антиоксидантной защиты, в том числе и системы глутатиона, как ведущей ее составляющей.

Литература

1. Смирнов Е.С. Делирий. Эволюция взглядов. *Российский психиатрический журнал*. 2015; 5: 64–72.
2. Лихванцев В.В. Неспецифический делирий в отделении интенсивной терапии и реанимации. *Анестезиология и реаниматология*. 2015; 60 (2): 55–59.
3. Линева Д.В., Ярошецкий А.И., Проценко Д.Н., Гельфанд Б.Р. Эффективность и безопасность дексметомидина, галоперидола и диазепама в лечении делирия: сравнительное исследование. *Анестезиология и реаниматология*. 2017; 62 (6): 442–448. DOI: 10.18821/0201-7563-2017-62-6-442-448
4. Sørensen H.J., Holst C., Knop J., Mortensen E.L., Tolstrup J.S., Becker U. Alcohol and delirium tremens: effects of average number of drinks per day and beverage type. *Acta Psychiatr Scand*. 2019; 139 (6): 518–525. DOI: 10.1111/acps.13006. PMID: 30697683.
5. Campbell N.L. Deprescribing in the Pharmacologic Management of Delirium: A Randomized Trial in the Intensive Care Unit. *J Am Geriatr Soc*. 2019; 67 (4): 695–702. DOI: 10.1111/jgs.15751. PMID: 30664239.
6. Grover S, Ghosh A. Delirium Tremens: Assessment and Management. *J Clin Exp Hepatol*. 2018; 8 (4): 460–470. DOI: 10.1016/j.jceh.2018.04.012. PMID: 30564004
7. Киреев С.С., Бадакба Т.Л., Чуканова О.А. Делирий в послеоперационном периоде (Обзор литературы). *Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание*. 2019; 2: 44–60
8. Рубинчик В.Е., Кашеринин И.Ю., Баутин А.Е., Мазурок В.А. Терапия делириозного синдрома у пациентов кардиохирургического профиля в раннем послеоперационном периоде. *Вестник интенсивной терапии имени А.И.Салтанова*. 2019; 3: 77–83. DOI: 10.21320/1818-474X-2019-3-77-83
9. Сиволоп Ю.П. Злоупотребление алкоголем и фармакотерапия алкоголизма. *Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика*. 2014 (3): 4–9. DOI: 10.14412/2074-2711-2014-3-4-9
10. Пleshakov A.A., Cherkudinov D.A. О наркотических свойствах оксибутирата натрия и его немедицинском использовании. *Прикладная токсикология*. 2012; 1 (7): 36–40.
11. Головки А.И., Леонтьева Л.В., Баринов В.А., Башарин В.А., Бонитенко Е.Ю., Головки С.И., Иванов М.Б. Выявление «наркотиков изнасилования» в биологических средах жертв изнасилования. *Биомедицинский журнал*. 2013; 14: 706–724.
12. Заикина О.Л., Лодягин А.Н., Шилов В.В. Гамма-оксибутират и производные фентанила: химико-токсикологическое подтверждение отравлений. *Судебная медицина*. 2016; 2 (2): 112–113.
13. Stomberg M.W., Knudsen K., Stomberg H., Skärsäter I. Symptoms and signs in interpreting gamma-hydroxybutyrate (GHB) intoxication —

В свою очередь, полученные в настоящем исследовании данные демонстрируют высокую эффективность сукцинат-содержащего препарата «Цитофлавина» в отношении замедления прогрессирования клинического течения ПД, за счет повышения уровня основного антиоксиданта клетки — ВГ, восстановления тиол-дисульфидного статуса клетки, повышения активности антиоксидантных ферментов (каталазы, ГП) и ферментов, принимающих участие в восстановлении глутатиона из окисленной формы (Гл-6ф-ДГ и ГР). Необходимо отметить влияние препарата на клиническое течение ПД с редукцией основных симптомов ПД к 7-м суткам терапии, благодаря восстановлению кислородзависимого дыхания с накоплением НАДФ-Н и макроэргических соединений, необходимых для синтеза ВГ, в тканях внутренних органов.

Полученные количественные данные оценки состояния системы антиперекисной защиты, скорости и интенсивности протекания процессов ПОЛ в эритроцитах больных могут использоваться как дополнительные критерии тяжести ПД при отравлении 1,4-БД.

References

1. Smirnov E.S. Delirium. The evolution of views. *Rossiiskij psikiatricheskij zhurnal*. 2015; 5: 64–72 [In Russ.].
2. Likhvantsev V.V. Nonspecific delirium in the intensive care and resuscitation department. *Anesthesiol. i reanimatol*. 2015; 60 (2): 55–59 [In Russ.].
3. Lineva D.V., Yaroshetsky A.I., Protchenko D.N., Gelfand B.R. The efficacy and safety of dexmedetomidine, haloperidol, and diazepam in the treatment of delirium: a comparative study. *Anesthesiol. i reanimatol*. 2017; 62 (6): 442–448 [In Russ.]. DOI: 10.18821/0201-7563-2017-62-6-442-448
4. Sørensen H.J., Holst C., Knop J., Mortensen E.L., Tolstrup J.S., Becker U. Alcohol and delirium tremens: effects of average number of drinks per day and beverage type. *Acta Psychiatr Scand*. 2019; 139 (6): 518–525. DOI: 10.1111/acps.13006. PMID: 30697683.
5. Campbell N.L. Deprescribing in the Pharmacologic Management of Delirium: A Randomized Trial in the Intensive Care Unit. *J Am Geriatr Soc*. 2019; 67 (4): 695–702. DOI: 10.1111/jgs.15751. PMID: 30664239.
6. Grover S, Ghosh A. Delirium Tremens: Assessment and Management. *J Clin Exp Hepatol*. 2018; 8 (4): 460–470. DOI: 10.1016/j.jceh.2018.04.012. PMID: 30564004
7. Kireev S.S., Badakba T.L., Chukanova O.A. Delirium in the postoperative period (literature review). *Vestnik novykh meditsinskih tekhnologij. E-edition*. 2019; 2: 44–60 [In Russ.].
8. Rubinchik V.E., Kasherininov I.Yu., Bautin A.E., Mazurok V.A. Therapy of delirious syndrome in patients with a cardiac surgical profile in the early postoperative period. *Vestnik intensivnoj terapii imeni A.I.Saltanova*. 2019; 3: 77–83 [In Russ.]. DOI: 10.21320/1818-474X-2019-3-77-83
9. Sivolop Yu.P. Alcohol abuse and pharmacotherapy of alcoholism. *Nevrologiya, nejropsikhiatriya, psikhosomatika*. 2014 (3): 4–9 [In Russ.]. DOI: 10.14412/2074-2711-2014-3-4-9
10. Pleshakov A.A., Cherkudinov D.A. On the narcotic properties of sodium oxybutyrate and its non-medical use. *Prikladnaya toksikologiya*. 2012; 1 (7): 36–40 [In Russ.].
11. Golovko A.I., Leonteva L.V., Barinov V.A., Basharin V.A., Bonitenko E.Yu., Golovko S.I., Ivanov M.B. Identifying «rape drugs» in the biological environments of rape victims. *Biomeditsinskij zhurnal*. 2013; 14: 706–724 [In Russ.].
12. Zaikina O.L., Lodyagin A.N., Shilov V.V. Gamma hydroxybutyrate and fentanyl derivatives: chemical-toxicological confirmation of poisoning. *Sudebnaya meditsina*. 2016; 2 (2): 112–113 [In Russ.].
13. Stomberg M.W., Knudsen K., Stomberg H., Skärsäter I. Symptoms and signs in interpreting gamma-hydroxybutyrate (GHB) intoxication —

- an explorative study. *Scand J Trauma Resusc Emerg Med.* 2014; (23): 22–27. DOI: 10.1186/1757-7241-22-27. PMID: 24758357
14. Busardò F.P., Jones A.W. GHB pharmacology and toxicology: acute intoxication, concentrations in blood and urine in forensic cases and treatment of the withdrawal syndrome. *Curr Neuropsychopharmacol.* 2015; 13 (1): 47–70. DOI: 10.2174/1570159X13666141210215423. PMID: 26074743
 15. Corstens D. Excited delirium syndrome after withdrawal from 10 days long recreationally used GHB. *J Forensic Leg Med.* 2018; (54): 74–75. DOI: 10.1016/j.jflm.2017.12.008. PMID: 29328965
 16. Beck R., Matanović S.M., Zibar L. Gamma-hydroxybutyric acid, gamma-butyrolactone, and 1,4-butanediol addiction: a serious health threat. *Arh Hig Rada Toksikol.* 2019; 70 (2): 149–150. DOI: 10.2478/aiht-2019-70-3295. PMID: 31246568.
 17. Byard R.W., Cox M., Stockham P. Blunt Craniofacial Trauma as a Manifestation of Excited Delirium Caused by New Psychoactive Substances. *J Forensic Sci.* 2016; 61 (6): 1546–1548. DOI: 10.1111/1556-4029.13212. PMID: 27723094
 18. Березкин А.С., Говорин Н.В. Прогностическое значение некоторых показателей перекисного окисления липидов и нейромунных маркеров у больных с алкогольным делирием. *Российский психиатрический журнал.* 2014; 6: 56–60.
 19. Сахаров А.В., Голыгина С.Е., Караваева Т.М., Максименя М.В. Показатели перекисного окисления, антиоксидантной защиты и нейромаркеры при синдроме отмены алкоголя (неосложненном и осложненном делирием). *Наркология.* 2019; 6 (18): 66–72. DOI: 10.25557/1682-8313.2019.06.66-72
 20. Байбурина Г.А., Нургалеева Е.А., Башкатов С.А. Взаимозависимость показателей про- и антиоксидантных систем мозга и крови после ишемического повреждения у крыс с разной устойчивостью к гипоксии. *Медицинский вестник Башкортостана.* 2015; 10 (58): 72–75.
 21. Ливанов Г.А., Лодягин А.Н., Батоцыренов Б.В., Лоладзе А.Т., Баранов Д.В., Неженцева И.В. Оптимизация интенсивной терапии алкогольного делирия. *Общая реаниматология.* 2015; 11 (5): 25–33. DOI: 10.15360/1813-9779-2015-5-25-33
- an explorative study. *Scand J Trauma Resusc Emerg Med.* 2014; (23): 22–27. DOI: 10.1186/1757-7241-22-27. PMID: 24758357
14. Busardò F.P., Jones A.W. GHB pharmacology and toxicology: acute intoxication, concentrations in blood and urine in forensic cases and treatment of the withdrawal syndrome. *Curr Neuropsychopharmacol.* 2015; 13 (1): 47–70. DOI: 10.2174/1570159X13666141210215423. PMID: 26074743
 15. Corstens D. Excited delirium syndrome after withdrawal from 10 days long recreationally used GHB. *J Forensic Leg Med.* 2018; (54): 74–75. DOI: 10.1016/j.jflm.2017.12.008. PMID: 29328965
 16. Beck R., Matanović S.M., Zibar L. Gamma-hydroxybutyric acid, gamma-butyrolactone, and 1,4-butanediol addiction: a serious health threat. *Arh Hig Rada Toksikol.* 2019; 70 (2): 149–150. DOI: 10.2478/aiht-2019-70-3295. PMID: 31246568.
 17. Byard R.W., Cox M., Stockham P. Blunt Craniofacial Trauma as a Manifestation of Excited Delirium Caused by New Psychoactive Substances. *J Forensic Sci.* 2016; 61 (6): 1546–1548. DOI: 10.1111/1556-4029.13212. PMID: 27723094
 18. Berezkin A.S., Govorin N.V. The prognostic value of some indicators of lipid peroxidation and neuroimmune markers in patients with alcoholic delirium. *Rossiiskij psikhiatricheskij zhurnal.* 2014; 6: 56–60 [In Russ.].
 19. Sakharov A.V., Golygina S.E., Karavaeva T.M., Maksimenya M.V. Indicators of peroxidation, antioxidant protection and neuromarkers for alcohol withdrawal syndrome (uncomplicated and complicated by delirium). *Narkologiya.* 2019; 6 (18): 66–72 [In Russ.]. DOI: 10.25557/1682-8313.2019.06.66-72
 20. Байбурина Г.А., Нургалеева Е.А., Башкатов С.А. The interdependence of indicators of pro- and antioxidant systems of the brain and blood after ischemic damage in rats with different resistance to hypoxia. *Meditsinskij vestnik Bashkortostana.* 2015; 10 (58): 72–75 [In Russ.].
 21. Livanov G.A., Lodyagin A.N., Batotsyrenov B.V., Loladze A.T., Baranov D.V., Nezhentseva I.V. Optimization of Intensive Care of Patients with Delirium Tremens. *General Reanimatology=Obshchaya Reanimatologiya* 2015; 11 (5): 25–33 [In Russ.]. DOI: 10.15360/1813-9779-2015-5-25-33

Поступила 10.02.2020

Received 10.02.2020

Протективный эффект лития хлорида на эндотелиоциты при септическом шоке

О. А. Гребенчиков, В. Т. Долгих, М. Д. Прокофьев, И. С. Касаткина, А. В. Ершов

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

Protective Effect of Lithium Chloride on Endothelial Cells in Septic Shock

Oleg A. Grebenchikov, Vladimir T. Dolgikh, Maxim D. Prokofiev,
Irina S. Kasatkina, Anton V. Ershov

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

Для цитирования: О. А. Гребенчиков, В. Т. Долгих, М. Д. Прокофьев, И. С. Касаткина, А. В. Ершов. Протективный эффект лития хлорида на эндотелиоциты при септическом шоке. *Общая реаниматология*. 2020; 16 (3): 94–105. DOI: 10.15360/1813-9779-2020-3-94-105 [На русск. и англ.]

For citation: Oleg A. Grebenchikov, Vladimir T. Dolgikh, Maxim D. Prokofiev, Irina S. Kasatkina, Anton V. Ershov. Protective Effect of Lithium Chloride on Endothelial Cells in Septic Shock. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2020; 16 (3): 94–105. DOI: 10.15360/1813-9779-2020-3-94-105 [In Russ. and Engl.]

Резюме

Цель — изучить эффективность действия хлорида лития в качестве средства, предотвращающего повреждение монослоя эндотелиальных клеток *in vitro* под действием сыворотки пациентов с септическим шоком.

Материал и методы. При проведении исследования использовали токсичную сыворотку больных септическим шоком в количестве 5 человек, отобранных в соответствии с критериями «Сепсис-3». Кровь для проведения экспериментов забирали в течение 2 часов после выявления септического шока. В качестве контрольной группы исследовали сыворотку крови 5 практически здоровых доноров. Эндотелиальные клетки Ea.hy926 инкубировали в течение 3 часов при 37°C с сывороткой здорового человека (контроль), а также с сывороткой пациента с септическим шоком без хлорида лития и в его присутствии в конечных концентрациях 0,01 ммоль/л, 0,1 ммоль/л, 1 ммоль/л, 10 ммоль/л. Хлорид лития добавляли за 1 час до смены сывороток. После инкубации с помощью иммунофлуоресцентной микроскопии оценивали состояние актина, VE-кадгерина и клаудина, с помощью вестерн-блоттинга определяли содержание и степень фосфорилирования гликогенсинтазы киназы β (GSK-3 β).

Результаты. Установили, что токсичная сыворотка подавляла фосфорилирование GSK-3 β в эндотелиоцитах, а также вызывала расщепление VE-кадгерина, уменьшение количества клаудина. Токсическая сыворотка также изменяла форму эндотелиоцитов — они теряли нативную многоугольную форму, вытягивались, между ними образовывались промежутки. Инкубация монослоя эндотелиоцитов с хлоридом лития в концентрации от 1,0 ммоль/л и выше практически полностью предотвращала разборку клаудина, актина и VE-кадгерина. При моделировании защиты хлоридом лития эндотелиоцитов от токсичной сыворотки обнаружили, что прединкубация с хлоридом лития длительностью 1 час, в концентрации 1 ммоль/л предотвращала инактивацию (дефосфорилирование) GSK-3 β и даже, наоборот, стимулировало ее фосфорилирование на временном интервале 1–4 часа после воздействия сыворотки.

Заключение. В результате проведенного исследования четко показали наличие протективного эффекта хлорида лития относительно монослоя эндотелиоцитов путем активации фосфорилирования GSK-3 β (перевод фермента в неактивную форму). При этом воздействие хлорида лития имело выраженный дозозависимый характер начиная с концентрации 0,01 ммоль/л.

Ключевые слова: хлорид лития; септический шок; эндотелиоцит; гликогенсинтаза киназа β ; GSK-3 β

Summary

The aim is to study the effectiveness of lithium chloride for preventing damage to the monolayer of endothelial cells *in vitro* exposed to serum of patients with septic shock.

Адрес для корреспонденции:

Олег Александрович Гребенчиков
E-mail: oleg.grebenchikov@yandex.ru

Correspondence to:

Oleg A. Grebenchikov
E-mail: oleg.grebenchikov@yandex.ru

Material and methods. Serum samples prepared from blood of 5 septic shock patients selected according to «Sepsis-3» criteria and 5 healthy volunteers (control serum) were used in the study. Blood for experiments was withdrawn within 2 hours after the diagnosis of septic shock. The Ea.hy926 endothelial cells were incubated with the serum of a patient with septic shock (toxic serum) or control serum for 3 hours at 37°C without or with lithium chloride at final concentrations of 0.01 mmol/l, 0.1 mmol/l, 1 mmol/l, 10 mmol/l. Lithium chloride was added 1 hour before the serum change. After incubation, the expressions of actin, VE-cadherin and claudin were assessed by immunofluorescent microscopy; the level and degree of phosphorylation of glycogen synthase kinase β (GSK-3 β) were determined using western blotting.

Results. Toxic serum significantly inhibited GSK-3 β phosphorylation, induced cleavage of VE-cadherin and reduced the claudin in endothelial cells. Toxic serum also altered the shape of endothelial cells: they lost their native polygonal shape and became elongated with gaps between them. Incubation of endothelial cells monolayer with lithium chloride at concentrations equal or higher 1.0 mmol/l almost completely prevented cleavage of claudin, actin and VE-cadherin. When studying the *in vitro* protection of endothelial cells from effects of toxic serum with lithium chloride, pre-incubation with the drug at a concentration of 1 mmol/l for 1 hour prevented inactivation (dephosphorylation) of GSK-3 β and even to stimulate its phosphorylation in 1–4 hours after exposure to the serum.

Conclusion. The study clearly showed the protective effect of lithium chloride on endothelial cell monolayer by activating phosphorylation of GSK-3 β (enzyme conversion into inactive form). Moreover, the effect of lithium chloride exhibited a distinct dose-dependent character starting with a concentration of 0.01 mmol/l.

Keywords: lithium chloride; septic shock; endothelial cell; glycogen synthase kinase β ; GSK-3 β

DOI: 10.15360/1813-9779-2020-3-94-105

Введение

Препараты лития уже многие годы успешно применяются в психиатрии для лечения биполярных расстройств [1]. Однако к настоящему моменту в литературе накоплено большое количество экспериментальных данных, свидетельствующих о кардио-, нефро- и нейропротекторных свойствах лития [2]. Впервые защитные свойства ионов лития были обнаружены *in vitro* на кардиомиоцитах в 2004 году, когда их инкубация с хлоридом лития приводила к выраженному снижению гибели клеток от ишемии/реоксигенации, предотвращая открытие митохондриальной поры через фосфорилирование (ингибирование) фермента гликогенсинтазы киназы β (GSK-3 β) [3]. В дальнейшем они были подтверждены на модели ишемии перфузируемого по Лангендорфу сердца [4] и *in vivo* на модели инфаркта миокарда у крыс [5].

В этой связи представляет большой интерес недавнее исследование [6] на модели остановки сердца по В. Г. Корпачеву. При гистологическом исследовании установлено, что 10-минутная остановка сердца приводила к снижению числа жизнеспособных нейронов в поле CA1 гиппокампа на 37,5% ($p < 0,001$), в поле CA3/CA4 — на 12,9% ($p < 0,05$). Применение LiCl способствовало увеличению числа жизнеспособных нейронов гиппокампа у реанимированных крыс — в поле CA1 на 37% ($p < 0,01$), в поле CA3/CA4 — на 11,5% ($p \leq 0,1$) по сравнению с нелечеными животными. Этот эффект мог быть обусловлен повышением содержания фосфорилированной формы белка GSK-3 β .

Синдром системного воспалительного ответа возникает в ответ на различные повреждающие воздействия, как инфекционного (бак-

Introduction

Lithium preparations have been successfully used for many years in psychiatry to treat bipolar disorders [1]. However, to date, a lot of experimental data have been accumulated in the literature, indicating cardio-, nephro- and neuroprotective properties of lithium [2]. The protective properties of lithium ions were first discovered *in vitro* on cardiomyocytes in 2004 when their incubation with lithium chloride led to a marked decrease in cell death from ischemia/reoxygenation, preventing the opening of mitochondrial pore via phosphorylation (inhibition) of glycogen synthase kinase β (GSK-3 β) [3]. Later the lithium effects were confirmed using the Langendorff perfusion heart [4] and *in vivo* myocardial infarction model in rats [5].

In this connection, a recent study [6] that employed modeling the cardiac arrest according to method by V. G. Korpachev is of great interest. Histological study revealed that 10-minute cardiac arrest resulted in a 37.5% ($P < 0.001$) decrease in the number of viable neurons in the CA1 field of the hippocampus and 12.9% ($P < 0.05$) decrease in the CA3/CA4 field. The use of LiCl was associated with an increase in the number of viable hippocampal neurons in resuscitated rats by 37% in the CA1 field ($P < 0.01$) and by 11.5% in the CA3/CA4 field ($P \leq 0.1$) compared to untreated animals. This effect may have been due to the increased content of phosphorylated protein GSK-3 β .

The systemic inflammatory response syndrome (SIRS) occurs as a result of various damaging effects of both infectious (bacterial pathogens) and non-infectious (traumas, burns, and large volume surgical interventions) origin. [7] SIRS is manifested by increased production of proinflammatory cytokines and their penetration through

териальные возбудители), так и неинфекционного (травмы, ожоги, оперативные вмешательства большого объема) генеза [7] и проявляется гиперпродукцией провоспалительных цитокинов, их проникновением через гистогематические барьеры с последующей инфильтрацией лейкоцитами и цитокинами тканей органов-мишеней [8, 9]. Последнее приводит к развитию полиорганной недостаточности, являющейся основной причиной гибели пациентов в палатах интенсивной терапии. Важнейшую роль в развитии, регуляции и разрешении воспаления играют нейтрофилы — клетки, участвующие в формировании неспецифической резистентности организма. Иммунный ответ на повреждение тканей или инфекцию начинается с секреции нейтрофилами провоспалительных и противовоспалительных цитокинов, что направлено на удаление повреждающего агента и восстановление гомеостаза.

Высокочувствительными и диагностически значимыми маркерами системного воспалительного ответа являются молекулы CD11b и CD66b, которые находятся во внутриклеточных гранулах нейтрофилов. CD11b взаимодействует с рецепторами ICAM-1 на эндотелиальных клетках, что обеспечивает адгезию нейтрофилов и последующую их миграцию через эндотелиальный барьер к очагу воспаления [10].

Эндотелий представлен одним слоем специализированных клеток, выстилающих внутреннюю поверхность кровеносных и лимфатических сосудов. Помимо барьерной, эндотелий выполняет ряд других физиологических функций: поддержание онкотического давления, участие в свертывании крови, ангиогенезе и прочее. При развитии некоторых патологических процессов эндотелиальная дисфункция становится их важной составляющей и во многом определяет тяжесть течения атеросклероза, сепсиса, ишемических и реперфузионных повреждений, тяжелой сочетанной травмы, а также синдрома системной воспалительной реакции, в том числе, и в раннем послеоперационном периоде [11]. Этот синдром — ключевой феномен критических состояний, сопровождающийся увеличением проникновения провоспалительных цитокинов через гистогематические барьеры и приводящий к нарушению целостности последних, с последующей инфильтрацией тканей лейкоцитами и цитокинами [12]. Транскапиллярная утечка жидкости, возникающая вследствие нарушения барьерной функции эндотелия или гибели клеток, приводит к возникновению интерстициального отека, что, на уровне организма, манифестирует полиорганной недостаточностью — состоянием, представляющем серьезную угрозу жизни больного [13, 14].

blood-tissue barriers with subsequent infiltration of target organ tissues with leukocytes and cytokines [8, 9]. The latter leads to the development of multi-organ failure, which is the main cause of death of patients in intensive care wards. The most important role in development, control and resolution of inflammation is played by neutrophils, which participate in formation of nonspecific resistance of the body. Immune response to tissue damage or infection begins with neutrophils secreting pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines aimed at eliminating the damaging agent and restoring homeostasis.

The CD11b and CD66b molecules, which are found in neutrophil intracellular granules, are highly sensitive and diagnostically significant markers of the systemic inflammatory response. CD11b interacts with ICAM-1 receptors on endothelial cells, allowing for neutrophil adhesion and their subsequent migration through the endothelial barrier to the inflammation site [10].

Endothelium is a monolayer of specialized cells lining the inner surface of blood and lymphatic vessels. The main physiological functions of endothelium include barrier, maintenance of oncotic pressure, participation in blood coagulation, angiogenesis, etc. Endothelial dysfunction is an important component of various pathological processes and largely affects the severity of atherosclerosis, sepsis, ischemic and reperfusion injuries, severe combined trauma, as well as SIRS occurring in the early postoperative period [11]. This syndrome is a key event of critical conditions accompanied by increased penetration of pro-inflammatory cytokines through blood-tissue causing their impaired integrity with subsequent tissue infiltration by leukocytes and cytokines [12]. Transcapillary fluid leakage resulting from endothelial barrier function disturbance or cell death leads to interstitial edema contributing to the life-threatening multi-organ failure [13, 14].

Prevention, treatment and minimization of the consequences of systemic inflammatory response syndrome is one of the main challenges in anesthesiology and intensive care. The presence of anti-inflammatory activity (i. e., the ability to inhibit the systemic inflammatory response syndrome) and, consequently, the ability to prevent endothelial dysfunction, is a beneficial «side effect» of some well-known drugs [15].

According to available experimental data lithium chloride possesses strong organoprotective properties, but their mechanisms, particularly for endothelial protection, remains unexplored.

The aim of the study was to evaluate the efficacy of lithium chloride for preventing damage to the monolayer of endothelial cells *in vitro* exposed to the serum of patients with septic shock.

Предупреждение, лечение и минимизация последствий синдрома системной воспалительной реакции является одной из основных задач анестезиологии и реаниматологии. Наличие противовоспалительной активности (т. е. способности тормозить развитие синдрома системной воспалительной реакции) и, как следствие, способность предотвращать развитие эндотелиальной дисфункции, является положительным побочным эффектом ряда известных препаратов [15].

По имеющимся на сегодняшний день экспериментальным данным хлорид лития обладает выраженными органопротекторными свойствами, но механизм реализации его защитных свойств и в особенности на функцию эндотелия остаются неизученными.

Цель исследования — изучить эффективность действия хлорида лития в качестве средства, предотвращающего повреждение монослоя эндотелиальных клеток *in vitro* под действием сыворотки пациентов с септическим шоком.

Материал и методы

Больных с развившимся септическим шоком в количестве 5 человек отобрали в соответствии с критериями «Сепсис-3» (средний возраст 32,4 [25,6; 42,4]) [21]. Кровь для проведения экспериментов забирали в течение 2 часов после выявления септического шока. В качестве контрольной группы исследовали сыворотку крови практически здоровых доноров (5 человек), медиана возраста 35,6 [28,7; 45,0] лет. В каждой из групп было 3 мужчины и 2 женщины. Таким образом, в каждой серии опытов (в постановках с добавлением разной концентрации препарата, токсичной сыворотки) количество экспериментов составляло 5.

Эндотелиальные клетки Ea.hy926 растили в среде DMEM (Gibco, USA) с 10% телячьей эмбриональной сывороткой — FBS (HyClone, USA) до монослоя. Затем клетки инкубировали в течение 3 часов при 37°C с 5%-ной телячьей эмбриональной сывороткой (контроль), с сывороткой крови здорового человека, а также с сывороткой пациента с септическим шоком без хлорида лития и в его присутствии в конечных концентрациях 0,01 ммоль/л, 0,1 ммоль/л, 1 ммоль/л, 10 ммоль/л. Хлорид лития добавляли за 1 час до смены сывороток. После инкубации клетки промывали теплым раствором DMEM без сыворотки, а затем фиксировали 2%-ным раствором параформа и пермеабелизовывали 1%-ным раствором Triton X-100. Фиксированные клетки окрашивали первичными антителами к VE-кадгерину (BD Biosciences, США), а затем инкубировали с вторичными антителами, конъюгированными с флуоресцентным красителем Oregon Green 488 (Life Technologies, USA), а также с фаллоидином красным (Invitrogen, США) и красителем Hoechst 33342 (Life Technologies, США). Обработку изображений, полученных на флуоресцентном микроскопе, а также их количественный анализ проводили с помощью программ ImageJ 1.44p и MetaVue 4.6.

Materials and Methods

Five patients with progressive septic shock were selected according to «Sepsis-3» criteria (median age 32.4 [25.6; 42.4]) [21]. Blood for experiments was withdrawn within 2 hours after the diagnosis of septic shock. The sera samples from 5 healthy volunteers were used in the control group (median age 35.6 years [28.7; 45.0]). There were 3 men and 2 women in each group. Thus, each series of tests (with addition of various concentrations of the drug and toxic serum) had 5 experiments.

Endothelial cells Ea.hy926 were grown until monolayer formation in the DMEM medium (Gibco, USA) with 10% calf embryonic serum (CES, HyClone, USA). The cells were then incubated for 3 hours at 37°C with 5% CES (control), with healthy human serum, and with the serum of patient with septic shock without and with lithium chloride at final concentrations of 0.01 mmol/l, 0.1 mmol/l, 1 mmol/l, 10 mmol/l. Lithium chloride was added 1 hour before serum change. After incubation the cells were washed with warm DMEM solution without serum, and then fixed with 2% solution of paraformaldehyde and permeabilized with 1% solution of Triton X-100. The fixed cells were stained with primary antibodies to VE-cadherin (BD Biosciences, USA) and then incubated with secondary antibodies conjugated with fluorescent dye Oregon Green 488 (Life Technologies, USA), as well as with phalloidin red (Invitrogen, USA) and Hoechst 33342 dye (Life Technologies, USA). Processing of images obtained with a fluorescence microscope as well as their quantitative analysis was done using ImageJ 1.44p and MetaVue 4.6 software.

For western blotting, Ea.hy926 endothelial cells were grown and incubated in the same way as described above. After incubation, the cells were lysed in hot buffer (62.5 mM Tris-HCl, pH 6.8; 2% SDS; 10% glycerol; 50 mM DTT, 0.01% bromophenol blue), incubated at +94°C for 4 minutes. The proteins were separated in 12% polyacrylamide gel and transferred to PVDF membranes. Antibodies to VE-cadherin and claudin (BD Biosciences, USA) as well as secondary antibodies conjugated with horseradish peroxidase (BD Biosciences, USA) were used. Visualization was performed with SuperSignal West Pico (Thermo Scientific, USA) kit. Image Lab software (Bio-Rad, USA) was used for densitometric analysis.

For statistical analysis, the data were presented as mean values with standard deviations, or as medians and quartiles. The statistical significance of differences between quantitative variables was calculated using Mann-Whitney test whereas qualitative differences were evaluated using the χ^2 criterion. Prior to the statistical analysis, the distribution of variables was checked for normality using the Kolmogorov-Smirnov and Shapiro-Wilks tests. The material was graphically presented as medians (lower quartile; upper quartile).

Results and Discussion

Incubation of endothelial cell monolayer with 5% toxic serum resulted in loss of adhesion contact protein, the VE-cadherin (fig. 1). Incubation of cells with patients' serum samples caused a decrease in the level of claudin, one of the main proteins of dense (closing) endothelial contacts. Toxic serum significantly altered the shape of cells: they lost the

Для проведения вестерн-блоттинга эндотелиальные клетки Ea.hy926 растили и инкубировали так же, как описано выше. После инкубации клетки лизировали в горячем буфере (62,5 mM Трис-HCl, pH 6,8; 2% SDS; 10% глицерин; 50 mM ДТТ, 0,01% бромфенолового синего) инкубировали при +94°C, 4 минуты. Белки разделяли в 12% полиакриламидном геле и переносили на PVDF-мембраны. Использовали антитела к VE-кадгерину и клаудину (BD Biosciences, США), а также вторичные антитела, конъюгированные с пероксидазой хрена (BD Biosciences, США). Визуализацию проводили набором SuperSignal West Pico (Thermo Scientific, США). Для денситометрического анализа использовали программу Image Lab (BioRad, США).

В процессе статистического анализа полученные данные представляли в виде среднего со стандартными отклонениями, медианы и квартилей. Статистическую значимость различий количественных показателей рассчитывали с помощью теста Манна-Уитни, а качественных — с помощью критерия χ^2 . Предварительно, перед проведением статистического анализа определяли нормальность распределения признаков вариационном ряду с помощью критерия Колмогорова-Смирнова и теста Шапиро-Уилка. Графически материал представили как медиану (нижний квартиль; верхний квартиль).

Результаты и обсуждение

Инкубация монослоя эндотелиальных клеток с 5%-ой токсической сывороткой приводила к потере белка адгезионных контактов VE-кадгерина (рис. 1). Также инкубация с сыворотками крови пациентов вызывала уменьшение количества клаудина, одного из главных белков плотных (замыкающих) контактов эндотелия. Токсическая сыворотка также изменяла форму клеток: они теряли нативную многоугольную форму, вытягивались, между ними образовывались проме-

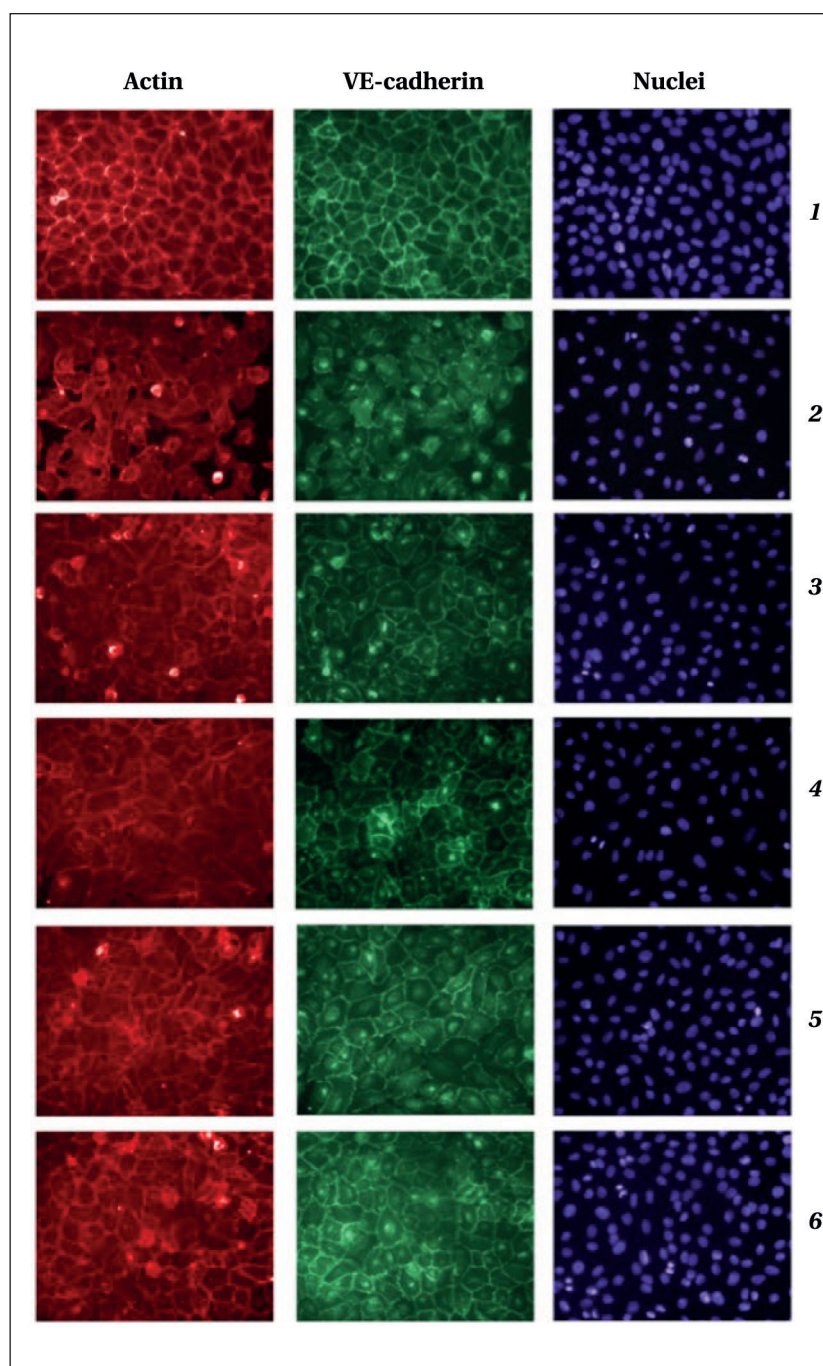


Рис. 1. Иммунофлуоресцентная микроскопия эндотелиальных клеток Ea.hy926, инкубированных с различными концентрациями хлорида лития (моль/л) и обработанных 5%-ной токсичной сывороткой.

Fig. 1. Immunofluorescent microscopy of Ea.hy926 endothelial cells incubated with various concentrations of lithium chloride (mmol/l) and treated with 5% toxic serum. Note. Actin — cell staining for actin microfilaments; VE-cadherin — staining for the intercellular contact protein VE-cadherin; Nuclei — staining of the cell nuclei. 1 — control; 2 — toxic serum; 3 — toxic serum and lithium chloride 0.01 mmol/l; 4 — toxic serum and lithium chloride 0.1 mmol/l; 5 — toxic serum and lithium chloride 1.0 mmol/l; 6 — toxic serum and lithium chloride 10.0 mmol/l.

Примечание. Actin — окраска клеток на актиновые микрофиламенты; VE-cadherin — окраска на белок межклеточных контактов VE-кадгерин; Nuclei — окраска ядер клеток. 1 — контроль; 2 — добавление токсичной сыворотки; 3 — добавление токсичной сыворотки и хлорида лития 0,01 ммоль/л; 4 — добавление токсичной сыворотки и хлорида лития 0,1 ммоль/л; 5 — добавление токсичной сыворотки и хлорида лития 1,0 ммоль/л; 6 — добавление токсичной сыворотки и хлорида лития 10,0 ммоль/л.

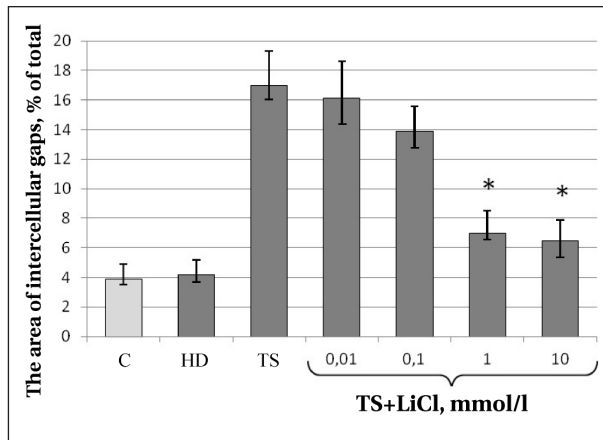


Рис. 2. Влияние различных концентраций хлорида лития на образование межклеточных промежутков монослоя эндотелиальных клеток под действием 5%-ой токсичной сыворотки.

Fig. 2. Effect of various concentrations of lithium chloride on the formation of intercellular gaps in the endothelial monolayer cells after exposure to 5% toxic serum.

Note. For Fig. 2–7: C — the control serum; HD — healthy donors' serum; TS — toxic serum; TS+LiCl — a combination of lithium chloride and toxic serum. The results are presented as mean values and standard deviation; * — $P < 0.05$ vs C.

Примечание. The area of intercellular gaps, % of total — площадь межклеточных промежутков, % от общей площади. Для рис. 2–7: C — контрольная сыворотка FBS; HD — сыворотка доноров; TS — токсичная сыворотка; TS+LiCl, mmol/l — сочетание хлорида лития в указанных концентрациях с токсичной сывороткой. Результаты представлены в виде среднего значения со стандартным отклонением; * — $p < 0,05$ по отношению к C.

жутки, поскольку разбирались еще и пучки периферических актиновых микрофиламентов. Такие изменения, прежде всего, характерны для эндотелиальной дисфункции, сопровождающейся нарушением межклеточных контактов. Подобные эффекты не наблюдали при инкубации с 5%-ной телячьей эмбриональной сывороткой (контроль) или 5%-ной сывороткой здоровых людей.

По данным иммунофлуоресцентной микроскопии, инкубация с хлоридом лития в концентрации 0,01 ммоль/л не предотвращала разборку клаудина (одного из главных белков плотных (замыкающих) контактов эндотелия), актина (основного белка цитоскелета) и VE-кадгерина (белка адгезионных контактов). Прединкубация с хлоридом лития в концентрации 0,1 ммоль/л статистически незначимо предотвращала разборку клаудина ($p > 0,05$), но в более высоких концентрациях (1 ммоль/л, 10 ммоль/л) практически полностью защищала эндотелиальный монослой от разрушения межклеточных контактов под действием токсической сыворотки. Численный анализ данных микроскопии представили на рис. 2.

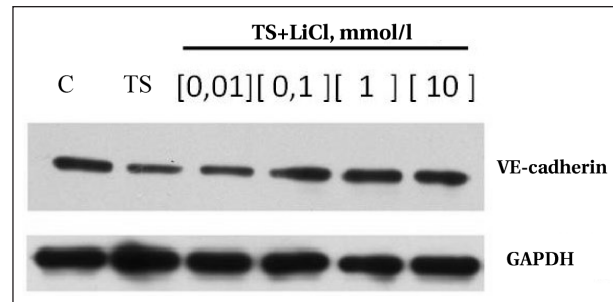


Рис. 3. Влияние различных концентраций хлорида лития на расщепление белка адгезивных контактов VE-кадгерина.

Fig. 3. Effect of various concentrations of lithium chloride on the cleavage of VE-cadherin adhesive contact protein.

Примечание. GAPDH — контрольный белок глицеральдегидфосфатдегидрогеназа (ГАФД).

native polygonal shape, became elongated with gaps between them, as bundles of peripheral actin microfilaments were also dismantled. Such changes were considered as prime parameters of endothelial dysfunction accompanied by impaired intercellular contacts. These effects were not observed when cells were incubated with 5% CES (control) or 5% human serum from control volunteers.

According to immunofluorescence microscopy data, incubation with lithium chloride at a concentration of 0.01 mmol/l did not prevent cleavage of claudin (one of the main proteins of dense (closing) endothelial contacts), actin (the main protein of cytoskeleton) and VE-cadherin (the protein of adhesion contacts). Pre-incubation of cells with lithium chloride at concentration of 0.1 mmol/l insignificantly prevented cleavage of claudin ($P > 0.05$), but in higher concentrations (1 mmol/l, 10 mmol/l) almost completely prevented endothelial monolayer from destruction of intercellular contacts after exposure to toxic serum. Quantitative analysis of microscopy data is shown in fig. 2.

Note. C — control serum; TS — toxic serum; C+LiCl — combination of lithium chloride and toxic serum; GAPDH — the glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase control protein.

Western blotting was used to quantify protein changes in VE-cadherin intercellular contacts. Incubation with 5% toxic serum reduced the level of VE-cadherin in cellular lysates by about 50% (fig. 3). Incubation with lithium chloride protected against the protein cleavage after exposure to toxic serum in a dose-dependent mode. The graphic presentation of the results is given in fig. 4, a.

Western blotting was also used to quantify changes in the level of claudin, the dense contact protein. Incubation with lithium chloride also protected against the degradation of this protein after exposure to toxic serum in a dose-dependent mode. Graphical presentation of experiment is shown in fig. 4, b.

Для количественной оценки изменения белка межклеточных контактов VE-кадгерина использовали Вестерн-блоттинг. Инкубация с 5%-ной токсичной сывороткой примерно в половину уменьшала количество VE-кадгерина в клеточных лизатах (рис. 3). Инкубация с хлоридом лития защищала от расщепления этого белка под действием токсичной сыворотки в дозозависимом режиме. Количественный обсчет данных эксперимента привели на рис. 4, а.

Для количественной оценки изменения количества белка плотных контактов клаудина также использовали Вестерн-блоттинг. Инкубация с хлоридом лития также защищала от расщепления этого белка под действием токсичной сыворотки в дозозависимом режиме. Количественный обсчет данных эксперимента привели на рис. 4, б.

Хлорид лития в концентрации 0,01 ммоль/л не обладал протективным действием на эндотелий. Преинкубация с хлоридом лития в концентрации 0,1 ммоль/л не оказывала значительного эффекта, а в концентрациях 1 ммоль/л и 10 ммоль/л он оказывал выраженное протективное действие на эндотелий.

Поскольку киназа GSK-3 β является основной сигнальной молекулой, участвующей в повреждении многих типов клеток, включая эндотелиальные, исследовали действие токсичной сыворотки на уровень фосфорилирования данной киназы. Оказалось, что токсичная сыворотка практически не влияет на содержание фосфо-GSK-3 β через 5, 15, 30 минут и 1 час после действия сыворотки, но вызывает значительное, примерно на 60%, уменьшение содержания фосфо-GSK-3 β через 2 и 4 часа, что свидетельствовало об активации GSK-3 β при действии факторов крови из данной сыворотки на эндотелиальные клетки (рис. 5, а, б).

Параллельно с вышеописанным опытом изучили действие хлорида лития (1 ммоль/л) на динамику фосфорилирования GSK-3 β в эндотелиальных клетках. Обнаружили, что хлорид лития (1 ммоль/л) вызывал значительное повышение содержания фосфо-GSK-3 β уже через 15 мин после воздействия, и этот эффект сохранялся вплоть до 4 ч (рис. 5, а, б).

При моделировании защиты хлоридом лития клеток эндотелия от токсичной сыворотки обнаружили, что преинкубация с хлоридом лития длительностью 1 час, в концентрации 1 ммоль/л предотвращала инактивацию (дефосфорилирование) GSK-3 β и даже, наоборот, стимулировала ее фосфорилирование во временном интервале 1–4 часа после воздействия сыворотки (рис. 6).

Затем изучили действие различных концентраций лития хлорида (0,01 ммоль/л, 0,1 ммоль/л, 1 ммоль/л, 10 ммоль/л) на фосфори-

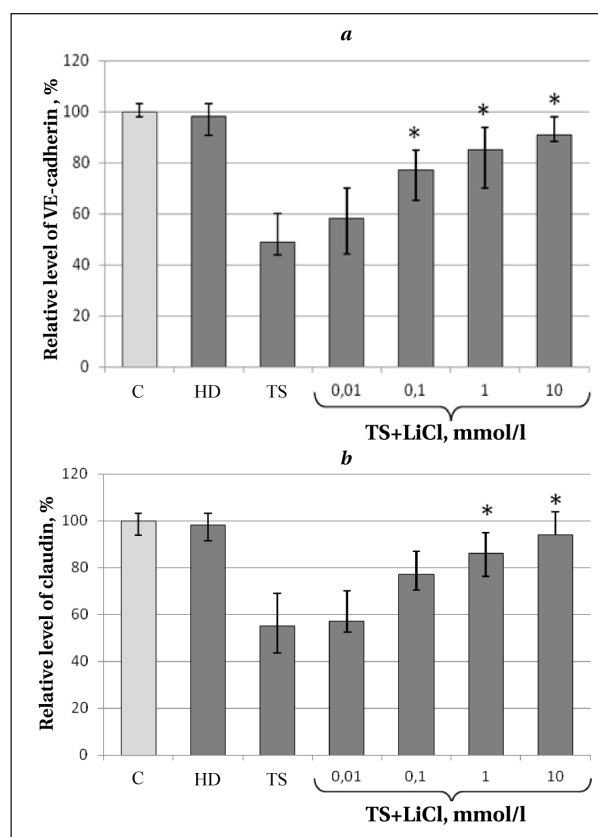


Рис. 4. Влияние различной концентрации хлорида лития на относительное содержание VE-кадгерина (а) и клаудина (б) в монослое эндотелиальных клеток, обработанных 5%-ной токсичной сывороткой.

Fig. 4. Effect of various concentrations of lithium chloride on the relative level of VE-cadherin (a) and claudin (b) in a monolayer of endothelial cells treated with 5% toxic serum.

Note. The results are presented as mean values with standard deviation. * — $P < 0.05$ vs C

Примечание. Для рис. 4–7: относительное содержание. Результаты представлены в виде среднего значения со стандартным отклонением. * — $p < 0,05$ по отношению к С.

Lithium chloride at the concentration of 0.01 mmol/l had no protective effect on endothelium. Pre-incubation with lithium chloride at concentrations of 0.1 mmol/l had no significant effect, and in concentrations of 1 mmol/l and 10 mmol/l it provided a strong protective effect on endothelium.

Since GSK-3 β kinase is the main signal molecule involved in the damage of many cell types, including endothelial cells, we investigated the effect of toxic serum on the phosphorylation level of this kinase. Toxic serum was found to have practically no effect on the level of phospho-GSK-3 β 5, 15, 30 minutes and 1 hour after serum exposure, but it caused a significant decrease (by approx. 60%) in the level of phospho-GSK-3 β after 2 and 4 hours demonstrating the activation of GSK-3 β due to the influence of blood factors from this serum on endothelial cells (fig. 5, а, б).

In parallel with the above experience, the effect of lithium chloride (1 mmol/l) on the changes

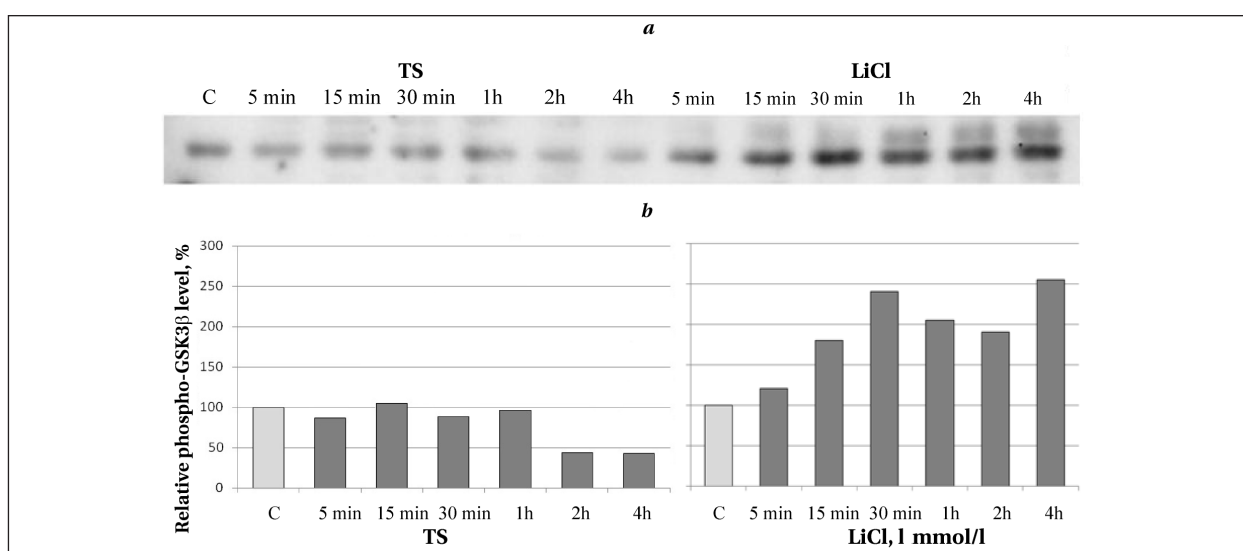


Рис. 5. Действие токсичной сыворотки и хлорида лития на фосфорилирование киназы GSK-3 β (Ser9) в клетках эндотелия (a). Количественный обсчет данных иммуноблота (b, c).

Fig. 5. Effects of toxic serum and lithium chloride on phosphorylation of GSK-3 β (Ser9) kinase in endothelial cells (a). Immunoblot data quantification (b, c).

Note. Data of immunoblot analysis for various time points after exposure of cells to toxic serum or lithium chloride are given. Fig. b, c: Y-direction shows % in relation to the total protein in cells.

Примечание. Приведены данные иммуноблот-анализа различных временных точек после действия на клетки токсичной сыворотки или хлорида лития. Для рис. 5 b, c, 6 b, 7 b по оси ординат указан % относительно общего белка в клетках.

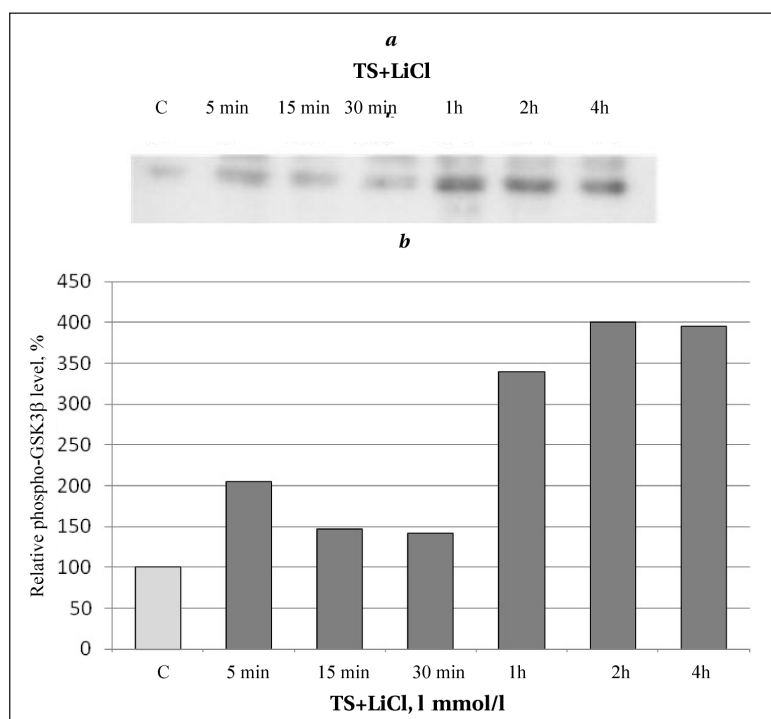


Рис. 6. Совместное действие токсичной сыворотки и хлорида лития на фосфорилирование киназы GSK-3 β в клетках эндотелия (a). Количественный обсчет данных иммуноблота (b).

Fig. 6. Joint action of toxic serum and lithium chloride (1 mmol/l) on phosphorylation of GSK-3 β kinase in endothelial cells (a). Immunoblot data quantification (b).

Note. Immunoblot analysis data for various time points after exposure of cells to lithium chloride (1 hour pre-incubation) and toxic serum (incubation time is shown above the immunoblot tracks).

Примечание. Приведены данные иммуноблот-анализа различных временных точек после действия на клетки хлорида лития (1 час прединкубации) и токсичной сыворотки (время инкубации указано над дорожками иммуноблота).

in GSK-3 β phosphorylation in endothelial cells was studied. Lithium chloride (1 mmol/l) was found to have caused a significant increase in the level of GSK-3 β phosphorylation 15 min after exposure, and this effect persisted until up to 4 h (fig. 5, a, b).

When the lithium chloride-induced protection of endothelial cells from toxic serum was studied, pre-incubation with lithium chloride at a concentration of 1 mmol/l for 1 hour not only prevented the inactivation (dephosphorylation) of GSK-3 β but stimulated its phosphorylation during 1–4 hours after serum exposure (fig. 6).

We then studied the effects of lithium chloride in various concentrations (0.01 mmol/l, 0.1 mmol/l, 1 mmol/l, 10 mmol/l) on GSK-3 β phosphorylation. Endothelial cells were pre-incubated for 30 minutes with lithium chloride in specified concentrations and then exposed to toxic serum. Two hours after the incubation, the immunoblot analysis was processed. The results of the experiment are presented in fig. 7, a, and graphic representation of data is shown in fig. 7, b. Lithium chloride was found to prevent GSK-3 β dephosphorylation in all studied con-

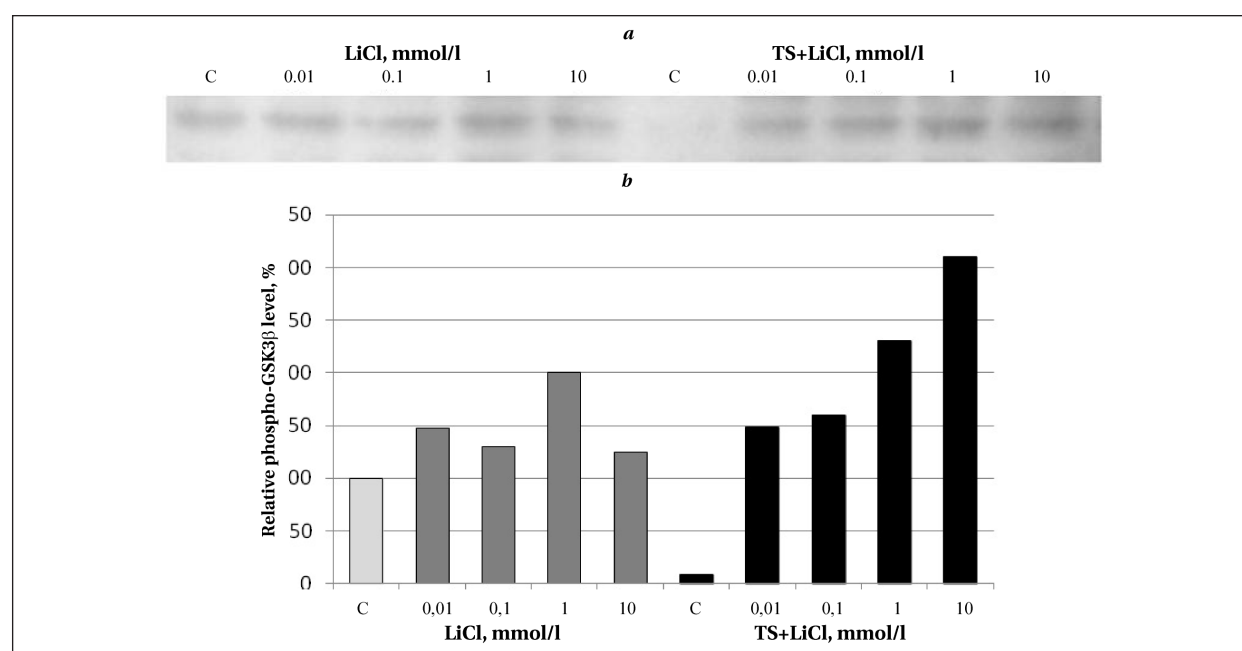


Рис. 7. Совместное действие токсичной сыворотки и хлорида лития (предобработка 30 мин) на фосфорилирование киназы GSK-3 β в клетках эндотелия (a). Количественный обсчет данных иммуноблота (b).

Fig. 7. Joint action of toxic serum and pretreatment with lithium chloride (pre-treatment for 30 min) on phosphorylation of GSK-3 β kinase in endothelial cells (a). Quantitative immunoblot data analysis (b).

Note. The data of immunoblot analysis after 2 hours of incubation with toxic serum are presented.

Примечание. Приведены данные иммуноблот-анализа после 2-часовой инкубации с токсичной сывороткой.

лирование GSK-3 β . Клетки эндотелия прединкубировали 30 минут с указанными концентрациями хлорида лития, а затем на них воздействовали токсичной сывороткой. Через два часа инкубации проводили иммуноблот-анализ. Результаты опыта представили на рис. 7, a, а количественный обсчет — на рис. 7, b. Обнаружили, что лития хлорид предотвращал дефосфорилирование GSK-3 β во всех исследованных концентрациях, при этом при увеличении концентрации хлорида лития наблюдали дозозависимое повышение уровня фосфорилирования GSK-3 β .

До настоящего времени действие хлорида лития изучалось в основном лишь на постмитотических органах: головной мозг, миокард, почечный эпителий. Известно, что различные цитокины воспаления, например, TNF- α (Tumor Necrosis Factor α) вызывают расщепление VE-кадгерина — эндотелиального белка адгезионных контактов [17]. Также при действии подобных провоспалительных агентов происходит деградация белков плотных контактов, например, клаудина. Протеолиз этих важнейших белков межклеточных контактов вызывает образование промежутков между клетками, что приводит к увеличению проницаемости и нарушению барьерной функции эндотелия. В крайних случаях может развиваться эндотелиальная дисфункция, которая в настоящее время считается одним из основных

concentrations, and the dose-dependent increase of GSK-3 β phosphorylation was observed when lithium chloride concentration was increased.

So far, the action of lithium chloride has been studied using the postmitotic organs such as brain, myocardium, kidney epithelium. It is known that different cytokines of inflammation, e.g. TNF- α (tumor necrosis factor α) cause the cleavage of VE-cadherin, the endothelial protein of adhesion contacts [17]. Also, such pro-inflammatory agents cause degradation of dense contact proteins, e. g., claudin. Proteolysis of these important intercellular contact proteins results in the formation of gaps between cells, which leads to increased permeability and impaired endothelial barrier function. In extreme cases, endothelial dysfunction may develop, which is currently considered to be one of the main factors of multi-organ failure in sepsis and septic shock [18].

The present study has shown that lithium chloride is capable of preventing cleavage of claudin, actin and VE-cadherin in intercellular contacts of Ea.hy926 endothelial cells caused by exposure to the toxic serum from patients with septic shock. To date, the mechanisms of lithium chloride action on endothelial cells have not been clarified. In this regard, we consider important our data on the protection of endothelial intercellular contacts through phosphorylation of the enzyme GSK-3 β . The importance of the enzyme GSK-3 β inactivation is well known today: by preventing mitochondrial

факторов развития полиорганной недостаточности при сепсисе и септическом шоке [18].

В настоящем исследовании показали, что хлорид лития способен предотвращать разборку клаудина, актина и VE-кадгерина в межклеточных контактах эндотелиальных клеток линии Ea.hy 926, вызванную действием токсичной сыворотки, полученной от пациентов с септическим шоком. На сегодняшний день механизмы действия хлорида лития на эндотелиальные клетки остаются неизученными. В этой связи, нам представляется важными экспериментальные данные о защите эндотелиальных межклеточных контактов через фосфорилирование фермента GSK-3 β , которые были получены на модели воспаления в головном мозге. На сегодняшний день хорошо известно значение инактивации фермента GSK-3 β , которая, предотвращая открытие митохондриальной поры, защищает постмитотические клетки от ишемии/реперфузии [19, 20].

В работе коллектива авторов в 2013 году под руководством Persydsky Y. [21] было показано, что фосфорилирование фермента GSK-3 β приводит к увеличению времени жизни белков плотных межклеточных контактов (в результате увеличения времени полураспада на 38 и 43% соответственно), обеспечивающих целостность эндотелиального барьера. Таким образом, появились серьезные основания считать, что, фосфорилирование GSK-3 β — это один из путей, регулирующих сосудистую проницаемость. А полученные ранее убедительные данные о фосфорилировании GSK-3 β в ткани почек хлоридом лития в дозе 30 мг/кг [20], в ткани миокарда [21] и головном мозге [6, 22] экспериментальных животных позволяют предположить о наличии механизма реализации защитных эффектов хлорида лития на эндотелий через влияние на GSK-3 β .

Заключение

В результате выполнения настоящей работы, гипотеза о реализации защитных эффектов хлорида лития на эндотелий через GSK-3 β получила свое предварительное подтверждение: обнаружили, что токсичная сыворотка подавляла фосфорилирование GSK-3 β и переводила фермент в активную форму, а хлорид

pore opening it protects postmitotic cells from ischemia/reperfusion [19, 20].

In a paper by Persydsky Y. et al. (2013) [21], phosphorylation of GSK-3 β enzyme was shown to cause an increase in the life span of dense intercellular contact protein (as a result of the increase in half-life by 38% and 43%, respectively), ensuring the integrity of the endothelial barrier. Thus, there are good reasons to consider the phosphorylation of GSK-3 β as one of the signaling mechanisms regulating vascular permeability. Moreover, the earlier data on GSK-3 β phosphorylation by lithium chloride at a dose of 30 mg/kg in kidney tissue [20], in myocardial tissue [21] and in brain tissue [6, 22] of experimental animals support mechanistic links of GSK-3 β phosphorylations and protective effects of lithium chloride on endothelium.

Conclusion

Therefore, our study has provided an initial rationale for the hypothesis on mediation of protective effects of lithium chloride on endothelium through GSK-3 β . The toxic serum was observed to inhibit phosphorylation of GSK-3 β and to convert the enzyme into an active form, while lithium chloride, on the contrary, increased phosphorylation (inactivation) of GSK-3 β and, most importantly, even prevented dephosphorylation of GSK-3 β caused by toxic serum. However, it remains unclear whether this mechanism is working *in vivo*. Notably, even at minimal concentrations (0.01 mmol/l) lithium chloride prevented the toxic serum-induced inhibition of GSK-3 β phosphorylation, which is generally a dose-dependent process.

лития, наоборот, увеличивал фосфорилирование (инактивацию) GSK-3 β , и, что более важно, предотвращал вызванное токсичной сывороткой уменьшение фосфорилирования GSK-3 β . Тем не менее, остается неясным, реализуется ли такой механизм *in vivo*. Важно отметить, что даже в минимальных концентрациях (0,01 ммоль/л) хлорид лития предотвращал вызванное токсичной сывороткой ингибирование фосфорилирования GSK-3 β , имея, в целом, выраженный дозозависимый характер.

Литература

1. Baldessarini R.J., Tondo L., Davis P., Pompili M., Goodwin F.K., Hennen J. Decreased risk of suicides and attempts during long-term lithium treatment: a meta-analytic review. *Bipolar Disord.* 2006; 8: 625–629. DOI: 10.1111/j.1399-5618.2006.00344.x. PMID: 17042835
2. Мороз В.В., Силачев Д.Н., Плотников Е.Ю., Зорова Л.Д., Певзнер И.Б., Гребенчиков О.А., Лихванцев В.В. Механизмы повреждения и защиты клетки при ишемии/реперфузии и экспериментальное обоснование применения препаратов на основе лития в анестезиологии. *Общая реаниматология.* 2013; 9 (1): 63–72. DOI: 10.15360/1813-9779-2013-1-63

References

1. Baldessarini R.J., Tondo L., Davis P., Pompili M., Goodwin F.K., Hennen J. Decreased risk of suicides and attempts during long-term lithium treatment: a meta-analytic review. *Bipolar Disord.* 2006; 8: 625–629. DOI: 10.1111/j.1399-5618.2006.00344.x. PMID: 17042835
2. Moroz V.V., Silachev D.N., Plotnikov E. Yu., Zorova L.D., Pevzner I.B., Grebenchikov O.A., Likhvantsev V.V. Mechanisms of cell damage and protection in ischemia/reperfusion and experimental rationale for the use of lithium-based preparations in anesthesiology. *General Reanimatology=Obshchaya Reanimatologiya.* 2013; 9 (1): 63–72 [In Russ.]. DOI: 10.15360/1813-9779-2013-1-63

3. Juhaszova M., Zorov D.B., Kim S.H., Pepe S., Fu Q., Fishbein K.W., Ziman B.D., Wang S., Ytrehus K., Antos C.L., Olson E.N., Sollott S.J. Glycogen synthase kinase-3 β mediates convergence of protection signaling to inhibit the mitochondrial permeability transition pore. *J. Clin. Invest.* 2004; 113 (11): 1535–1549. DOI: 10.1172/JCI19906. PMID: 15173880
4. Faghihi M., Mirershadi F., Dehpour A.R., Bazargan M. Preconditioning with acute and chronic lithium administration reduces ischemia/reperfusion injury mediated by cyclooxygenase not nitric oxide synthase pathway in isolated rat heart. *Eur. J. Pharmacol.* 2008; 597: 57–63. DOI: 10.1016/j.ejphar.2008.08.010. PMID: 18789320
5. Гребенчиков О.А., Лобанов А.В., Шайхутдинова Э.Р., Кузовлев А.Н., Еришов А.В., Лихванцев В.В. Кардиопротекторные свойства хлорида лития на модели инфаркта миокарда у крыс. *Патология кровообращения и кардиохирургия.* 2019; 23 (2): 43–49. DOI: 10.21688/1681-3472-2019-2-43-49
6. Острова И.В., Гребенчиков О.А., Голубева Н.В. Нейропротективное действие хлорида лития на модели остановки сердца у крыс (экспериментальное исследование). *Общая реаниматология.* 2019; 15 (3): 73–82. DOI: 10.15360/1813-9779-2019-3-73-82
7. Balk R.A. Systemic inflammatory response syndrome (SIRS): Where did it come from and is it still relevant today? *Virulence.* 2014; 5 (1): 20–26. DOI: 10.4161/viru.27135. PMID: 24280933
8. Qin L., Wu X., Block M.L., Liu Y., Breese G.R., Hong J.-S., Knapp D.J., Crews F.T. Systemic LPS causes chronic neuroinflammation and progressive neurodegeneration. *Glia.* 2007; 55 (5): 453–462. DOI: 10.1002/glia.20467. PMID: 17203472
9. Alexander J.J., Jacob A., Cunningham P., Hensley L., Quigg R.J. TNF is a key mediator of septic encephalopathy acting through its receptor, TNF receptor-1. *Neurochem. Int.* 2008; 52: 447–456. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2007.08.006>. PMID: 17884256
10. Parkos A., Colgan P., Madara J.L. Interaction of Neutrophils With Epithelial Cells: Lessons From the Intestine. *J Am Soc Nephrol.* 1994; 5 (2): 138–152. PMID: 7993993
11. Félétou M., Vanhoutte P. Endothelial dysfunction: a multifaceted disorder. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2006; 291 (3): H985–H1002. DOI: 10.1152/ajpheart.00292.2006. PMID: 16632549. PMID: 16632549
12. Hughes C.G., Patel M.B., Pandharipande P.P. Pathophysiology of acute brain dysfunction: what's the cause of all this confusion? *Curr. Opin. Crit. Care.* 2012; 18 (5): 518–526. DOI: 10.1097/MCC.0b013e328357effa. PMID: 22941208
13. Hirase T., Node K. Endothelial dysfunction as a cellular mechanism for vascular failure. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2012; 302 (3): H499–H505. DOI: 10.1152/ajpheart.00325.2011. PMID: 22081698
14. Opal S., van der Poll T. Endothelial barrier dysfunction in septic shock. *J. Intern. Med.* 2014; 277 (3): 277–293. DOI: 10.1111/joim.12331. PMID: 25418337
15. Pearson T.A., Mensah G.A., Alexander R.W., Anderson J.L., Cannon R.O. 3rd, Criqui M., Fadl Y.Y., Fortmann S.P., Hong Y., Myers G.L., Rifai N., Smith S.C. Jr., Taubert K., Tracy R.P., Vinicor F.; Centers for Disease Control and Prevention; American Heart Association. Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: a statement for healthcare professionals from the centers for disease control and prevention and the American Heart Association. *Circulation.* 2003; 107 (3): 499–511. DOI: 10.1161/01.CIR.0000052939.59093.45. PMID: 12551878
16. Singer M., Deutschman C.S., Seymour C.W., Shankar-Hari M., Annane D., Bauer M., Bellomo R., Bernard G.R., Chiche J.D., Cooper-Smith 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. DOI: 10.1001/jama.2016.0287
17. Galkin I.I., Pletjushkina O.Y., Zinovkin R.A., Zakharova V.V., Birjukov I.S., Chernyak B.V., Popova E.N. Mitochondria-targeted antioxidants prevent TNF α -induced endothelial cell damage. *Biochemistry (Mosc).* 2014; 79: 124–130. DOI: 10.1134/S0006297914020059
18. Polat G., Ugan R.A., Cadirci E., Halici Z. Sepsis and Septic Shock: Current Treatment Strategies and New Approaches. *Eurasian J Med.* 2017; 49: 53–58. DOI: 10.5152/eurasianjmed.2017.17062. PMID: 28416934
19. Abello P.A., Fidler S.A., Bulkley G.B., Buchman T.G. Antioxidants modulate induction of programmed endothelial cell death (apoptosis) by endotoxin. *Arch Surg.* 1994; 129 (2): 134–140. DOI: 10.1001/archsurg.1994.01420260030003. PMID: 8304825
20. Plotnikov E.Y., Babenko V.A., Pevzner I.B., Zorova L.D., Likhvantsev V.V., Zorova D.B. Nephroprotective effect of GSK-3 β inhibition by lithium ions and mu-opioid receptor agonist dalargin on gentamicin-induced nephrotoxicity. *Toxicology Letters Journal.* 2013; 220: 303–308. DOI: 10.1016/j.toxlet.2013.04.023
21. Борисов К.Ю., Мороз В.В., Гребенчиков О.А., Плотников Е.Ю., Левиков Д.И., Черпаков Р.А., Лихванцев В.В. Влияние пропофола на анестетическое прекондиционирование миокарда севофлура-
3. Juhaszova M., Zorov D.B., Kim S.H., Pepe S., Fu Q., Fishbein K.W., Ziman B.D., Wang S., Ytrehus K., Antos C.L., Olson E.N., Sollott S.J. Glycogen synthase kinase-3 β mediates convergence of protection signaling to inhibit the mitochondrial permeability transition pore. *J. Clin. Invest.* 2004; 113 (11): 1535–1549. DOI: 10.1172/JCI19906. PMID: 15173880
4. Faghihi M., Mirershadi F., Dehpour A.R., Bazargan M. Preconditioning with acute and chronic lithium administration reduces ischemia/reperfusion injury mediated by cyclooxygenase not nitric oxide synthase pathway in isolated rat heart. *Eur. J. Pharmacol.* 2008; 597: 57–63. DOI: 10.1016/j.ejphar.2008.08.010. PMID: 18789320
5. Grebenchikov O.A., Lobanov A.V., Shajhutdinova E.R., Kuzovlev A.N., Ershov A.V., Lihvantsev V.V. Cardioprotective properties of lithium chloride in a rat myocardial infarction model. *Patologiya krovoobrashcheniya i kardiokirurgiya.* 2019; 23 (2): 43–49 [In Russ.]. DOI: 10.21688/1681-3472-2019-2-43-49
6. Ostrova I.V., Grebenchikov O.A., Golubeva N.V. Neuroprotective Effect of Lithium Chloride in Rat Model of Cardiac Arrest. *General Reanimatology=Obshchaya Reanimatologiya.* 2019; 15 (3): 73–82 [In Russ.]. DOI: 10.15360/1813-9779-2019-3-73-82
7. Balk R.A. Systemic inflammatory response syndrome (SIRS): Where did it come from and is it still relevant today? *Virulence.* 2014; 5 (1): 20–26. DOI: 10.4161/viru.27135. PMID: 24280933
8. Qin L., Wu X., Block M.L., Liu Y., Breese G.R., Hong J.-S., Knapp D.J., Crews F.T. Systemic LPS causes chronic neuroinflammation and progressive neurodegeneration. *Glia.* 2007; 55 (5): 453–462. DOI: 10.1002/glia.20467. PMID: 17203472
9. Alexander J.J., Jacob A., Cunningham P., Hensley L., Quigg R.J. TNF is a key mediator of septic encephalopathy acting through its receptor, TNF receptor-1. *Neurochem. Int.* 2008; 52: 447–456. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2007.08.006>. PMID: 17884256
10. Parkos A., Colgan P., Madara J.L. Interaction of Neutrophils With Epithelial Cells: Lessons From the Intestine. *J Am Soc Nephrol.* 1994; 5 (2): 138–152. PMID: 7993993
11. Félétou M., Vanhoutte P. Endothelial dysfunction: a multifaceted disorder. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2006; 291 (3): H985–H1002. DOI: 10.1152/ajpheart.00292.2006. PMID: 16632549. PMID: 16632549
12. Hughes C.G., Patel M.B., Pandharipande P.P. Pathophysiology of acute brain dysfunction: what's the cause of all this confusion? *Curr. Opin. Crit. Care.* 2012; 18 (5): 518–526. DOI: 10.1097/MCC.0b013e328357effa. PMID: 22941208
13. Hirase T., Node K. Endothelial dysfunction as a cellular mechanism for vascular failure. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2012; 302 (3): H499–H505. DOI: 10.1152/ajpheart.00325.2011. PMID: 22081698
14. Opal S., van der Poll T. Endothelial barrier dysfunction in septic shock. *J. Intern. Med.* 2014; 277 (3): 277–293. DOI: 10.1111/joim.12331. PMID: 25418337
15. Pearson T.A., Mensah G.A., Alexander R.W., Anderson J.L., Cannon R.O. 3rd, Criqui M., Fadl Y.Y., Fortmann S.P., Hong Y., Myers G.L., Rifai N., Smith S.C. Jr., Taubert K., Tracy R.P., Vinicor F.; Centers for Disease Control and Prevention; American Heart Association. Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: a statement for healthcare professionals from the centers for disease control and prevention and the American Heart Association. *Circulation.* 2003; 107 (3): 499–511. DOI: 10.1161/01.CIR.0000052939.59093.45. PMID: 12551878
16. Singer M., Deutschman C.S., Seymour C.W., Shankar-Hari M., Annane D., Bauer M., Bellomo R., Bernard G.R., Chiche J.D., Cooper-Smith 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. DOI: 10.1001/jama.2016.0287
17. Galkin I.I., Pletjushkina O.Y., Zinovkin R.A., Zakharova V.V., Birjukov I.S., Chernyak B.V., Popova E.N. Mitochondria-targeted antioxidants prevent TNF α -induced endothelial cell damage. *Biochemistry (Mosc).* 2014; 79: 124–130. DOI: 10.1134/S0006297914020059
18. Polat G., Ugan R.A., Cadirci E., Halici Z. Sepsis and Septic Shock: Current Treatment Strategies and New Approaches. *Eurasian J Med.* 2017; 49: 53–58. DOI: 10.5152/eurasianjmed.2017.17062. PMID: 28416934
19. Abello P.A., Fidler S.A., Bulkley G.B., Buchman T.G. Antioxidants modulate induction of programmed endothelial cell death (apoptosis) by endotoxin. *Arch Surg.* 1994; 129 (2): 134–140. DOI: 10.1001/archsurg.1994.01420260030003. PMID: 8304825
20. Plotnikov E.Y., Babenko V.A., Pevzner I.B., Zorova L.D., Likhvantsev V.V., Zorova D.B. Nephroprotective effect of GSK-3 β inhibition by lithium ions and mu-opioid receptor agonist dalargin on gentamicin-induced nephrotoxicity. *Toxicology Letters Journal.* 2013; 220: 303–308. DOI: 10.1016/j.toxlet.2013.04.023
21. Borisov K.Y., Moroz V.V., Grebenchikov O.A., Plotnikov E.Y., Levikov D.I., Cherpakov R.A., Likhvantsev V.V. Effect of Propofol on Sevoflurane-Induced Myocardial Preconditioning in the Experiment. *General*

- ном в эксперименте. *Общая реаниматология*. 2013; 9 (4): 30–33. DOI: 10.15360/1813-9779-2013-4-30
22. Шевелев О.А., Петрова М.В., Саидов Ш.Х., Ходорович Н.А., Прадхан П. Механизмы нейропротекции при церебральной гипотермии (обзор). *Общая реаниматология*. 2019; 15 (6): 94–114. DOI: 10.15360/1813-9779-2019-6-94-114
22. *Reanimatology=Obshchaya Reanimatologiya*. 2013; 9 (4): 30-33 [In Russ.]. DOI: 10.15360/1813-9779-2013-4-30
22. Shevelev O.A., Petrova M.V., Saidov S.K., Khodorovich N.A., Pradkhan P. Neuroprotection Mechanisms in Cerebral Hypothermia (Review). *General Reanimatology=Obshchaya Reanimatologiya*. 2019; 15 (6): 94-114. [In Russ.]. DOI: 10.15360/1813-9779-2019-6-94-114

Поступила 08.03.2020

Received 08.03.2020

Профилактика венозного тромбоза в отделениях реанимации (обзор)

Л. В. Попова¹, Т. Б. Кондратьева¹, М. З. Каневская^{1,2},
Т. Л. Алейникова¹, Е. С. Зыкова¹, А. В. Кривова¹, А. М. Кузнецов¹

¹ Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова Минздрава России, Россия, 119991, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

² Городская клиническая больница им. А. К. Ерамишанцева Департамента здравоохранения г. Москвы Россия, 129327, г. Москва, ул. Ленская, д. 15

Venous Thromboembolism Prophylaxis in Intensive Care Units (Review)

Lyudmila V. Popova¹, Tatyana B. Kondratieva¹, Marina Z. Kanevskaya^{1,2},
Tatyana L. Aleinikova¹, Elena S. Zyкова¹, Anastasiya V. Krivova¹, Alexey M. Kuznetsov¹

¹ I. M. Sechenov First Moscow State Medical University, Ministry of Health of Russia, 8 Trubetskaya Str., Bldg. 2, 119991 Moscow, Russia

² Eramishantsev City Clinical Hospital, Moscow City Health Department 15 Lenskaya Str., 129327 Moscow, Russia

Для цитирования: Л. В. Попова, Т. Б. Кондратьева, М. З. Каневская, Т. Л. Алейникова, Е. С. Зыкова, А. В. Кривова, А. М. Кузнецов. Профилактика венозного тромбоза в отделениях реанимации (обзор). *Общая реаниматология*. 2020; 16 (3): 106–125. DOI: 10.15360/1813-9779-2020-3-106-125 [На русск. и англ.]

For citation: Lyudmila V. Popova, Tatyana B. Kondratieva, Marina Z. Kanevskaya, Tatyana L. Aleinikova, Elena S. Zyкова, Anastasiya V. Krivova, Alexey M. Kuznetsov. Venous Thromboembolism Prophylaxis in Intensive Care Units (Review). *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2020; 16 (3): 106–125. DOI: 10.15360/1813-9779-2020-3-106-125 [In Russ. and Engl.]

Резюме

Венозный тромбоз (ВТЭ) является третьей по частоте причиной смерти от сердечно-сосудистых заболеваний после инфаркта миокарда и инсульта, но является наиболее предотвратимой причиной летальности. ВТЭ распространен и потенциально опасен для жизни больных, которые поступили в отделения реанимации, даже несмотря на профилактические мероприятия.

Цель обзора: обоснование необходимости проведения профилактических мероприятий венозного тромбоза у пациентов, находящихся в реанимационных отделениях.

Из более 300 первично отобранных источников литературы различных баз данных (Scopus, Web of science, РИНЦ и др.) для анализа выбрали 99 источников, из них — 69, опубликованных в течение последних пяти лет (2015–2020 гг.). Критерием исключения источников служили малая информативность и устаревшие данные.

В обзоре рассмотрели значимость ВТЭ, факторы риска его развития, выбор и объем профилактических мероприятий в зависимости от риска тромбозов и кровотечения, ведение пациентов в различных клинических ситуациях (при снижении функции почек, тромбоцитопении, гепарин-индуцированной тромбоцитопении, нарушении функции печени), показания к установке кава-фильтров.

Но в мировой литературе пока нет консенсуса в отношении рассматриваемого вопроса, основанного на метаанализах или больших рандомизированных исследованиях. Также, не достигнуто согласие в отношении использования механической и комбинированной профилактики венозных тромбозов/ТЭЛА, использования ультразвукового исследования для выявления бессимптомных тромбозов. Не существует ни одного исследования оценки эффективности и безопасности фармакологической профилактики ВТЭ у пациентов с выраженной печеночной недостаточностью.

В обзоре отметили, что все пациенты, госпитализированные в отделения реанимации имеют высокий риск развития ВТЭ. Объем профилактических мероприятий зависит не только от данного риска, но и от риска развития кровотечения. В качестве антикоагулянта должны использоваться гепарины, среди которых предпочтение отдается низкомолекулярным гепаринам. Выбор дозы большинства гепаринов зависит от функции почек. При высоком риске кровотечения применяются механические средства профилактики.

Ключевые слова: венозный тромбоз; профилактика; отделение интенсивной терапии

Адрес для корреспонденции:

Людмила Викторовна Попова
E-mail: mila_foka@mail.ru

Correspondence to:

Lyudmila V. Popova
E-mail: mila_foka@mail.ru

Summary

Venous thromboembolism (VTE) is the third most frequent cause of death from cardiovascular diseases after myocardial infarction and stroke and the most preventable cause of mortality. VTE is common and potentially life-threatening in patients admitted to ICU, even in spite of preventive care.

The purpose of the review is to justify the necessity of preventive care for venous thromboembolism in ICU patients.

From over 300 initially selected sources of literature databases (Scopus, Web of science, RSCI, etc.), 99 sources were chosen including 69 that were published during the last five years (2015–2020). The exclusion criteria included data of low informative value or disproven data.

The review discusses VTE relevance, risk factors for its development, selection and scope of preventive care depending on the risk of thrombosis and hemorrhage, patient management in different clinical settings (impaired renal function, thrombocytopenia, heparin-induced thrombocytopenia, liver dysfunction, indications for installation of vena cava filter).

In the world literature, however, there is yet no consensus on the matter under discussion that would have been based on meta-analyses or large randomized studies. No agreement has been reached either in respect of use of mechanical and combined prophylaxis of venous thromboses/PATE, application of ultrasound to detect asymptomatic thromboses. There are no studies on efficacy and safety of pharmacological prophylaxis of VTE in patients with significant hepatic impairment.

The review describes that all patients admitted in ICU feature a high risk of VTE development. The scope of preventive care depends not only on VTE risk but also on the risk of a hemorrhage. To prevent the latter, low-molecular weight heparins should be used. For most cases, the choice of heparine dose depends on renal function. When there is a high risk of hemorrhage, mechanical preventive aids are applied.

Keywords: *venous thromboembolism; prophylaxis; intensive care unit*

DOI: 10.15360/1813-9779-2020-3-106-125

Введение

Венозный тромбоз (ВТЭ) включает тромбоз глубоких вен нижних и верхних конечностей, таза (ТГВ) и тромбоз легочной артерии (ТЭЛА). ВТЭ может развиваться у любого человека и быть причиной тяжелой болезни, инвалидности и даже гибели. Он является третьей по частоте причиной смерти от сердечно-сосудистых заболеваний после инфаркта миокарда и инсульта, но при этом — наиболее предотвратимой причиной летальности [1]. По данным многих исследований ежегодные показатели развития ТЭЛА варьируют от 39 до 115 случаев на 100 000 населения, а ТГВ — от 53 до 62 на 100 000 населения [2, 3] и данные показатели имеют тенденцию к росту с течением времени [3, 4]. От ВТЭ за год погибает от 60 000 до 100 000 американцев [1]. В шести Европейских странах с общим населением 454,4 миллиона человек более 370 000 смертей в 2004 году были связаны с ВТЭ [5]. В течение первого месяца после диагностики ВТЭ от ТЭЛА погибает от 10 до 30% человек [5]. Внезапная смерть является первым клиническим проявлением легочной эмболии примерно у четверти (25%) лиц [6]. Среди пациентов, страдающих ТГВ конечностей, у половины развивается посттромботический синдром [6], а у одной трети (около 33%) — произошел рецидив ВТЭ в течение последующих 10 лет [6]. Затраты на лечение ВТЭ в США составляют ежегодно не менее 600 млн. долл. США на человека [7], в Европе — 8,5 миллиардов евро [8].

Introduction

Venous thromboembolism (VTE) includes deep vein thrombosis of lower and upper extremities, pelvis (DVT) and pulmonary artery thromboembolism (PATE). VTE can develop in any person and might be a cause of a severe illness, disability, and even death. It is the third most frequent cause of death from cardiovascular diseases after myocardial infarction and stroke but is the most preventable cause of mortality [1]. Annually, PATE development varies between 39 and 115 cases per 100,000 humans and those of DVT — between 53 and 62 per 100,000 humans [2, 3], with an upward trend over time [3, 4]. 60,000 to 100,000 Americans die from VTE per annum [1]. In six European countries with the total population of 454.4 million, more than 370,000 deaths in 2004 were related to VTE [5]. Within the first month after VTE diagnosis, 10 to 30% humans die from PATE [5]. Sudden death is the first clinical manifestation of pulmonary embolism approximately in a forth (25%) of persons [6]. Among patients suffering from DVT of extremities, half developed the post-thrombotic syndrome [6], and one third (about 33%) experienced VTE recurrence within the next 10 years [6]. In the USA, the expenses on VTE treatment amount at least to 600 million US Dollars per head per year [7], in Europe — 8.5 billion euros [8].

About 50% of VTE cases occur during hospitalization for an acute disease (22% in therapeutic patients and 24% in surgical patients), or within 3 months after discharge from the hospital (most

Приблизительно 50% случаев ВТЭ возникают во время госпитализации по поводу острого заболевания (у пациентов терапевтического профиля — 22%, хирургического — 24%), или в течении 3х месяцев после выписки из стационара (большинство эпизодов венозного тромбоза происходит именно после выписки) [9–11].

ТЭЛА является одной из ведущих причин летальности среди госпитализированных пациентов (60 000–100 000 смертей в год [12], у 5–10% госпитализированных пациентов [13]). Комитет по здравоохранению палаты общин сообщил, что приблизительно 25 000 человек в Великобритании ежегодно умирают от приобретенного в больнице ВТЭ [14].

ВТЭ, несмотря на профилактические мероприятия, опасен для жизни реанимационных больных [15, 16]. Частота зарегистрированного ВТЭ у пациентов отделений реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ), вероятно, варьирует в разных популяциях и зависит от индивидуальных особенностей и состояния больного, заболевания, которое стало причиной госпитализации, скрининга ВТЭ, а также характера профилактических мероприятий. Таким образом, частота развития ТГВ нижних конечностей у больных в ОРИТ варьирует от 3,5 до 31% [17, 18]. В азиатских странах заболеваемость сравнительно ниже, чем в странах ЕС и Северной Америки. Так, в исследованиях, в которые были включены пациенты хирургического отделения интенсивной терапии в Тайланде, частота ТГВ составляет 3,6% [18], в Тегеране — 3,5% [19]. Частота возникновения ВТЭ у пациентов с сепсисом и септическим шоком составляет 37,2% [20].

По данным аутопсии среди умерших в ОРИТ, тромбоэмболия легочной артерии была зарегистрирована в 7–27% случаев и явилась непосредственной причиной смерти у примерно 12% больных [21]. Даже небольшой перфузионный дефект, вызванный ТЭЛА, клинически может плохо переноситься такими больными и значительно сокращать их кардиореспираторный резерв [22].

Профилактика ВТЭ приводит к снижению частоты его развития и смертности. Так, обсервационное исследование взрослых пациентов, находившихся на лечении в ОРИТ в США, показало, что в группе пациентов, получавших профилактическое лечение антикоагулянтами, риск смерти был значительно ниже, чем у пациентов, которым не проводилась профилактика ВТЭ [23]. Результаты метаанализа, проведенного Malato A. с коллегами, позволили авторам предположить, что развитие ТГВ в ОРИТ, по-видимому, влияет на продолжительность пребывания в отделении реанимации и стационаре, и на летальность [24].

episodes of venous thromboembolism take place particularly after discharge) [9,10,11].

PATE is a leading cause of mortality among inpatients (60,000–100,000 deaths per year [12], or 5–10% of all inpatients [13]). The Health Committee of the House of Commons reported that in Great Britain 25,000 humans approximately die from VTE acquired in hospital [14].

In spite of preventive measures, VTE is a life-threatening condition for ICU patients [15, 16]. The incidence of VTE recorded in ICU patients varies from population to population and depends on patient's individual peculiarities and causes of hospitalization, VTE screening, and the nature of preventive measures. Therefore, the incidence of DVT of lower extremities in ICU patients varies between 3.5 and 31% [17,18]. In Asian countries, the morbidity is comparatively lower than in the EC and North America countries. In the studies that included ICU surgical patients in Thailand, the incidence of DVT was equal to 3.6% [18], in Teheran — 3.5% [19]. VTE incidence in sepsis and septic shock patients amounts to 37.2% [20].

According to autopsy data, in patients that deceased in ICU PATE was recorded in 7–27% of cases and was the direct cause of death in 12% of patients [21]. Even a minor perfusion defect due to PATE may be poorly tolerated by such patients significantly reducing their cardiorespiratory reserve [22].

VTE prophylaxis results in reduced incidence of its development and death. The observational study of adult patients receiving treatment in ICU in the USA showed that in the group of patients who received preventive treatment with anticoagulants the risk of death was significantly lower than that of patients who did not receive VTE prophylaxis [23]. The results of meta-analysis undertaken by Malato A. et al. have allowed the authors to suppose that development of DVT in ICU seems to affect mortality and duration of staying in ICU and hospital [24].

Venous Thromboembolism Risk Factors

By today's conceptions, VTE development is a consequence of interaction between constant risk factors that a patient has and factors appearing due to a new disease or exacerbation of a chronic disease in the course of the treatment before and during hospitalization (table 1). Almost all inpatients have 1 or more VTE risk factors (table 1), wherein about 40% of them have 3 risk factors and more [25].

The most significant risk factors of VTE include surgical intervention, knee or hip endoprosthetics, a severe trauma including femoral fracture, spinal cord injury (table 1) [26]. Another significant risk factor of VTE is cancer including metastases, in which risk degree depends on the tumor location

Факторы риска венозного тромбоза

Развитие ВТЭ по современным представлениям — это следствие взаимодействия между постоянными факторами риска, которые имеются у пациента, и факторами, появляющимися в связи с новым заболеванием или обострением хронического, или в процессе его лечения, включая госпитализацию (табл. 1). Почти все госпитализированные пациенты имеют 1 или более факторов риска развития ВТЭ (табл. 1) и приблизительно 40% имеют 3 и более факторов риска [25].

Наиболее значимыми факторами риска развития ВТЭ считаются: хирургическое вмешательство, эндопротезирование коленного или тазобедренного сустава, тяжелая травма, включая перелом бедра, травма спинного мозга (табл. 1) [26]. Еще одним значимым фактором риска ВТЭ является рак, особенно с развитием метастазов, причем выраженность риска зависит от локализации онкологического процесса (табл. 1) [29]. Наибольшим риском обладают злокачественные опухоли, локализующиеся в желудке, поджелудочной железе, легких, головном мозге, а также гемобластозы [30].

Фактором риска ВТЭ у женщин репродуктивного возраста является прием эстрогенсодержащих оральных контрацептивов [28], особенно при тромбофилии [31]. Риск развития ВТЭ при заместительной гормональной терапии у женщин зависит используемого препарата и путей его введения [28].

Атеротромбоз и ВТЭ имеют ряд общих факторов риска, таких как курение сигарет, гиперхолестеринемия, артериальная гипертензия и сахарный диабет [32], ожирение [33].

Пациенты ОРИТ зачастую имеют сложные медицинские диагнозы с большим числом сопутствующих заболеваний. Это послеоперационные пациенты, лица с политравмой, больные с тяжелыми терапевтическими заболеваниями и т. п. Сепсис [17], медицинская седация [34], «фармакологический паралич» [34], использование вазопрессоров [35], препаратов для нейромышечной блокады [36], гемодиализ [17], продолжительное лечение в ОРИТ [18], наличие бедренного венозного катетера [37] или центрального, периферического венозного катетера [34, 36, 38, 39] являются факторами риска ВТЭ [34], которые появляются при нахождении пациента в ОРИТ. Искусственная вентиляция легких (ИВЛ) за счет уменьшения венозного возврата и необходимости седации (и иммобилизации) также увеличивает риск ВТЭ [17], причем на частоту развития ВТЭ влияет продолжительность ИВЛ [40].

(table 1) [29]. The highest risk relates to malignant tumors located in the stomach, pancreas, lungs, brain, as well as hemoblastosis [30].

The VTE risk factor in women of the reproductive age includes the use of estrogen-containing oral contraceptives [28], particularly, in the presence of thrombophilia [31]. The risk of VTE development during replacement hormonal therapy in women depends on the drug used and route of administration [28].

Atherothrombosis and VTE feature a number of common risk factors such as smoking cigarettes, hypercholesterolemia, arterial hypertension, diabetes mellitus [32], and obesity [33].

ICU patients often experience complicated medical diagnoses with a number of comorbidities. They include surgical diseases, post-trauma conditions, severe therapeutic diseases, and more. Sepsis [17], medical sedation [34], 'pharmacological paralysis' [34], use of vasopressors [35], neuromuscular blockers [36], hemodialysis [17], long treatment in ICU [18], presence of a femoral venous catheter [37], or central, peripheral venous catheter [34, 36, 38, 39] — all of them are VTE risk factors [34] that appear during patient's stay in ICU. Mechanical lung ventilation (MLV), due to reduced venous return and requirement for sedation and immobilization, also increases the VTE risk [17], and MLV duration might affect VTE prevalence [40].

Antipsychotic drugs, antidepressant drugs, diuretics or analgesics, Diclofenac, Ibuprofen and Rofecoxib, but not naproxen, might increase the risk of VTE [41–43].

Ультразвуковое исследование для скрининга глубокой венозной тромбозы

In ICU patients, VTE has some peculiarities obstructing its diagnosis. DVT signs and symptoms might be not visible due to edemas or surgical dressing. Diagnosis of DVT is not always easy to confirm until the patients develop PATE.

In critically ill patients, DVT is often asymptomatic with PATE being the first clinical presentation of the disease [44]. Ultrasound examination seems to be justified as screening in ICU patients. However, available data did not allow experts from the American College of Chest Physicians [45] or European experts [44] to recommend routine ultrasound examination for detecting asymptomatic DVT in postoperative patients. Such examination would be useful in patients with a high risk of VTE to whom it is impossible to commence pharmacological thromboprophylaxis timely due to hemorrhage, or in patients with a high risk of hemorrhage, or in case of heparin-induced thrombocytopenia (HIT), and in patients who cannot report appearance of clinical signs of DVT [44].

On the other hand, 'PREVENT' (Pneumatic

Таблица 1. Факторы риска венозного тромбоза [26, 27].**Table 1. Venous thromboembolism risk factors [26, 27].**

Risk factors	
Group	Example
Strong OR* >10	A lower extremity fracture
	Hospitalization for cardiac insufficiency or atrial fibrillation/flutter (within 3 months after discharge)
	Knee or hip replacement
	A severe trauma
	Myocardial infarction (within 3 months after discharge)
	Previous VTE
Moderate OR — 2–9	Spinal cord injury
	A keyhole surgery on the knee
	Autoimmune diseases
	Blood transfusion
	Central venous and intravenous catheters
	Chemotherapy
	Congestive cardiac or respiratory failure
	Erythropoiesis-stimulating agents [26]
	Hormonal replacement therapy (depends on the composition) [28]
	Intake of oral contraceptives
	Postpartum period
	Infection (especially, pneumonia, urinary tract infection, HIV)
	Intestinal inflammatory disease
	Cancer (the risk is the highest in case of metastasis)
	Stroke involving functional impairment of extremities
Weak OR <2	Superficial vein thrombosis
	Thrombophilia
	Bedrest >3 days
	Diabetes mellitus
	Arterial hypertension
	Prolonged sitting posture (for example, a long travel by car or plane)
	Elderly age
	Laparoscopic surgery (for instance, cholecystectomy)
	Obesity
	Pregnancy
	Varicose veins

Note. * — OR is the odds ratio.

Примечание. * OR — относительный риск. Для табл. 1–5: Risk factors — факторы риска; group — группа; example — пример; strong, moderate, weak — сильные, умеренные, слабые; a lower extremity fracture — перелом нижней конечности; hospitalization for cardiac insufficiency or atrial fibrillation/flutter (within 3 months after discharge) — госпитализация по поводу сердечной недостаточности или фибрилляции/трепетания предсердий (в течение 3 месяцев после выписки); knee or hip replacement — эндопротезирование коленного или тазобедренного суставов; a severe trauma — тяжелая травма; myocardial infarction (within 3 months after discharge) — инфаркт миокарда (в течение 3 месяцев после выписки); previous VTE — предыдущий ВТЭ; spinal cord injury — повреждение спинного мозга; a keyhole surgery on the knee — артроскопическая операция на колене; autoimmune diseases — аутоиммунные заболевания; blood transfusion — переливание крови; central venous and intravenous catheters — центральный венозный и внутривенные катетеры; chemotherapy — химиотерапия; congestive cardiac or respiratory failure — застойная сердечная недостаточность или дыхательная недостаточность; erythropoiesis-stimulating agents — эритропоэз-стимулирующие агенты; hormonal replacement therapy (depends on the composition) — заместительная гормональная терапия (зависит от состава); intake of oral contraceptives — прием оральных контрацептивов; postpartum period — послеродовой период; infection (especially, pneumonia, urinary tract infection, HIV) — инфекция (особенно пневмония, инфекция мочевыводящих путей, ВИЧ); intestinal inflammatory disease — воспалительное заболевание кишечника; cancer (the risk is the highest in case of metastasis) — рак (самый высокий риск при метастазировании); stroke involving functional impairment of extremities — инсульт с нарушением функций конечностей; superficial vein thrombosis — тромбоз поверхностных вен; thrombophilia — тромбофилия; bedrest >3 days — постельный режим >3 дней; Diabetes mellitus — сахарный диабет; Arterial hypertension — артериальная гипертензия; prolonged sitting posture (for example, a long travel by car or plane) — длительное нахождение в сидячем положении (например, длительное путешествие на автомобиле или самолете); elderly age — пожилой возраст; laparoscopic surgery (for instance, cholecystectomy) — лапароскопическая операция (например, холецистэктомия); obesity — ожирение; pregnancy — беременность; varicose veins — варикозное расширение вен.

Применение некоторых препаратов в периоперационном периоде может увеличить риск ВТЭ. К таким препаратам относятся антипсихотики, антидепрессанты, диуретики или анальгетики (риск ВТЭ повышен у пациентов, получающих диклофенак, ибупрофен и рофекоксиб, но не напроксен) [41–43].

CompREssion for Preventing VENous Thromboembolism) research showed that ultrasound examination of veins of lower extremities twice a week resulted in increased number of patients with detected DVT, reduced number of tests to diagnose DVT located elsewhere, and decreased incidence of PATE, early VTE diagnosis and lower 90-day mortality [46].

Проведение УЗИ для скрининга тромбозов глубоких вен

ВТЭ у пациентов ОРИТ имеет некоторые особенности, что затрудняет его диагностику. Так, признаки и симптомы ТГВ могут быть не видны из-за отеков или наличия хирургических повязок. Диагноз тромбоза вен нижних конечностей не всегда легко заподозрить, до тех пор, пока у больного не появятся признаки ТЭЛА.

У пациентов, находящихся в критическом состоянии, ТГВ часто протекает бессимптомно, а ТЭЛА является первым клиническим проявлением болезни [44]. Проведение УЗИ в качестве скрининга у реанимационных пациентов, казалось, должно быть оправдано. Однако, имеющиеся данные не позволили экспертам Американского Колледжа Торакальных Врачей [45] и европейским экспертам [44] рекомендовать рутинное проведение ультразвукового исследования для выявления бессимптомного ТГВ у пациентов после хирургического вмешательства. Такое исследование целесообразно выполнять у лиц с высоким риском ВТЭ и невозможностью начать вовремя фармакологическую тромбопрофилактику из-за кровотечения, или у больных, имеющих высокий риск развития кровотечения, или при гепарининдуцированной тромбоцитопении (ГИТ), а также — у пациентов, которые не могут сообщить о появлении у них клинических признаков ТГВ [44].

С другой стороны, исследование PREVENT (Pneumatic CompREssion for Preventing VENous Thromboembolism), показало, что проведение УЗИ вен нижних конечностей дважды в неделю привело к росту числа пациентов с выявленным ТГВ, снижению числа тестов для диагностики ТГВ иной локализаций и частоты ТЭЛА, к ранней диагностике ВТЭ и снижению смертности в течении 90 дней [46].

Оценка риска развития венозного тромбоза и кровотечения

Пациенты, которые находятся на стационарном лечении, обладают различным риском развития ВТЭ. Чрезмерная профилактика у пациентов с низким риском ВТЭ может привести к развитию кровотечения, и наоборот, недостаточная профилактика у пациентов с высоким риском чревата развитием ВТЭ. Клиническая настороженность в отношении возможного кровотечения, недооценка риска развития ВТЭ может привести к применению профилактического лечения в недостаточном объеме.

Для того, чтобы избежать ошибок при профилактических мероприятиях во время нахождения пациента в ОРИТ необходимо под-

Vein Thrombosis and Hemorrhage Risk assessment

Inpatients feature a different risk of VTE development. Excessive prophylaxis in patients experiencing lower risk of VTE might lead to occurrence of hemorrhage and, vice versa, insufficient prophylaxis in high-risk patients is fraught with VTE development. Clinical apprehension in respect of possible hemorrhage, underestimation of VTE risk might result in insufficient preventive care.

To avoid mistakes in preventive measures during patient's stay in ICU, a patient-centered approach is required, in which it is necessary to assess risks of thrombosis and hemorrhage. Pharmacological prophylaxis should be carried out taking into account the risks listed above, precedent anticoagulant therapy, and comorbidities (tables 2–4) [9, 13]. It is also necessary reassessing the risks even more frequently than once a day because the clinical condition of an ICU patient changes fast [47].

Recent decade, a few quantitative models of VTE risk assessment were developed [9, 48, 49]. According to several guidelines [44, 50–52], to assess the VTE risk in surgical patients one can use the Padua score [52] (table 2), and in therapeutic patients the IMPROVE score might be employed [53] (table 3).

The score by Joseph Caprini (table 4) [54] can also be used to assess the VTE risk in surgical patients. Its efficiency was proven by findings of the meta-analysis that included 11 studies and over 15 thousand patients [55]. The possibility of its usage in surgical [37, 56] and oncological ICU inpatients [57] was demonstrated. On the other hand, according to Bateman D. K., the Caprini's risk assessment model seems to fail in providing clinically useful risk stratification for patients after knee or hip endoprosthetics [58].

ICU inpatients represent an increased risk group not only for thrombosis but also for bleeding. About 80% of patient experience one or a few episodes of bleeding, though most of them are minor ones [59]. In the cohort study (11 countries, 97 Intensive Care Units, 1043 patients), 2.6% of patients hospitalized for emergency indications were found to possess clinically significant gastrointestinal hemorrhage (GIH). Of them, 4.7% of patients experienced at least one episode of obvious GIH during their stay in ICU [60]. Only three out of four ICU inpatients received drugs for at least 1 day, which reduced gastric secretion and could prevent some, but not all types of GIT hemorrhage [61]. The highest risk of VTE seems to be featured by patients receiving extracorporeal life support (ECLS). Such patients develop GIH in 13.6% of cases [62], and intracranial hemorrhage is determined in 5–7% of patients [63].

Pharmacological prophylaxis of VTE might lead to development of bleeding that might result in lethal outcome. Moreover, both bleeding and

Таблица 2. Оценка риска развития ВТЭ — шкала Padua [52].**Table 2. VTE Risk Assessment — the Padua Score [52].**

Risk Factors	Score
Immobilization (bedrest with the possibility of using a bath/toilet) due to patient's reduced mobility or physician's recommendations for ≥ 3 days	3
Active cancer (patients with metastases in regional lymph nodes or distant metastases who have received chemotherapy or radiation therapy in the recent 6 months)	3
VTE in past medical history (with the exception of superficial vein thrombosis)	3
Thrombophilia	3
Trauma or surgical intervention (≤ 1 month)	2
70 years of age and older	2
Cardiac or respiratory failure	1
Acute myocardial infarction or ischemic stroke	1
Use of hormonal replacement therapy or oral contraceptives	1
Obesity (BMI > 30 kg/m ²)	1
Acute infection and/or rheumatologic disease	1
Risk score ≥ 4	

Примечание. Для табл. 2–5: Score – баллы; high — высокий; immobilization (bedrest with the possibility of using a bath/toilet) due to patient's reduced mobility or physician's recommendations for ≥ 3 days — иммобилизация (постельный режим с возможностью пользоваться ванной/туалетом) в связи со сниженной двигательной мобильностью больного или рекомендациями врача в течение ≥ 3 дней; active cancer (patients with metastases in regional lymph nodes or distant metastases who have received chemotherapy or radiation therapy in the recent 6 months) — активный рак (пациенты с метастазами в региональные лимфоузлы или отдаленными метастазами, получающие химиотерапию или лучевую терапию в течение последних 6 месяцев); VTE in past medical history (with the exception of superficial vein thrombosis) — ВТЭ в анамнезе (за исключением тромбоза поверхностных вен); thrombophilia — тромбофилия; trauma or surgical intervention (≤ 1 month) — травма или хирургическое вмешательство (≤ 1 мес.); 70 years of age and older — возраст 70 лет и старше; cardiac or respiratory failure — сердечная или дыхательная недостаточность; acute myocardial infarction or ischemic stroke — острый инфаркт миокарда или ишемический инсульт; use of hormonal replacement therapy or oral contraceptives — использование гормональной заместительной терапии или пероральных контрацептивов; obesity (BMI > 30 kg/m²) — ожирение (ИМТ > 30 кг/м²); acute infection and/or rheumatologic disease — острая инфекция и/или ревматологическое заболевание.

Таблица 3. Оценка риска развития ВТЭ — шкала IMPROVE VTE [53].**Table 3. VTE Risk Assessment — the IMPROVE VTE score [53].**

Risk Factors	Score
VTE in past medical history	3
Thrombophilia	2
Paralysis of lower extremities	2
Active cancer	2
Immobilization ≥ 7 days	1
Stay in ICU	1
Age over 60 years	1
Low risk score — 0–1	
Intermediate risk score — 2–3	
High risk score — ≥ 4	

Примечание. VTE in past medical history — ВТЭ в анамнезе; thrombophilia — тромбофилия; paralysis of lower extremities — паралич нижних конечностей; active cancer — активный рак; immobilization ≥ 7 days — иммобилизация ≥ 7 дней; stay in ICU — нахождение в ОРИТ; age over 60 years — возраст старше 60 лет. Для табл. 3, 4: low, intermediate, high — низкий, промежуточный, высокий.

ходить индивидуально к каждому больному: оценивать риск развития как тромбозов, так и кровотечения в каждой конкретной ситуации. Проводить фармакологическую профилактику следует с учетом перечисленных рисков, предшествующей антикоагулянтной терапии и сопутствующих заболеваний (табл. 2–4) [9, 13]. Необходимо также регулярно проводить переоценку данных рисков, чаще даже, чем один раз в день, так как клиническое состояние пациента ОРИТ меняется быстро [47].

В последнее десятилетие было разработано несколько количественных моделей оценки риска ВТЭ [9, 48, 49]. Согласно многим рекомендациям [44, 50–52] для оценки риска развития ВТЭ у хирургических больных можно приме-

subsequent termination of thromboprophylaxis affects adversely the clinical outcomes of ICU patients [64]. The risk of bleeding is assessed with the aid of IMPROVE score (table 5) [65,66].

Preventive Therapy

It is believed that up to 70% of VTE cases in inpatients can be prevented [67–69]. According to the findings of three randomized controlled clinical studies (RCS) undertaken in ICU patients, DVT incidence was significantly lower in the group of patients receiving thromboprophylaxis versus the control group regardless of the type of preventive therapy [17, 70].

Thromboprophylaxis may be delivered mechanically (graduated compression garments,

Таблица 4. Оценка риска развития ВТЭ – шкала Caprini [54].

Факторы риска	Баллы
Возраст 41—60 лет	1
Отек нижних конечностей	
Варикозные вены	
Индекс массы тела > 25 кг/м ²	
Малое хирургическое вмешательство	
Сепсис (< 1 мес)	
Серьезное заболевание легких, включая пневмонию (< 1 мес)	
Прием оральных контрацептивов или заместительная гормональная терапия	
Беременность и послеродовой период (< 1 мес)	
Острый инфаркт миокарда	
Наличие в анамнезе необъяснимых мертворождений, выкидыши (срок ≥ 3 мес), преждевременные роды с токсикозом или задержка внутриутробного развития плода ХСН (< 1 мес)	
Постельный режим у нехирургического пациента	
Воспалительные заболевания толстой кишки в анамнезе	
Большое хирургическое вмешательство (< 1 мес)	
ХОБЛ	
Другие факторы риска	
Возраст 61—74 года	2
Артроскопическая хирургия	
Злокачественное новообразование	
Лапароскопическое вмешательство (длительностью > 45 мин)	
Постельный режим (> 72 ч)	
Иммобилизация конечности (< 1 мес)	
Катетеризация центральных вен	
Большое хирургическое вмешательство (длительностью > 45 мин)	
Возраст старше 75 лет	3
Анамнез ВТЭ	
Семейный анамнез ВТЭ	
Мутация Лейден	
Мутация протромбина 20210A	
Гипергомоцистеинемия	
ГИТ	
Повышенный уровень антител к кардиолипину	
Волчаночный антикоагулянт	
Другие врожденные или приобретенные тромбофилии	
Инсульт (< 1 мес)	5
Эндопротезирование крупных суставов	
Перелом костей бедра и голени (< 1 мес)	
Травма спинного мозга/паралич (< 1 мес)	
Множественная травма (< 1 мес)	
Низкий риск: 0–1 балл	
Промежуточный риск: 2 балла	
Высокий риск: 3–4 балла	
Очень высокий риск: 5 баллов и более	

Примечание. ХСН — хроническая сердечная недостаточность; ХОБЛ — Хроническая обструктивная болезнь легких; ГИТ — гепарин-индуцированная тромбоцитопения.

нять шкалу Padua [52] (табл. 2), у терапевтических — шкалу IMPROVE [53] (табл. 3).

Шкала американского профессора Joseph Caprini (табл. 4) [54] также может использоваться для оценки риска ВТЭ у больных хирургического профиля. Ее эффективность под-

Table 4. VTE Risk Assessment – the Caprini score [54].

Risk Factors	Score
41—60 years of age	1
Edema of lower extremities	
Varicose veins	
Body mass index > 25 kg/m ²	
Minor surgery	
Sepsis (<1 month)	
Severe lung disease including pneumonia (< 1 month)	
Use of oral contraceptives or replacement hormonal therapy	
Pregnancy and postpartum period (< 1 month)	
Acute myocardial infarction	
Past history of unexplainable still birth, miscarriage (term ≥ 3 months), preterm delivery with toxemia or intrauterine growth retardation	
CHF (<1 month)	
Bedrest in a non-surgical patient	
Past history of a colon inflammatory disease	
Major surgery (<1 month)	
COPD	
Other risk factors	
61—74 years of age	2
Arthroscopic surgery	
Malignant tumor	
Laparoscopic intervention (lasting for > 45 min.)	
Bedrest (> 72 hrs.)	
Extremity immobilization (< 1 month)	
Catheterization of large veins	
Major surgery (lasting for > 45 min.)	
Over 75 years of age	3
Past history of VTE	
Family history of VTE	
Leiden mutation	
20210A prothrombin mutation	
Hyperhomocysteinemia	
HIT	
Increased cardiolipin antibodies	
Lupus anticoagulant	
Other congenital or acquired thrombophilias	
Stroke (< 1 month)	5
Major joint endoprosthesis	
Fracture of femoral and lower-leg bones (< 1 month)	
Spinal cord injury/paralysis (< 1 month)	
Multitrauma (< 1 month)	
Low risk score: 0–1	
Intermediate risk score: 2	
High risk score: 3–4	
Very high risk score: 5 and more	

Note. CHF is a chronic heart failure; COPD is chronic obstructive pulmonary disease; HIT is heparin-induced thrombocytopenia.

pneumatic compression of lower extremities, muscular-venous pump of lower extremities) and/or pharmacologically (anti-thrombotic aids).

Pharmacological prophylaxis of VTE in inpatients may include anticoagulants: heparins (low-molecular heparins, LMH, or unfractionated heparins, UFH), fondaparinux, oral anticoagulants — antivitamin K (AVK) drugs, or direct oral anticoagulants (DOAC).

Heparins are the main drugs for primary pharmacological prophylaxis of VTE in ICU. Their efficacy in preventing VTE has been clearly demon-

тверждена данными метаанализа, который включил 11 исследований и более 15 тысяч пациентов [55]. Была показана возможность ее применения у хирургических [37, 56] и онкологических больных [57], находящихся в ОРИТ. С другой стороны, по данным Bateman D. K., модель оценки риска Каприни (Caprini), по-видимому, не обеспечивает клинически полезную стратификацию риска для пациентов после эндопротезирования коленного или тазобедренного суставов [58].

Пациенты, госпитализированные в ОРИТ, находятся в группе повышенного риска развития не только тромбозов, но и кровотечений. Около 80% больных имеют один или несколько эпизодов кровотечения, хотя большинство из них незначительны [59]. В когортном исследовании (11 стран, 97 отделений интенсивной терапии, 1043 пациента) у 2,6% лиц, госпитализированных по экстренным показаниям, было выявлено клинически значимое желудочно-кишечное кровотечение (ЖКК). Среди них 4,7% пациентов имели хотя бы один эпизод явного ЖКК во время пребывания в ОРИТ [60]. Только три из четырех пациентов во время пребывания в отделении интенсивной терапии не менее 1 дня получали препараты, снижавшие желудочную секрецию, которые могли предотвратить некоторые, но не все виды кровотечений из ЖКТ [61]. По-видимому, наиболее высокий риск ВТЭ имеют лица, получающие экстракорпоральную поддержку жизни (ECLS). У таких пациентов ЖКК развивается в 13,6% случаев [62], внутричерепное кровоизлияние — в 5–7% [63].

Фармакологическая профилактика ВТЭ может привести к развитию кровотечения, в результате которого возможен смертельный исход. Более того, и кровотечение и последующее прекращение тромбопрофилактики оказывает негативное влияние на клинические исходы больных ОРИТ [64]. Для оценки риска кровотечения используется шкала IMPROVE (табл. 5) [65, 66].

Проведение профилактического лечения

Считается, что до 70% случаев ВТЭ у госпитализированных пациентов можно предотвратить [67–69]. Результаты трех рандомизированных контролируемых клинических исследований (РКИ), проведенных у пациентов ОРИТ, показали, что частота ТГВ была значительно ниже в группе пациентов с тромбопрофилактикой по сравнению с контрольной группой, независимо от типа профилактического лечения [17, 70].

Тромбопрофилактика может проводиться механическим (градуированное компрессион-

strated [71, 72]. Several RCS assessed the efficacy and safety of LMH and low doses of UFH for VTE prophylaxis in patients admitted to ICU. The findings of five studies were evaluated by the authors of clinical recommendations of the American College of Chest Physicians (CHEST) in 2012 [46], and in 2013 a meta-analysis of seven RCS was published [73]. The meta-analysis data have shown that pharmacological prophylaxis reduces considerably the number of DVT (but renders no influence on the number of DVT manifesting clinically), PATE, and insignificantly increases the risk of a heavy bleeding compared to placebo [45]. LMH decreased the incidence of clinically significant PATE more efficiently (risk ratio 0.58, 95% CI [0.34–0.97]) vs. low doses of UFH (risk ratio 0.87, 95% CI [0.60–1.25]), significant bleeding (risk ratio 0.97, 95% CI [0.75–1.26]), and mortality (risk ratio 0.93, 95% CI [0.82–1.04]). Systemic review including a meta-analysis by Beitland S. et al. has shown that LMH and not UFH significantly reduced the risk of any DVT (risk ratio 0.84, 95% CI [0.71–0.98]), $P=0.03$ [74]. However, there was no significant difference between patients who received UFH or LMH in risks of PATE, significant bleeding, or mortality [74].

Stelfox HT (2019) reported the findings of a controlled study on 12 342 patients admitted to 11 ICUs, who had no counter-indications to pharmacological prophylaxis of VTE, spent in ICU more than 24 hours, and received VTE prophylaxis with LMH or unfractionated heparin [75]. There was no significant difference between the groups in mortality, length of hospital stay, or costs. The authors find LMH advantages for VTE prophylaxis in-situ unclear [75].

One multicenter study — PROTECT (Prophylaxis for Thromboembolism in Critical Care Trial) — has shown significant decrease of PATE incidence (1.3% vs. 2.3% in the control group, $P<0.01$) [16].

Patients with severe renal failure who received Dalteparin had a higher incidence of proximal DVT compared to UFH patients, but there was no significant difference between the groups in the risks of VTE or severe bleeding [76].

The efficacy and safety of fondaparinux or DOAC in intensive care patients have not been studied yet [45]. It should be noted that ICU patients possess many risk factors of bleeding due to DOAC [77]. There are limited data concerning use of these drugs for VTE prophylaxis in the ICU setting. The findings of APEX ICU study have shown that the use of betrixaban (has no marketing authorization in Russia) resulted in a lower incidence of VTE observed compared to Enoxaparinum therapy (4.27% vs. 7.95%, respectively, $P=0.042$). The incidence of a significant bleeding was similar between both groups (1.14% vs. 3.13%, $P=0.07$), while minor bleeding occurred more frequently in patients who received betrixaban (2.56% vs. 0.28%, $P=0.011$) [78–80].

Таблица 5. Оценка риска развития кровотечения — шкала IMPROVE bleeding [65, 66].**Table 5. Bleeding Risk Assessment — the IMPROVE bleeding score [65, 66].**

Risk factor	Score
GFR ¹ lower than 60 ml/min/m ²	1
Male	1
Older than 40 years of age	1.5
Active cancer	2
Rheumatologic disease	2
Presence of a central venous catheter	2
Stay in ICU	2.5
GFR lower than 30 ml/l	2.5
Hepatic impairment (INR ² over 1.5)	2.5
Older than 85 years of age	3.5
Thrombocytopenia (less than 50 thousand)	4
Bleeding occurred within 3 months prior to hospitalization	4
Active GIT ³ ulcer	4.5
High risk score: ≥ 7	

Note. ¹ — GFR is glomerular filtration rate; ² — INR is international normalized ratio; ³ — GIT is gastrointestinal tract.

Примечание. ¹ — СКФ — скорость клубочковой фильтрации; ² — ОПИТ отделение реанимации и интенсивной терапии; ³ — МНО — международное нормализованное отношение; ⁴ — ЖКТ — желудочно-кишечный тракт. Risk factor — фактор риска; score — баллы; GFR¹ lower than — снижение СКФ¹ ниже; male — мужской пол; older than 40 years of age — возраст старше 40 лет; active cancer — активный рак; rheumatologic disease — ревматологическое заболевание; presence of a central venous catheter — наличие центрального венозного катетера; stay in ICU — нахождение в ОПИТ²; hepatic impairment (INR² over...) — печеночная недостаточность (МНО² более...); thrombocytopenia (less than 50 thousand) — тромбоцитопения (менее 50 тыс); bleeding occurred within 3 months prior to hospitalization — кровотечение, возникшее в период менее 3 мес до госпитализации; active GIT³ ulcer — активная язва ЖКТ⁴; high — высокий.

ное белье, пневматическая компрессия нижних конечностей, мышечно-венозная помпа нижних конечностей) и/или фармакологическим (применение противотромботических средств) способом.

Для фармакологической профилактики ВТЭ у госпитализированных пациентов могут использоваться антикоагулянты — гепарины (низкомолекулярные — НМГ, нефракционированные — НФГ), фондапаринукс, оральные антикоагулянты — антивитамины К (АВК) или прямые оральные антикоагулянты (ПОАК).

Основными препаратами первичной фармакологической профилактики ВТЭ в ОПИТ являются гепарины. Их эффективность для предотвращения ВТЭ была четко показана [71, 72]. Несколько РКИ оценивали эффективность и безопасность применения НМГ и НФГ в низких дозах для профилактики ВТЭ у пациентов, госпитализированных в ОПИТ. Результаты пяти исследований были оценены авторами клинических рекомендаций Американского Колледжа Торакальных Врачей (АССР) в 2012 году [46], а в 2013 году был опубликован мета-анализ семи РКИ [73]. Данные мета-анализа показали, что фармакологическая профилактика значительно снижает количество ТГВ (но не влияет на количество ТГВ, проявляющихся клинически), ТЭЛА и незначительно увеличивает риск сильного кровотечения в сравнении с плацебо [45]. НМГ более эффективно снижали показатели частоты клинически значимой ТЭЛА (коэффициент риска 0,58, 95% ДИ [0,34–0,97]) по сравнению с низкими дозами НФГ (коэффициент риска 0,87, 95% ДИ [0,60–1,25]), значи-

Hence, until new RCS appear, only LMH and low doses of UFH may be used as anticoagulants for VTE prophylaxis, wherein preference should be given to LMH [45, 50].

Experts of the American Society of Hematology (ASH) have analyzed the findings of RCS that evaluated the efficacy and safety of mechanical aids for prophylaxis compared to pharmacological ones in therapeutic inpatients including those in ICU setting [50]. In absolute and relative terms, compared to pharmacological treatment, the mechanical prophylaxis seems to render insignificant or even zero influence on mortality (risk ratio 0.95, 95% CI [0.42–1.13]) [50]. The number of significant bleedings decreased when mechanical prophylaxis was used, compared to pharmacological treatment [45]. However, such complication of usage of elastic garments as development of ulcers due to pressure from stockings develops in 2.2% of patients [81]. Therefore, thromboprophylaxis with the help of mechanical aids is the only recommendation for ICU patients not receiving pharmacological prophylaxis because of counter-indications (for example, in case of a high risk of bleeding or counter-indications for an anticoagulant use) [44, 45, 47]. In such cases, it is recommended to use intermittent pneumatic compression of lower legs [45, 50, 64]. Application of combined prophylaxis (a combination of mechanical and pharmacological aids) is considered inexpedient [45, 50, 82]. Further studies are required to determine the real benefits of the combination [45].

Mechanical prophylaxis should not be prescribed for patients suffering from diseases of peripheral vessels, peripheral neuropathy or other

мого кровотечения (коэффициент риска 0,97, 95% ДИ [0,75–1,26]) и смертности (коэффициент риска 0,93, 95% ДИ [0,82–1,04]). Систематический обзор с метаанализом, проведенный Beitland S. с соавторами, показал, что НМГ по сравнению с НФГ более значимо снижали риск любого ТГВ (ОР 0,84, 95% ДИ 0,71–0,98), $p=0,03$ [74]. Однако, среди пациентов, получавших НФГ либо НМГ статистически значимых различий риска развития ТЭЛА, значимого кровотечения или смертности не выявлено [74].

Stelfox H. T. (2019) сообщил о результатах контролируемого исследования у 12342 пациентов, поступивших в 11 ОРИТ, не имевших противопоказаний к фармакологической профилактике ВТЭ и пребывавших в ОРИТ более 24 часов, которым проводилась профилактика ВТЭ НМГ, либо нефракционированным гепарином [75]. Не было никаких существенных различий между группами в отношении летальности, продолжительности пребывания в стационаре и материальных затрат. Авторы считают, что преимущества НМГ для профилактики ВТЭ в реальных условиях неясны [75].

Одно многоцентровое исследование PROTECT (Prophylaxis for Thromboembolism in Critical Care Trial) показало значительное снижение частоты развития ТЭЛА (1,3 против 2,3% в контрольной группе, $p<0,01$) [16].

Пациенты с тяжелой почечной недостаточностью, которые принимали дальтепарин, имели большую частоту проксимальных ТГВ по сравнению с пациентами на НФГ, но статистически значимой разницы в отношении риска ВТЭ или большого кровотечения между группами не было [76].

Эффективность и безопасность фондапаринукса или ПОАК у реанимационных больных пока не изучалась [45]. Следует отметить, что у больных, находящихся в ОРИТ, есть много факторов риска кровотечения на фоне приема ПОАК [77]. Имеются ограниченные данные о применении данных лекарственных средств для профилактики ВТЭ в условиях ОРИТ. Результаты исследования APEx ICU, показали, что на фоне приема бетриксабана (не зарегистрирован в России) отмечалась меньшая частота ВТЭ, чем при лечении эноксапарином (4,27 против 7,95%, соответственно, $p=0,042$). Частота возникновения значимого кровотечения была одинаковой в обеих группах (1,14 против 3,13%, $p=0,07$), в то время как малозначимые кровотечения (2,56 против 0,28%, $p=0,011$) чаще встречались у пациентов, получавших бетриксабан (2,56 против 0,28%, $p=0,011$) [78–80].

В связи с этим, пока не появятся новые РКИ, для профилактики ВТЭ в качестве антикоагулянтов могут использоваться только НМГ и низкие дозы НФГ. Предпочтение в использовании следует отдавать НМГ [45, 50].

sensory disorders, skin problems ('flimsy' skin, dermatitis, gangrene, or recently transplanted skin), allergy to therapeutic garments' material, severe edemas of legs, serious deformation of extremities, or unusual shape of legs [17]. In prescribing intermittent pneumatic compression or venous-muscular pump of lower extremities, one should bear in mind that their application must be carried out strictly in accordance with the instruction [83].

Therefore, performance of preventive care must include the following steps:

1. Individual evaluation of the risk of VTE and bleeding in each patient;
2. Selection of the method of prophylaxis based on identified risks;
3. Determination of the prophylaxis' start time;
4. Determination of the prophylaxis' length.

VTE prophylaxis methods in ICU patients based on VTE and bleeding risks are chosen as follows (fig.) [9, 44, 45, 84, 85]:

- For patients whose risk of VTE is higher than the risk of bleeding, LMH or low doses of UFH are prescribed with a preference given to LMH [9, 44];
- For subjects whose risk of bleeding is greater than the risk of VTE, mechanical thromboprophylaxis is indicated, at least until the risk of bleeding falls down.

Upon decrease of the risk of bleeding and/or arrest of bleeding events, pharmacological prophylaxis with heparins is necessary [86].

The length of preventive care varies from patient to patient and depends on the category and persistence of risk factors. As a rule, it is carried out during the whole length of patient's stay in ICU and continues after transfer to other units until discharge providing that the VTE risk remains high. According to today's guidelines, it is inexpedient to continue primary thromboprophylaxis after discharge from the hospital because the potential harm exceeds its benefit [44, 50].

Anticoagulants Usage in Patients with Impaired Renal Function

At the time of admission to ICU, almost one third of patients have creatinine clearance lower than 30 ml/min [34]. The risk of acute kidney injury (AKI) is higher in critically ill patients [64]. It is difficult to deliver thromboprophylaxis to AKI patients because a drug dose must be balanced depending on the risk of bleeding.

Choosing heparins, one must bear in mind that LMH are excreted mostly through kidneys, hence, at a reduced glomerular filtration rate (GFR) these drugs may accumulate in circulation rising the risk of bleeding [64].

Dalteparinum and Tinzaparinum have the highest molecular weight among LMH, therefore, their blood plasma concentration in humans de-

Эксперты Американского общества гематологов (American Society of Hematology, ASH) проанализировали результаты РКИ, в которых оценивалась эффективность и безопасность механических средств профилактики по сравнению с фармакологическими у госпитализированных терапевтических больных, в том числе находившихся в условиях реанимации [50]. В абсолютном и относительном выражении механическая профилактика по сравнению с фармакологической, по-видимому, имеет незначительное или даже нулевое влияние на смертность (коэффициент риска 0,95, 95% ДИ [0,42–1,13]) [50]. Количество значимых кровотечений уменьшалось при использовании механической профилактики по сравнению с фармакологическим лечением [45]. Однако, такое осложнение применения эластичного трикотажа, как развитие язв от давления, оказываемого чулками, развивается у 2,2% пациентов [81]. В связи с этим, тромбопрофилактика при помощи только механических средств рекомендуется при интенсивной терапии пациентам, которые не получают фармакологическую профилактику из-за противопоказаний (например, при высоком риске кровотечений или при наличии противопоказаний к назначению антикоагулянтов) [44, 45, 47]. В этих случаях лучше использовать перемежающуюся пневматическую компрессию голени [45, 50, 64]. Применение комбинированной профилактики (сочетание механических и фармакологических средств) считается нецелесообразной [45, 50, 82]. Необходимо проведение дальнейших исследований для определения пользы такой комбинации [45].

Механическую профилактику не следует назначать лицам с заболеваниями периферических сосудов, периферической нейропатией или другими сенсорными нарушениями, повреждениями кожных покровов (кожа по типу «папирозной бумаги», дерматит, гангрена или недавно трансплантированная кожа), наличием аллергии на материал лечебного трикотажа, тяжелыми отеками ног, серьезной деформацией конечностей или необычной формой ног [17]. При назначении перемежающейся пневматической компрессии или венозно-мышечной помпы нижних конечностей следует помнить, что их применение должно проводиться строго в соответствии с инструкцией [83].

Итак, проведение профилактического лечения должно включать следующие этапы:

1. Индивидуальная оценка риска ВТЭ и кровотечения у каждого пациента;
2. Выбор метода профилактики на основании выявленных рисков;
3. Определение времени начала профилактики;

depends on the renal function to a lesser degree compared to Enoxaparinum or Nadroparinum [87]. When usual therapeutic doses of Enoxaparinum are used, the risk of bleeding is higher in patients experiencing GFR lower than 30 ml/min compared to patients possessing higher GFR [88–90]. When GFR falls down to less than 30 ml/min., the dose of the LMH should be reduced.

LMH dosing should be adjusted based on determining the anti-factor Xa levels if available in clinical lab to decrease the risk of bleeding [44, 64]. Therefore, in Europe for VTE prophylaxis in ICU patients with severe renal failure, low doses of UFH (usual doses of Dalteparinum, or reduced doses of Enoxaparinum) are recommended [44].

UFH metabolism is less dependent on renal function and routine laboratory monitoring over this drug therapy can be carried out in any hospital (through determining the activated partial thromboplastin time — aPTT) [44]. Besides, UFH effect is reversed quickly by the use of an antidote.

Hepatic Impairment

Clotting system disturbances during acute or chronic liver failure are associated with reduced synthesis of blood-coagulation factors that increases risk of bleeding. The VTE risk in hepatic cirrhosis patients is increased [90]. There are no studies that evaluate the efficacy and safety of pharmacological prophylaxis of VTE in that patients [44]. In case of liver failure, anticoagulants should be used with caution, carefully weighing the risk of bleeding and thrombosis. Presumably, it is better to use low doses of UFH or LMH in that patients [44].

Usage of Anticoagulants during Decreased Count of Platelets

Thrombocytopenia complicates the use of anticoagulants because of the low count of platelets associated with a higher risk of bleeding [45]. Therefore, mechanical prophylaxis aids such as intermittent pneumatic compression of lower extremities should be employed in high risk patients [45]. In patients with high risk of bleeding due to decreased platelet count (less than 50,000/mm³), pneumatic compression of lower extremities or medical garments reduce the VTE risk between day 1 and 6 of the treatment.

Patient Management during Development of Heparin-Induced Thrombocytopenia

Heparin-induced thrombocytopenia (HIT) is a threatening complication that might develop after the use of any heparins as a result of an autoimmune reaction [92–94]. HIT involves formation of autoantibodies to heparin-bound platelet factor

4. Определение длительности профилактики.

Выбор методов профилактики ВТЭ у пациентов ОРИТ, основанный на рисках ВТЭ и кровотечения, осуществляется следующим образом (рис.) [9, 44, 45, 84, 85]:

- Пациентам, у которых риск ВТЭ превышает риск кровотечения, назначается НМГ или низкие дозы НФГ, предпочтение отдается НМГ [9, 44];
- Лицам с риском кровотечения, более значимым чем риск ВТЭ, показана механическая тромбопрофилактика, по крайней мере, до тех пор, пока риск кровотечения не уменьшится.

При снижении риска кровотечения и/или купировании явлений кровотечения необходима фармакологическая профилактика гепаринами [86].

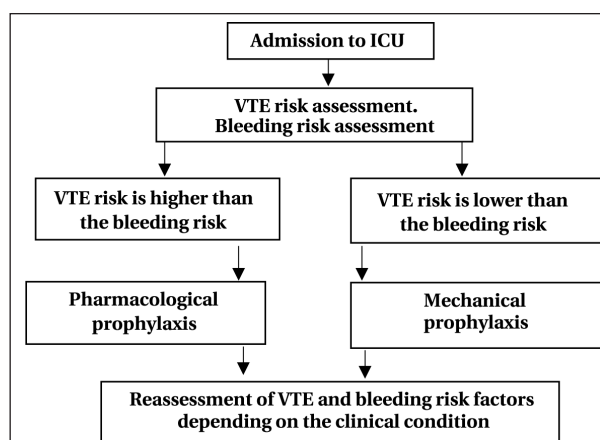
Длительность профилактического лечения индивидуальна и зависит от категории и сохранения факторов риска. Как правило, она проводится все время нахождения пациента в ОРИТ и продолжается при переводе в другие отделения вплоть до момента выписки, если риск ВТЭ остается высоким. Согласно современным рекомендациям продолжать первичную тромбопрофилактику после выписки из стационара считается нецелесообразным, так как ее потенциальный вред превышает пользу [44, 50].

Использование антикоагулянтов у пациентов со сниженной функцией почек

При поступлении в ОРИТ почти треть пациентов имеют клиренс креатинина ниже 30 мл/мин [34]. Риск развития острого повреждения почек (ОПП) выше у пациентов, находящихся в критическом состоянии [64]. Проведение тромбопрофилактики пациентам с ОПП затруднено, так как доза препаратов должна быть сбалансирована с учетом риска кровотечения.

При выборе гепаринов следует помнить, что НМГ в основном выводятся почками, и, следовательно, при снижении скорости клубочковой фильтрации (СКФ) данные лекарственные средства могут накапливаться, следовательно, повышается риск возникновения кровотечений [64].

Дальтепарин и тинзапарин имеют самый высокий молекулярный вес среди НМГ, и поэтому их концентрация в плазме крови человека в меньшей степени зависит от почечной функции по сравнению с эноксапаринном или надропарином [87]. При использовании стандартных терапевтических доз эноксапарина риск развития сильного кровотечения выше у пациентов с СКФ менее 30 мл/мин по сравнению с пациен-



Выбор метода профилактики ВТЭ.

Fig. Selection of the VTE prophylaxis method.

Примечание. Admission to ICU — поступление в ОРИТ; VTE — ВТЭ; risk — риск; assessment — оценка; bleeding — кровотечение; is higher/ lower than the — больше/ меньше, чем; pharmacological — фармакологическая; prophylaxis — профилактика; mechanical — механическая; reassessment of — повторная оценка; factors depending on the clinical condition — факторов в зависимости от клинической ситуации.

4 (PF4) [92–94], thus activating platelets and rising the risk of development of both arterial and venous thrombosis.

When HIT is suspected or proven, administration of any heparins must be stopped and other anticoagulants should be prescribed if there is no high risk of bleeding [44]. In such case, Argatroban [93, 94], Fondaparinux [95], Bivalirudin [96] are prescribed. During the use of Lepirudin, cross-reacted PF4 antibodies are generated in 5–10% of patients [97]. Warfarin should not be used until thrombocytopenia is reversed due to the risk of temporary hypercoagulation and gangrene of extremities [98]. In patients suffering from renal failure and HIT, it is better to employ Argatroban since this drug is metabolized by the liver [99].

Application of Vena Cava Filters

No RCS has been undertaken yet that would assess the role of vena cava filters in patients to whom anticoagulants are counter-indicated [44]. It is now believed that vena cava filters should be installed in patients with high risk of VTE, including ICU inpatients, only in cases of absolute counter-indications to anticoagulants and impossibility of applying pneumatic compression of lower extremities [44].

Conclusion

VTE is a common life-threatening condition that commonly develops in inpatients, which necessitates appreciation of VTE risk factors and performance of preventive measures.

тами с более высоким СКФ [88–90]. При снижении СКФ менее 30 мл/мин доза данного НМГ должна быть уменьшена.

Дозирование НМГ с учетом уровня антиХа фактора и периодическое определение данного показателя могут снизить риск развития кровотечения [44, 64], но, к сожалению, данный метод лабораторной диагностики недоступен в большинстве стационаров. Таким образом, в Европе для профилактики ВТЭ у реанимационных пациентов с тяжелой почечной недостаточностью рекомендуют применять низкие дозы НФГ, дальтепарин в обычных дозах или сниженные дозы эноксапарина [44].

Метаболизм НФГ менее зависит от функции почек, а рутинный лабораторный контроль за терапией данным препаратом может проводиться во всех стационарах (определение активированного частичного тромбопластинового времени — АЧТВ) [44]. Кроме того, действие НФГ быстро устраняется при применении антидота.

Нарушение функции печени

Нарушения системы гемостаза при острой или хронической печеночной недостаточности связаны со снижением синтеза факторов свертывания крови и, тем самым, увеличением риска кровотечений. Риск ВТЭ у пациентов с циррозом печени может быть высоким [90]. Не существует ни одного исследования, где были бы оценены эффективность и безопасность фармакологической профилактики ВТЭ у таких пациентов [44]. Применять антикоагулянты при печеночной недостаточности следует осторожно, тщательно взвешивая риск кровотечения и тромбозов. Предположительно, у таких лиц лучше использовать низкие дозы НФГ или НМГ [44].

Использование антикоагулянтов при снижении количества тромбоцитов

Тромбоцитопении затрудняют применение антикоагулянтов, так как при малом числе тромбоцитов увеличивается риск кровотечения [45], в связи с чем у таких больных должны использоваться механические средства профилактики в виде перемежающейся пневматической компрессии нижних конечностей [45]. У лиц с высоким риском кровотечения из-за снижения числа тромбоцитов (менее 50 000/мм³), пневматическая компрессия нижних конечностей или лечебный трикотаж уменьшают риск возникновения ВТЭ в сроки между 1-м и 6-м днем лечения.

Given that 70% of VTE cases can be prevented, it is necessary to carry out the pharmacological prophylaxis of the condition with LMH or UFH. In patients with absolute counter-indications to anticoagulants, mechanical methods of VTE prophylaxis (pneumatic compression) are employed. It is necessary to determine the prophylaxis period; in most cases, it includes the whole length of patient's stay in ICU, with continuation of preventive measures upon transfer to other units.

When using anticoagulants for VTE prophylaxis in ICU, one must monitor renal, hepatic and blood platelet parameters.

For patients at a high risk of VTE and absolute counter-indications to anticoagulant therapy, application of a vena cava filter might be carefully considered.

With this in mind, rational VTE prophylaxis in the ICU setting leads to a significant reduction of the total number of PATE episodes and mortality.

Acknowledgments. The work was supported by the Project of increasing competitiveness of leading Russian universities among leading international scientific and educational centers.

Conflict of interest. There is no conflict of interest.

Ведение пациентов при развитии гепарин-индуцированной тромбоцитопении

Гепарин-индуцированная тромбоцитопения (ГИТ) — это угрожающее осложнение, которое может развиваться на фоне применения любых гепаринов в результате аутоиммунного процесса [92–94]. При ГИТ происходит образование антител к связанному с гепарином 4-тромбоцитарному фактору (PF4) [92–94], тем самым активируются тромбоциты и увеличивается риск развития как артериального, так и венозного тромбоза.

В случае подозрения или подтверждения ГИТ использование любых гепаринов следует прекратить и назначить другие антикоагулянты (при отсутствии высокого риска кровотечения) [44]. В этом случае применяются аргатробан [93, 94], фондапаринукс [95], бивалирудин [96]. При использовании легирудина отмечено развитие перекрестной реакции антител к PF4 (у 5–10% пациентов) [97]. Применять варфарин до момента купирования тромбоцитопении не следует из-за риска развития временной гиперкоагуляции и гангрены конечностей [98]. У пациентов с почечной недостаточностью и ГИТ лучше применять аргатробан, так как этот препарат метаболизируется печенью [99].

Установка кава-фильтров

Пока не было проведено РКИ, которые бы оценили роль кава-фильтров у пациентов, имеющих противопоказания к применению антикоагулянтов [44]. В настоящее время считается, что установку кава-фильтров у пациентов с высоким риском ВТЭ, в том числе госпитализированных в ОРИТ, следует проводить только при наличии абсолютных противопоказаний к назначению антикоагулянтов, и у которых не может быть применена пневматическая компрессия нижних конечностей [44].

Заключение

ВТЭ является распространенным, опасным состоянием, которое часто развивается у госпитализированных пациентов, что диктует необходимость знания факторов риска ВТЭ и проведения профилактических мероприятий.

Учитывая то, что 70% случаев ВТЭ можно предотвратить, необходимо проводить его фармакологическую профилактику НМГ или НФГ. У пациентов с абсолютными противопоказаниями к назначению антикоагулянтов используются механические способы профилактики ВТЭ (пневматическая компрессия). Необходи-

мо определить сроки проведения профилактики — в большинстве случаев это весь период нахождения пациента в отделении реанимации и продолжение профилактических мер при переводе в другие отделения.

При использовании антикоагулянтов для профилактики ВТЭ в ОРИТ необходимо учитывать функцию почек, функцию печени, содержание тромбоцитов в крови и контролировать эти параметры в динамике.

У пациентов с высоким риском развития ВТЭ и абсолютными противопоказаниями к терапии антикоагулянтами может быть рассмотрен вопрос об установке кава-фильтра.

Учитывая все вышесказанное, рациональное проведение профилактики ВТЭ в условиях реанимационного отделения приводит к значительному снижению общего числа эпизодов ТЭЛА и летальности.

Благодарности. Работа поддержана «Проектом повышения конкурентоспособности ведущих российских университетов среди ведущих мировых научно-образовательных центров».

Конфликт интересов. Конфликт интересов отсутствует.

Литература

1. Benjamin E.J., Virani S.S., Callaway C.W., Chamberlain A.M., Chang A.R., Cheng S., Chiuve S.E., Cushman M., Delling F.N., Deo R., de Ferranti S.D., Ferguson J.F., Fornage M., Gillespie C., Isasi C.R., Jiménez M.C., Jordan L.C., Judd S.E., Lackland D., Lichtman J.H., Lisabeth L., Liu S., Longenecker C.T., Lutsey P.L., Mackey J.S., Matchar D.B., Matsushita K., Mussolino M.E., Nasir K., O'Flaherty M., Palaniappan L.P., Pandey A., Pandey D.K., Reeves M.J., Ritchey M.D., Rodriguez C.J., Roth G.A., Rosamond W.D., Sampson U.K.A., Satou G.M., Shah S.H., Spartano N.L., Tirschwell D.L., Tsao C.W., Voeks J.H., Willey J.Z., Wilkins J.T., Wu J.H., Alger H.M., Wong S.S., Muntner P.; American Heart Association Council on Epidemiology and Prevention Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. Heart disease and stroke statistics-2018 update: a report from the American Heart Association. *Circulation*. 2018; 137 (12): 67–492. DOI: 10.1161/CIR.0000000000000558. PMID: 29386200
2. Wendelboe A.M., Raskob G.E. Global Burden of Thrombosis: Epidemiologic Aspects. *Circ Res*. 2016; 118 (9): 1340–1347. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.115.306841. PMID: 27126645
3. Keller K., Hobohm L., Ebner M., Kresoja K.P., Munzel T., Konstantinides S.V., Lankeit M. Trends in thrombolytic treatment and outcomes of acute pulmonary embolism in Germany. *Eur Heart J*. 2020; 41, 522–529. DOI: 10.1093/eurheartj/ehz236. PMID: 31102407
4. Lehnert P., Lange T., Moller C.H., Olsen P.S., Carlsen J. Acute Pulmonary Embolism in a National Danish Cohort: Increasing Incidence and Decreasing Mortality. *Thromb Haemost*. 2018; 118 (3): 539–546. DOI: 10.1160/TH17-08-0531. PMID: 29536465
5. Cohen A.T., Agnelli G., Anderson F.A., Arcelus J.L., Bergqvist D., Brecht J.G., Greer I.A., Heit J.A., Hutchinson J.L., Kakkar A.K., Mottier D., Oger E., Samama M.M., Spannagl M.; VTE Impact Assessment Group in Europe (VITAE). Venous thromboembolism (VTE) in Europe. The number of VTE events and associated morbidity and mortality. *Thromb Haemost*. 2007; 98 (04): 756–764. DOI: 10.1160/th07-03-0212. PMID: 17938798
6. Beckman M.G., Hooper W.C., Critchley S.E., Ortel T.L. Venous thromboembolism: a public health concern. *Am J Prev Med*. 2010; 38 (4): S495–501. DOI: 10.1016/j.amepre.2009.12.017. PMID: 20331949
7. Fernandez M.M., Hogue S., Preblich R., Kwong W.J. Review of the cost of venous thromboembolism. *Clinicoecon Outcomes Res*. 2015; 7: 451–462. DOI: 10.2147/CEOR.S85635. PMID: 26355805
8. Barco S., Woerschling A.L., Spyropoulos A.C., Piovella F., Mahan C.E. European Union-28: an annualised cost-of-illness model for venous thromboembolism. *Thromb Haemost*. 2016; 115 (4): 800–808. DOI: 10.1160/TH15-08-0670. PMID: 26607486
9. Schünemann H.J., Cushman M., Burnett A.E., Kahn S.R., Beyer-Westendorf J., Spencer F.A., Rezende S.M., Zakai N.A., Bauer K.A., Dentali F., Lansing J., Balduzzi S., Darzi A., Morgano G.P., Neumann I., Nie-

References

1. Benjamin E.J., Virani S.S., Callaway C.W., Chamberlain A.M., Chang A.R., Cheng S., Chiuve S.E., Cushman M., Delling F.N., Deo R., de Ferranti S.D., Ferguson J.F., Fornage M., Gillespie C., Isasi C.R., Jiménez M.C., Jordan L.C., Judd S.E., Lackland D., Lichtman J.H., Lisabeth L., Liu S., Longenecker C.T., Lutsey P.L., Mackey J.S., Matchar D.B., Matsushita K., Mussolino M.E., Nasir K., O'Flaherty M., Palaniappan L.P., Pandey A., Pandey D.K., Reeves M.J., Ritchey M.D., Rodriguez C.J., Roth G.A., Rosamond W.D., Sampson U.K.A., Satou G.M., Shah S.H., Spartano N.L., Tirschwell D.L., Tsao C.W., Voeks J.H., Willey J.Z., Wilkins J.T., Wu J.H., Alger H.M., Wong S.S., Muntner P.; American Heart Association Council on Epidemiology and Prevention Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. Heart disease and stroke statistics-2018 update: a report from the American Heart Association. *Circulation*. 2018; 137 (12): 67–492. DOI: 10.1161/CIR.0000000000000558. PMID: 29386200
2. Wendelboe A.M., Raskob G.E. Global Burden of Thrombosis: Epidemiologic Aspects. *Circ Res*. 2016; 118 (9): 1340–1347. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.115.306841. PMID: 27126645
3. Keller K., Hobohm L., Ebner M., Kresoja K.P., Munzel T., Konstantinides S.V., Lankeit M. Trends in thrombolytic treatment and outcomes of acute pulmonary embolism in Germany. *Eur Heart J*. 2020; 41, 522–529. DOI: 10.1093/eurheartj/ehz236. PMID: 31102407
4. Lehnert P., Lange T., Moller C.H., Olsen P.S., Carlsen J. Acute Pulmonary Embolism in a National Danish Cohort: Increasing Incidence and Decreasing Mortality. *Thromb Haemost*. 2018; 118 (3): 539–546. DOI: 10.1160/TH17-08-0531. PMID: 29536465
5. Cohen A.T., Agnelli G., Anderson F.A., Arcelus J.L., Bergqvist D., Brecht J.G., Greer I.A., Heit J.A., Hutchinson J.L., Kakkar A.K., Mottier D., Oger E., Samama M.M., Spannagl M.; VTE Impact Assessment Group in Europe (VITAE). Venous thromboembolism (VTE) in Europe. The number of VTE events and associated morbidity and mortality. *Thromb Haemost*. 2007; 98 (04): 756–764. DOI: 10.1160/th07-03-0212. PMID: 17938798
6. Beckman M.G., Hooper W.C., Critchley S.E., Ortel T.L. Venous thromboembolism: a public health concern. *Am J Prev Med*. 2010; 38 (4): S495–501. DOI: 10.1016/j.amepre.2009.12.017. PMID: 20331949
7. Fernandez M.M., Hogue S., Preblich R., Kwong W.J. Review of the cost of venous thromboembolism. *Clinicoecon Outcomes Res*. 2015; 7: 451–462. DOI: 10.2147/CEOR.S85635. PMID: 26355805
8. Barco S., Woerschling A.L., Spyropoulos A.C., Piovella F., Mahan C.E. European Union-28: an annualised cost-of-illness model for venous thromboembolism. *Thromb Haemost*. 2016; 115 (4): 800–808. DOI: 10.1160/TH15-08-0670. PMID: 26607486
9. Schünemann H.J., Cushman M., Burnett A.E., Kahn S.R., Beyer-Westendorf J., Spencer F.A., Rezende S.M., Zakai N.A., Bauer K.A., Dentali F., Lansing J., Balduzzi S., Darzi A., Morgano G.P., Neumann I., Nie-

- uwlaat R., Yepes-Núñez J.J., Zhang Y., Wiercioch W. American Society of Hematology 2018 guidelines for management of venous thromboembolism: prophylaxis for hospitalized and nonhospitalized medical patients. *Blood Adv.* 2018; 2 (22): 3198–3225. DOI: 10.1182/bloodadvances.2018022954. PMID: 30482763
10. *The Lancet Haematology*. Thromboembolism: an under appreciated cause of death. *Lancet Haematol.* 2015; 2 (10): 393. DOI: 10.1016/S2352-3026 (15)00202-1. PMID: 26686033
 11. Raskob E.G. and ISTH Steering Committee for World Thrombosis Day. Venous thromboembolism: A Call for risk assessment in all hospitalised patients. *Thromb Haemost.* 2016; 116 (5): 777–779. DOI: 10.1160/TH16-09-0732. PMID: 27734070
 12. Stone J., Hangge P., Albadawi H., Wallace A., Shamoun E., Knuttien M.G., Naidu S., Oklu R. Deep vein thrombosis: pathogenesis, diagnosis, and medical management. *Cardiovasc Diagn Ther.* 2017; 7 (3): 276–284. DOI: 10.21037/cdt.2017.09.01. PMID: 29399531
 13. Achaibar K., Waldmann C. Prevention of venous thromboembolism in the critically ill patient. *J Intensive Care Soc.* 2015; 16 (3): 199–201. DOI: 10.1177/1751143715569404. PMID: 28979410
 14. Alikhan R., Peters E., Willmott R., Cohen A.T. Fatal pulmonary embolism in hospitalised patients: a necropsy review. *J Clin Pathol.* 2004; 57 (12): 1254–1257. DOI: 10.1136/jcp.2003.013581. PMID: 15563663
 15. Castellucci L.A., Wells R.S., Duffet L. Nonleg venous thrombosis in critically ill adults. *JAMA.* 2015; 313 (4): 411–412. DOI: 10.1001/jama.2014.12496. PMID: 25626038
 16. Lim W., Meade M., Lauzier F., Zarychanski R., Mehta S., Lamontagne F., Dodek P., McIntyre L., Hall R., Heels-Ansdell D., Fowler R., Pai M., Guyatt G., Crowther M.A., Warkentin T.E., Devereaux P.J., Walter S.D., Muscedere J., Herridge M., Turgeon A.F., Geerts W., Finfer S., Jacka M., Berwanger O., Ostermann M., Qushmaq I., Friedrich J.O., Cook D.J.; PROphylaxis for ThromboEmbolism in Critical Care Trial Investigators. Failure of anticoagulant thromboprophylaxis: risk factors in medical-surgical critically ill patients. *Crit Care Med.* 2015; 43 (2): 401–410. DOI: 10.1097/CCM.0000000000000713. PMID: 25474533
 17. Minet C., Pottion L., Bonadona A., Hamidfar-Roy R., Somohano C.A., Lugosi M., Cartier J.C., Ferretti G., Schwebel C., Timsit J.F. Venous thromboembolism in the ICU: main characteristics, diagnosis and thromboprophylaxis. *Crit Care.* 2015; 19: 287. DOI: 10.1186/s13054-015-1003-9. PMID: 26283414
 18. Miri M., Goharani R., Sistanizad M. Deep Vein Thrombosis among Intensive Care Unit Patients; an Epidemiologic Study. *Emerg (Tehran).* 2017; 5 (1): 13. DOI: 10.22037/emergency.v5i1.11622. PMID: 28286820
 19. Prichayudh S., Tumkosit M., Sriussadaporn S., Samorn P., Pak-art R., Sriussadaporn S., Kritayakirana K. Incidence and associated factors of deep venous thrombosis in Thai surgical ICU patients without chemoprophylaxis: one year study. *J Med Assoc Thai.* 2015; 98 (5): 472–478. PMID: 26058275
 20. Kaplan D., Casper T.C., Elliott C.G., Men S., Pendleton R.C., Kraiss L.W., Weyrich A.S., Grissom C.K., Zimmerman G.A., Rondina M.T. VTE Incidence and Risk Factors in Patients With Severe Sepsis and Septic Shock. *Chest.* 2015; 148 (5): 1224–1230. DOI: 10.1378/chest.15-0287. PMID: 26111103
 21. Dimopoulos G., Paignerelli M., Berre J., Salmon I., Vincent J.L. Post mortem examination in the intensive care unit: still useful? *Intensive Care Med.* 2004; 30 (11): 2080–2085. DOI: 10.1007/s00134-004-2448-5. PMID: 15480565
 22. Greene R., Zapol W.M., Snider M.T., Reid L., Snow R., O'Connell R.S., Novelline R.A. Early bedside detection of pulmonary vascular occlusion during acute respiratory failure. *Am Rev Respir Dis.* 1981; 124 (5): 593–601. DOI: 10.1164/arrd.1981.124.5.593. PMID: 7305115
 23. Lilly C.M., Liu X., Badawi O., Franey C.S., Zuckerman I.H. Thrombosis prophylaxis and mortality risk among critically ill adults. *Chest.* 2014; 146 (1): 51–57. DOI: 10.1378/chest.13-2160. PMID: 24722879
 24. Malato A., Dentali F., Siragusa S., Fabbiano E., Kagoma Y., Boddì M., Gensini G.F., Peris A., Crowther M., Napolitano M. The impact of deep vein thrombosis in critically ill patients: a meta-analysis of major clinical outcomes. *Blood Transfus.* 2015; 13 (4): 559–568. DOI: 10.2450/2015.0277-14. PMID: 26513770
 25. Konstantinides S.V., Meyer G., Becattini C., Bueno H., Geersing G.J., Harjola V.P., Huisman M.V., Humbert M., Jennings C.S., Jiménez D., Kucher N., Lang I.M., Lankeit M., Lorusso R., Mazzolai L., Meneveau N., Ní Áinle E., Prandoni P., Pruszczyk P., Righini M., Torbicki A., Van Belle E., Zamorano J.L.; ESC Scientific Document Group. 2019 ESC Guidelines for the diagnosis and management of acute pulmonary embolism developed in collaboration with the European Respiratory Society (ERS). *Eur Heart J.* 2019; 00: 1–61. DOI: 10.1093/eurheartj/ehz405. PMID: 31504429
 26. Barbar S., Prandoni P. Scoring systems for estimating risk of venous thromboembolism in hospitalized medical patients. *Semin Thromb Hemost.* 2017; 43 (5): 460–468. DOI: 10.1055/s-0036-1597901. PMID: 28166598
 27. Бокерия Л.А., Затевахин И.И., Кириенко А.И., Андрияшкин А.В., Андрияшкин В.В., Арутюнов Г.П., Баринов В.Е., Бицадзе В.О., Бодыхов М.К., Бритов А.Н., Бутенко А.В., Вавилова Т.В., Воробьева Н.А., Восканян Ю.Э., Гавриленко А.В., Галстян Г.М., Гельфанд Б.Р., Гиляров М.Ю., Голубев Г.Ш., Замыатин М.Н., Золотухин И.А., Кобалава Ж.Д., Кателницкий И.И., Копенкин С.С., Кузнецов М.Р., Леонтьев С.Г., Лобастов К.В., Обастов К.В., Лубнин А.Ю., Макацария А.Д., Моисеев В.С., Момот А.П., Острыкова Е.В., Панченко Е.П., Переходов С.Н., Пирадов М.А., Поддубная И.В., Покровский
 - uwlaat R., Yepes-Núñez J.J., Zhang Y., Wiercioch W. American Society of Hematology 2018 guidelines for management of venous thromboembolism: prophylaxis for hospitalized and nonhospitalized medical patients. *Blood Adv.* 2018; 2 (22): 3198–3225. DOI: 10.1182/bloodadvances.2018022954. PMID: 30482763
 10. *The Lancet Haematology*. Thromboembolism: an under appreciated cause of death. *Lancet Haematol.* 2015; 2 (10): 393. DOI: 10.1016/S2352-3026 (15)00202-1. PMID: 26686033
 11. Raskob E.G. and ISTH Steering Committee for World Thrombosis Day. Venous thromboembolism: A Call for risk assessment in all hospitalised patients. *Thromb Haemost.* 2016; 116 (5): 777–779. DOI: 10.1160/TH16-09-0732. PMID: 27734070
 12. Stone J., Hangge P., Albadawi H., Wallace A., Shamoun E., Knuttien M.G., Naidu S., Oklu R. Deep vein thrombosis: pathogenesis, diagnosis, and medical management. *Cardiovasc Diagn Ther.* 2017; 7 (3): 276–284. DOI: 10.21037/cdt.2017.09.01. PMID: 29399531
 13. Achaibar K., Waldmann C. Prevention of venous thromboembolism in the critically ill patient. *J Intensive Care Soc.* 2015; 16 (3): 199–201. DOI: 10.1177/1751143715569404. PMID: 28979410
 14. Alikhan R., Peters E., Willmott R., Cohen A.T. Fatal pulmonary embolism in hospitalised patients: a necropsy review. *J Clin Pathol.* 2004; 57 (12): 1254–1257. DOI: 10.1136/jcp.2003.013581. PMID: 15563663
 15. Castellucci L.A., Wells R.S., Duffet L. Nonleg venous thrombosis in critically ill adults. *JAMA.* 2015; 313 (4): 411–412. DOI: 10.1001/jama.2014.12496. PMID: 25626038
 16. Lim W., Meade M., Lauzier F., Zarychanski R., Mehta S., Lamontagne F., Dodek P., McIntyre L., Hall R., Heels-Ansdell D., Fowler R., Pai M., Guyatt G., Crowther M.A., Warkentin T.E., Devereaux P.J., Walter S.D., Muscedere J., Herridge M., Turgeon A.F., Geerts W., Finfer S., Jacka M., Berwanger O., Ostermann M., Qushmaq I., Friedrich J.O., Cook D.J.; PROphylaxis for ThromboEmbolism in Critical Care Trial Investigators. Failure of anticoagulant thromboprophylaxis: risk factors in medical-surgical critically ill patients. *Crit Care Med.* 2015; 43 (2): 401–410. DOI: 10.1097/CCM.0000000000000713. PMID: 25474533
 17. Minet C., Pottion L., Bonadona A., Hamidfar-Roy R., Somohano C.A., Lugosi M., Cartier J.C., Ferretti G., Schwebel C., Timsit J.F. Venous thromboembolism in the ICU: main characteristics, diagnosis and thromboprophylaxis. *Crit Care.* 2015; 19: 287. DOI: 10.1186/s13054-015-1003-9. PMID: 26283414
 18. Miri M., Goharani R., Sistanizad M. Deep Vein Thrombosis among Intensive Care Unit Patients; an Epidemiologic Study. *Emerg (Tehran).* 2017; 5 (1): 13. DOI: 10.22037/emergency.v5i1.11622. PMID: 28286820
 19. Prichayudh S., Tumkosit M., Sriussadaporn S., Samorn P., Pak-art R., Sriussadaporn S., Kritayakirana K. Incidence and associated factors of deep venous thrombosis in Thai surgical ICU patients without chemoprophylaxis: one year study. *J Med Assoc Thai.* 2015; 98 (5): 472–478. PMID: 26058275
 20. Kaplan D., Casper T.C., Elliott C.G., Men S., Pendleton R.C., Kraiss L.W., Weyrich A.S., Grissom C.K., Zimmerman G.A., Rondina M.T. VTE Incidence and Risk Factors in Patients With Severe Sepsis and Septic Shock. *Chest.* 2015; 148 (5): 1224–1230. DOI: 10.1378/chest.15-0287. PMID: 26111103
 21. Dimopoulos G., Paignerelli M., Berre J., Salmon I., Vincent J.L. Post mortem examination in the intensive care unit: still useful? *Intensive Care Med.* 2004; 30 (11): 2080–2085. DOI: 10.1007/s00134-004-2448-5. PMID: 15480565
 22. Greene R., Zapol W.M., Snider M.T., Reid L., Snow R., O'Connell R.S., Novelline R.A. Early bedside detection of pulmonary vascular occlusion during acute respiratory failure. *Am Rev Respir Dis.* 1981; 124 (5): 593–601. DOI: 10.1164/arrd.1981.124.5.593. PMID: 7305115
 23. Lilly C.M., Liu X., Badawi O., Franey C.S., Zuckerman I.H. Thrombosis prophylaxis and mortality risk among critically ill adults. *Chest.* 2014; 146 (1): 51–57. DOI: 10.1378/chest.13-2160. PMID: 24722879
 24. Malato A., Dentali F., Siragusa S., Fabbiano E., Kagoma Y., Boddì M., Gensini G.F., Peris A., Crowther M., Napolitano M. The impact of deep vein thrombosis in critically ill patients: a meta-analysis of major clinical outcomes. *Blood Transfus.* 2015; 13 (4): 559–568. DOI: 10.2450/2015.0277-14. PMID: 26513770
 25. Konstantinides S.V., Meyer G., Becattini C., Bueno H., Geersing G.J., Harjola V.P., Huisman M.V., Humbert M., Jennings C.S., Jiménez D., Kucher N., Lang I.M., Lankeit M., Lorusso R., Mazzolai L., Meneveau N., Ní Áinle E., Prandoni P., Pruszczyk P., Righini M., Torbicki A., Van Belle E., Zamorano J.L.; ESC Scientific Document Group. 2019 ESC Guidelines for the diagnosis and management of acute pulmonary embolism developed in collaboration with the European Respiratory Society (ERS). *Eur Heart J.* 2019; 00: 1–61. DOI: 10.1093/eurheartj/ehz405. PMID: 31504429
 26. Barbar S., Prandoni P. Scoring systems for estimating risk of venous thromboembolism in hospitalized medical patients. *Semin Thromb Hemost.* 2017; 43 (5): 460–468. DOI: 10.1055/s-0036-1597901. PMID: 28166598
 27. Bokeriya L.A., Zatevakhin I.I., Kirienko A.I., Andriyashkin A.V., Andriyashkin V.V., Arutyunov G.P., Barinov V.E., Bicaдзе V.O., Bodyhov M.K., Britov A.N., Butenko A.V., Vavilova T.V., Vorobeva N.A., Voskanyan Yu.E., Gavrilenko A.V., Galstyan G.M., Gelfand B.R., Gilyarov M.Yu., Golubev G.Sh., Zamyatin M.N., Zolotuhin I.A., Kobalava Zh.D., Katelnikij I.I., Kopenkin S.S., Kuznecov M.R., Leont'ev S.G., Lobastov K.V., Obastov K.V., Lubnin A.Yu., Makacariya A.D., Moiseev V.S., Momot A.P., Ostryakova E.V., Panchenko E.P., Perekhodov S.N., Piradov M.A., Poddubnaya I.V., Pokrovskij A.V., Prochenko D.N., Prudkov M.I., Pryadko

- А.В., Проценко Д.Н., Прудков М.И., Прядко С.И., Пырегов А.В., Решетняк Т.М., Рябинкина Ю.В., Сапелкин С.В., Семенова М.Н., Смирнов С.В., Соколов В.А., Стаховская Л.В., Стойко Ю.М., Сулимов В.А., Сухих Г.Т., Терещенко С.Н., Фокин А.А., Хруслов М.В., Шevela A.I., Шиманко А.И., Шулуто А.М., Явелов И.С., Яхонтов Д.И. Российские клинические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике венозных тромбозов и тромбоэмболий (ВТЭО). *Флебология*. 2015; 9 (4–2): 1–52.
28. Rovinski D., Ramos R.B., Figuera T.M., Casanova G.K., Spritzer P.M. Risk of venous thromboembolism events in postmenopausal women using oral versus non-oral hormone therapy: A systematic review and meta-analysis. *Thromb Res*. 2018; 168: 83–95. DOI: 10.1016/j.thromres.2018.06.014. PMID: 29936403
 29. Chew H.K., Wun T., Harvey D., Zhou H., White R.H. Incidence of venous thromboembolism and its effect on survival among patients with common cancers. *Arch Intern Med*. 2006; 166 (4): 458–464. DOI: 10.1001/archinte.166.4.458. PMID: 16505267
 30. Timp J.F., Braekkan S.K., Versteeg H.H., Cannegieter S.C. Epidemiology of cancer-associated venous thrombosis. *Blood*. 2013; 122 (10): 1712–1723. DOI: 10.1182/blood-2013-04-460121. PMID: 23908465
 31. van Vlijmen E.F., Wiewel-Verschueren S., Monster T.B., Meijer K. Combined oral contraceptives, thrombophilia and the risk of venous thromboembolism: a systematic review and meta-analysis. *J Thromb Haemost*. 2016; 14 (7): 1393–1403. DOI: 10.1111/jth.13349. PMID: 27121914
 32. Piazza G., Goldhaber S.Z., Lessard D.M., Goldberg R.J., Emery C., Spencer F.A. Venous thromboembolism in patients with symptomatic atherosclerosis. *Thromb Haemost*. 2011; 106 (6): 1095–1102. DOI: 10.1160/TH11-07-0469. PMID: 22012325
 33. Fontaine G.V., Vigil E., Wohlt P.D., Lloyd J.F., Evans R.S., Collingridge D.S., Stevens S.M., Woller S.C. Venous Thromboembolism in Critically Ill Medical Patients Receiving Chemoprophylaxis: A Focus on Obesity and Other Risk Factors. *Clin Appl Thromb Hemost*. 2016; 22 (3): 265–273. DOI: 10.1177/1076029615604048. PMID: 26346440
 34. Venous thromboembolism in over 16s: reducing the risk of hospital-acquired deep vein thrombosis or pulmonary embolism. *NICE*. 2018. URL: <https://www.nice.org.uk/guidance/ng89> (30 oct 2019).
 35. Cook D., Crowther M., Meade M., Rabbat C., Griffith L., Schiff D., Geerts W., Guyatt G. Deep venous thrombosis in medical-surgical critically ill patients: prevalence, incidence, and risk factors. *Crit Care Med*. 2005; 33 (7): 1565–1571. DOI: 10.1097/01.CCM.0000171207.95319.B2. PMID: 16003063
 36. Kumar A., Mehta Y., Ali T., Gupta M.K., George J.V. Deep vein thrombosis in medical and surgical Intensive Care Unit patients in a Tertiary Care Centre in North India: Incidence and risk factors. *J Anaesthesiol Clin Pharmacol*. 2017; 33 (2): 181–186. DOI: 10.4103/0970-9185.209760. PMID: 28781442
 37. Hunt B.J. Preventing Venous Thromboembolism in the Critically Ill — Can We do More? *J Intensive Care Soc*. 2014; 15 (3): 3–5. DOI: 10.1177/17511437140151S302
 38. Zhang Ch., Zhang Z., Mi J., Wang X., Zou Y., Chen X., Nie Z., Luo X., Gan R. The cumulative venous thromboembolism incidence and risk factors in intensive care patients receiving the guideline-recommended thromboprophylaxis. *Medicine (Baltimore)*. 2019; 98 (23): 15833. DOI: 10.1097/MD.00000000000015833. PMID: 31169685
 39. Viarasilpa T., Panyavachiraporn N., Marashi S.M., Van Harn M., Kowalski R.G., Mayer S.A. Prediction of Symptomatic Venous Thromboembolism in Critically Ill Patients: The ICU-Venous Thromboembolism Score. *Crit Care Med*. 2020. DOI: 10.1097/CCM.0000000000004306. PMID: 32187076
 40. White D., Woller S.C., Stevens S.M., Collingridge D.S., Chopra V., Fontaine G.V. Comparative thrombosis risk of vascular access devices among critically ill medical patients. *Thromb Res*. 2018; 172: 54–60. DOI: 10.1016/j.thromres.2018.10.013. PMID: 30384035
 41. Kaplan D., Casper T.C., Elliott C.G., Men S., Pendleton R.C., Kraiss L.W., Weyrich A.S., Grissom C.K., Zimmerman G.A., Rondina M.T. VTE Incidence and Risk Factors in Patients With Severe Sepsis and Septic Shock. *Chest*. 2015; 148 (5): 1224–1230. DOI: 10.1378/chest.15-0287. PMID: 26111103
 42. Kovačič A.P.M., Caprnda M., Mrhar A., Kubatka P., Locatelli I., Zolakov B., Gaspar L., Prosecky R., Kruzliak P., Staffa R., Rodrigo L., Radonak J., Petrovič D. Impact of drugs on venous thromboembolism risk in surgical patients. *Eur J Clin Pharmacol*. 2019; 75 (6): 751–767. DOI: 10.1007/s00228-019-02636-x. PMID: 30719565
 43. Jönsson A.K., Schill J., Olsson H., Spigset O., Hägg S. Venous Thromboembolism During Treatment with Antipsychotics: A Review of Current Evidence. *CNS Drugs*. 2018; 32 (1): 47–64. DOI: 10.1007/s40263-018-0495-7. PMID: 29423659
 44. Masopust J., Bazantova V., Kuca K., Klimova B., Valis M. Venous Thromboembolism as an Adverse Effect During Treatment With Olanzapine: A Case Series. *Front Psychiatry*. 2019; 10: 330. DOI: 10.3389/fpsy.2019.00330. PMID: 31156478
 45. Duranteau J., Taccone ES., Verhamme P., Ageno W.; ESA VTE Guidelines Task Force. European guidelines on perioperative venous thromboembolism prophylaxis: Intensive care. *Eur J Anaesthesiol*. 2018; 35 (2): 142–146. DOI: 10.1097/EJA.0000000000000707. PMID: 29112545
 46. Kahn S.R., Lim W., Dunn A.S., Cushman M., Dentali F., Akl E.A., Cook D.J., Balekian A.A., Klein R.C., Le H., Schulman S., Murad M.H. Prevention of VTE in nonsurgical patients: Antithrombotic Therapy and
 - S.I., Pyregov A.V., Reshetnyak T.M., Ryabinkina Yu. V., Sapelkin S.V., Semenova M.N., Smirnov S.V., Sokolov V.A., Stakhovskaya L.V., Stojko Yu.M., Sulimov V.A., Sukhikh G.T., Tereshchenko S.N., Fokin A.A., Hruslov M.V., Shevela A.I., Shimanko A.I., Shuluto A.M., Yavelov I.S., Yakhontov D.I. Russian clinical guidelines for the diagnosis, treatment and prevention of venous thromboembolic complications (VTEC). *Flebologiya*. 2015; 9 (4–2): 1–52.
 28. Rovinski D., Ramos R.B., Figuera T.M., Casanova G.K., Spritzer P.M. Risk of venous thromboembolism events in postmenopausal women using oral versus non-oral hormone therapy: A systematic review and meta-analysis. *Thromb Res*. 2018; 168: 83–95. DOI: 10.1016/j.thromres.2018.06.014. PMID: 29936403
 29. Chew H.K., Wun T., Harvey D., Zhou H., White R.H. Incidence of venous thromboembolism and its effect on survival among patients with common cancers. *Arch Intern Med*. 2006; 166 (4): 458–464. DOI: 10.1001/archinte.166.4.458. PMID: 16505267
 30. Timp J.F., Braekkan S.K., Versteeg H.H., Cannegieter S.C. Epidemiology of cancer-associated venous thrombosis. *Blood*. 2013; 122 (10): 1712–1723. DOI: 10.1182/blood-2013-04-460121. PMID: 23908465
 31. van Vlijmen E.F., Wiewel-Verschueren S., Monster T.B., Meijer K. Combined oral contraceptives, thrombophilia and the risk of venous thromboembolism: a systematic review and meta-analysis. *J Thromb Haemost*. 2016; 14 (7): 1393–1403. DOI: 10.1111/jth.13349. PMID: 27121914
 32. Piazza G., Goldhaber S.Z., Lessard D.M., Goldberg R.J., Emery C., Spencer F.A. Venous thromboembolism in patients with symptomatic atherosclerosis. *Thromb Haemost*. 2011; 106 (6): 1095–1102. DOI: 10.1160/TH11-07-0469. PMID: 22012325
 33. Fontaine G.V., Vigil E., Wohlt P.D., Lloyd J.F., Evans R.S., Collingridge D.S., Stevens S.M., Woller S.C. Venous Thromboembolism in Critically Ill Medical Patients Receiving Chemoprophylaxis: A Focus on Obesity and Other Risk Factors. *Clin Appl Thromb Hemost*. 2016; 22 (3): 265–273. DOI: 10.1177/1076029615604048. PMID: 26346440
 34. Venous thromboembolism in over 16s: reducing the risk of hospital-acquired deep vein thrombosis or pulmonary embolism. *NICE*. 2018. URL: <https://www.nice.org.uk/guidance/ng89> (30 oct 2019).
 35. Cook D., Crowther M., Meade M., Rabbat C., Griffith L., Schiff D., Geerts W., Guyatt G. Deep venous thrombosis in medical-surgical critically ill patients: prevalence, incidence, and risk factors. *Crit Care Med*. 2005; 33 (7): 1565–1571. DOI: 10.1097/01.CCM.0000171207.95319.B2. PMID: 16003063
 36. Kumar A., Mehta Y., Ali T., Gupta M.K., George J.V. Deep vein thrombosis in medical and surgical Intensive Care Unit patients in a Tertiary Care Centre in North India: Incidence and risk factors. *J Anaesthesiol Clin Pharmacol*. 2017; 33 (2): 181–186. DOI: 10.4103/0970-9185.209760. PMID: 28781442
 37. Hunt B.J. Preventing Venous Thromboembolism in the Critically Ill — Can We do More? *J Intensive Care Soc*. 2014; 15 (3): 3–5. DOI: 10.1177/17511437140151S302
 38. Zhang Ch., Zhang Z., Mi J., Wang X., Zou Y., Chen X., Nie Z., Luo X., Gan R. The cumulative venous thromboembolism incidence and risk factors in intensive care patients receiving the guideline-recommended thromboprophylaxis. *Medicine (Baltimore)*. 2019; 98 (23): 15833. DOI: 10.1097/MD.00000000000015833. PMID: 31169685
 39. Viarasilpa T., Panyavachiraporn N., Marashi S.M., Van Harn M., Kowalski R.G., Mayer S.A. Prediction of Symptomatic Venous Thromboembolism in Critically Ill Patients: The ICU-Venous Thromboembolism Score. *Crit Care Med*. 2020. DOI: 10.1097/CCM.0000000000004306. PMID: 32187076
 40. White D., Woller S.C., Stevens S.M., Collingridge D.S., Chopra V., Fontaine G.V. Comparative thrombosis risk of vascular access devices among critically ill medical patients. *Thromb Res*. 2018; 172: 54–60. DOI: 10.1016/j.thromres.2018.10.013. PMID: 30384035
 41. Kaplan D., Casper T.C., Elliott C.G., Men S., Pendleton R.C., Kraiss L.W., Weyrich A.S., Grissom C.K., Zimmerman G.A., Rondina M.T. VTE Incidence and Risk Factors in Patients With Severe Sepsis and Septic Shock. *Chest*. 2015; 148 (5): 1224–1230. DOI: 10.1378/chest.15-0287. PMID: 26111103
 42. Kovačič A.P.M., Caprnda M., Mrhar A., Kubatka P., Locatelli I., Zolakov B., Gaspar L., Prosecky R., Kruzliak P., Staffa R., Rodrigo L., Radonak J., Petrovič D. Impact of drugs on venous thromboembolism risk in surgical patients. *Eur J Clin Pharmacol*. 2019; 75 (6): 751–767. DOI: 10.1007/s00228-019-02636-x. PMID: 30719565
 43. Jönsson A.K., Schill J., Olsson H., Spigset O., Hägg S. Venous Thromboembolism During Treatment with Antipsychotics: A Review of Current Evidence. *CNS Drugs*. 2018; 32 (1): 47–64. DOI: 10.1007/s40263-018-0495-7. PMID: 29423659
 44. Masopust J., Bazantova V., Kuca K., Klimova B., Valis M. Venous Thromboembolism as an Adverse Effect During Treatment With Olanzapine: A Case Series. *Front Psychiatry*. 2019; 10: 330. DOI: 10.3389/fpsy.2019.00330. PMID: 31156478
 45. Duranteau J., Taccone ES., Verhamme P., Ageno W.; ESA VTE Guidelines Task Force. European guidelines on perioperative venous thromboembolism prophylaxis: Intensive care. *Eur J Anaesthesiol*. 2018; 35 (2): 142–146. DOI: 10.1097/EJA.0000000000000707. PMID: 29112545
 46. Kahn S.R., Lim W., Dunn A.S., Cushman M., Dentali F., Akl E.A., Cook D.J., Balekian A.A., Klein R.C., Le H., Schulman S., Murad M.H. Prevention of VTE in nonsurgical patients: Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis, 9th ed: American College of Chest Physi-

- Prevention of Thrombosis, 9th ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. *Chest*. 2012; 141 (2): e195S–e226S. DOI: 10.1378/chest.11-2296. PMID: 22315261
47. Arabi Y.M., Burns K.E.A., Alsolamy S.J., Alshahrani M.S., Al-Hameed F.M., Arshad Z., Almaani M., Hawa H., Mandourah Y., Almekhlafi G.A., Al-Aithan A., Khalid I., Rifai J., Rasool G., Abdukahil S.A.I., Jose J., Afesh L.Y., Al-Dawood A.; Saudi Critical Care Trials Group. Surveillance or no surveillance ultrasonography for deep vein thrombosis and outcomes of critically ill patients: a pre-planned sub-study of the PREVENT trial. *Intensive Care Med.* 2020; 46 (4): 737–746. DOI: 10.1007/s00134-019-05899-1. PMID: 32095845
 48. Greene M.T., Spyropoulos A.C., Chopra V., Grant P.J., Kaatz S., Bernstein S.J., Flanders S.A. Validation of Risk Assessment Models of Venous Thromboembolism in Hospitalized Medical Patients. *Am J Med.* 2016; 129 (9): 1001.e9–1001.e18. DOI: 10.1016/j.amjmed.2016.03.031. PMID: 27107925
 49. Stuck A.K., Spirk D., Schaudt J., Kucher N. Risk assessment models for venous thromboembolism in acutely ill medical patients. A systematic review. *Thromb Haemost.* 2017; 117 (4): 801–808. DOI: 10.1160/TH16-08-0631. PMID: 28150851
 50. Schünemann H.J., Cushman M., Burnett A.E., Kahn S.R., Beyer-Westendorf J., Spencer F.A., Rezende S.M., Zakai N.A., Bauer K.A., Dentali F., Lansing J., Balduzzi S., Darzi A., Morgano G.P., Neumann I., Nieuwlaar R., Yepes-Nuñez J.J., Zhang Y., Wiercioch W. American Society of Hematology 2018 guidelines for management of venous thromboembolism: prophylaxis for hospitalized and nonhospitalized medical patients. *Blood Adv.* 2018; 2 (22): 3198–3225. DOI: 10.1182/bloodadvances.2018022954. PMID: 30482763
 51. Новикова Н.А., Шилова А.С. Профилактика венозных тромбозомболических осложнений в терапевтической практике. *Медицинский совет*. 2017; 7: 43–47. DOI: 10.21518/2079-701X-2017-7-43-47.
 52. Barbar S., Noventa F., Rossetto V., Ferrari A., Brandolin B., Perlati M., De Bon E., Tormene D., Pagnan A., Prandoni P. A risk assessment model for the identification of hospitalized medical patients at risk for venous thromboembolism: the Padua Prediction Score. *J Thromb Haemost.* 2010; 8 (11): 2450–2457. DOI: 10.1111/j.1538-7836.2010.04044.x. PMID: 20738765
 53. Spyropoulos A.C., Anderson E.A. Jr., FitzGerald G., Decousus H., Pini M., Chong B.H., Zolt R.B., Bergmann J.F., Tapson V., Froehlich J.B., Monreal M., Merli G.J., Pavanello R., Turpie A.G.G., Nakamura M., Piovello F., Kakkar A.K., Spencer F.A.; IMPROVE Investigators. Predictive and associative models to identify hospitalized medical patients at risk for VTE. *Chest*. 2011; 140 (3): 706–714. DOI: 10.1378/chest.10-1944. PMID: 21436241
 54. Caprini J.A. Thrombotic risk assessment: a hybrid approach [Электронный ресурс]. <http://www.venousdisease.com/Publications/J.A.Caprini-Hybrid-Approach-3-10-05.pdf>. Accessed 01.08.17 <http://www.venousdisease.com/Publication>. DOI: 10.1016/B978-012369515-4/50044-2
 55. Pannucci C.J., Swistun L., MacDonald J.K., Henke P.K., Brooke B.S. Individualized Venous Thromboembolism Risk Stratification Using the 2005 Caprini Score to Identify the Benefits and Harms of Chemoprophylaxis in Surgical Patients: A Meta-analysis. *Ann Surg.* 2017; 265 (6): 1094–1103. DOI: 10.1097/SLA.0000000000002126. PMID: 28106607
 56. Fu Y., Liu Y., Chen S., Jin Y., Jiang H. The combination of Caprini risk assessment scale and thrombotic biomarkers to evaluate the risk of venous thromboembolism in critically ill patients. *Medicine (Baltimore)*. 2018; 97 (47): 13232. DOI: 10.1097/MD.00000000000013232. PMID: 30461624
 57. Xu J.X., Dong J., Ren H., Chen X.J., Yang Y., Chen R.X., Wang G.D., Wang H.Z. Incidence and risk assessment of venous thromboembolism in cancer patients admitted to intensive care unit for postoperative care. *J BUON*. 2018; 23: 500–506. PMID: 29745099
 58. Bateman D.K., Dow R.W., Brzezinski A., Bar-Eli H.Y., Kayiaros S.T. Response to the Letter to the Editor on «Correlation of the Caprini Score and Venous Thromboembolism Incidence Following Primary Total Joint Arthroplasty-Results of a Single-Institution Protocol». *J Arthroplasty*. 2018; 33 (8): 2698–2699. DOI: 10.1016/j.arth.2018.03.064. PMID: 29735184
 59. Arnold D.M., Donahoe L., Clarke E.J., Tkaczyk A.J., Heels-Ansdell D., Zytaruk N., Cook R., Weibert K.E., McDonald E., Cook D.J. Bleeding during critical illness: a prospective cohort study using a new measurement tool. *Clin Invest Med.* 2007; 30 (2): 93–102. DOI: 10.25011/cim.v30i2.985. PMID: 17716547
 60. Krag M., Perner A., Wetterslev J., Wise M.P., Borthwick M., Bendel S., McArthur C., Cook D., Nielsen N., Pelosi P., Keus F., Guttormsen A.B., Moller A.D., Moller M.H.; SUP-ICU co-authors. Prevalence and outcome of gastrointestinal bleeding and use of acid suppressants in acutely ill adult intensive care patients. *Intensive Care Med.* 2015; 41 (5): 833–845. DOI: 10.1007/s00134-015-3725-1. PMID: 25860444
 61. Marker S., Krag M., Moller M.H. What's new with stress ulcer prophylaxis in the ICU? *Intensive Care Med.* 2017; 43 (8): 1132–1134. DOI: 10.1007/s00134-017-4733-0. PMID: 28238056
 62. Mazzeff M., Kiefer J., Greenwood J., Tanaka K., Menaker J., Kon Z., Sanchez P., Pham S., Herr D. Epidemiology of gastrointestinal bleeding in adult patients on extracorporeal life support. *Intensive Care Med.* 2015; 41 (11): 2015. DOI: 10.1007/s00134-015-4006-8. PMID: 26264245
 63. Luyt C.E., Brechot N., Demondion P., Jovanovic T., Hékimian G., Lebret G., Nieszkowska A., Schmidt M., Trouillet J.L., Leprince P., Chancians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. *Chest*. 2012; 141 (2): e195S–e226S. DOI: 10.1378/chest.11-2296. PMID: 22315261
 47. Arabi Y.M., Burns K.E.A., Alsolamy S.J., Alshahrani M.S., Al-Hameed F.M., Arshad Z., Almaani M., Hawa H., Mandourah Y., Almekhlafi G.A., Al-Aithan A., Khalid I., Rifai J., Rasool G., Abdukahil S.A.I., Jose J., Afesh L.Y., Al-Dawood A.; Saudi Critical Care Trials Group. Surveillance or no surveillance ultrasonography for deep vein thrombosis and outcomes of critically ill patients: a pre-planned sub-study of the PREVENT trial. *Intensive Care Med.* 2020; 46 (4): 737–746. DOI: 10.1007/s00134-019-05899-1. PMID: 32095845
 48. Greene M.T., Spyropoulos A.C., Chopra V., Grant P.J., Kaatz S., Bernstein S.J., Flanders S.A. Validation of Risk Assessment Models of Venous Thromboembolism in Hospitalized Medical Patients. *Am J Med.* 2016; 129 (9): 1001.e9–1001.e18. DOI: 10.1016/j.amjmed.2016.03.031. PMID: 27107925
 49. Stuck A.K., Spirk D., Schaudt J., Kucher N. Risk assessment models for venous thromboembolism in acutely ill medical patients. A systematic review. *Thromb Haemost.* 2017; 117 (4): 801–808. DOI: 10.1160/TH16-08-0631. PMID: 28150851
 50. Schünemann H.J., Cushman M., Burnett A.E., Kahn S.R., Beyer-Westendorf J., Spencer F.A., Rezende S.M., Zakai N.A., Bauer K.A., Dentali F., Lansing J., Balduzzi S., Darzi A., Morgano G.P., Neumann I., Nieuwlaar R., Yepes-Nuñez J.J., Zhang Y., Wiercioch W. American Society of Hematology 2018 guidelines for management of venous thromboembolism: prophylaxis for hospitalized and nonhospitalized medical patients. *Blood Adv.* 2018; 2 (22): 3198–3225. DOI: 10.1182/bloodadvances.2018022954. PMID: 30482763
 51. Novikova N.A., Shilova A.S. Профилактика венозных тромбозомболических осложнений в терапевтической практике. *Медицинский совет*. 2017; 7: 43–47 [In Russ.]. DOI: 10.21518/2079-701X-2017-7-43-47.
 52. Barbar S., Noventa F., Rossetto V., Ferrari A., Brandolin B., Perlati M., De Bon E., Tormene D., Pagnan A., Prandoni P. A risk assessment model for the identification of hospitalized medical patients at risk for venous thromboembolism: the Padua Prediction Score. *J Thromb Haemost.* 2010; 8 (11): 2450–2457. DOI: 10.1111/j.1538-7836.2010.04044.x. PMID: 20738765
 53. Spyropoulos A.C., Anderson E.A. Jr., FitzGerald G., Decousus H., Pini M., Chong B.H., Zolt R.B., Bergmann J.F., Tapson V., Froehlich J.B., Monreal M., Merli G.J., Pavanello R., Turpie A.G.G., Nakamura M., Piovello F., Kakkar A.K., Spencer F.A.; IMPROVE Investigators. Predictive and associative models to identify hospitalized medical patients at risk for VTE. *Chest*. 2011; 140 (3): 706–714. DOI: 10.1378/chest.10-1944. PMID: 21436241
 54. Caprini J.A. Thrombotic risk assessment: a hybrid approach [Электронный ресурс]. <http://www.venousdisease.com/Publications/J.A.Caprini-Hybrid-Approach-3-10-05.pdf>. Accessed 01.08.17 <http://www.venousdisease.com/Publication>. DOI: 10.1016/B978-012369515-4/50044-2
 55. Pannucci C.J., Swistun L., MacDonald J.K., Henke P.K., Brooke B.S. Individualized Venous Thromboembolism Risk Stratification Using the 2005 Caprini Score to Identify the Benefits and Harms of Chemoprophylaxis in Surgical Patients: A Meta-analysis. *Ann Surg.* 2017; 265 (6): 1094–1103. DOI: 10.1097/SLA.0000000000002126. PMID: 28106607
 56. Fu Y., Liu Y., Chen S., Jin Y., Jiang H. The combination of Caprini risk assessment scale and thrombotic biomarkers to evaluate the risk of venous thromboembolism in critically ill patients. *Medicine (Baltimore)*. 2018; 97 (47): 13232. DOI: 10.1097/MD.00000000000013232. PMID: 30461624
 57. Xu J.X., Dong J., Ren H., Chen X.J., Yang Y., Chen R.X., Wang G.D., Wang H.Z. Incidence and risk assessment of venous thromboembolism in cancer patients admitted to intensive care unit for postoperative care. *J BUON*. 2018; 23: 500–506. PMID: 29745099
 58. Bateman D.K., Dow R.W., Brzezinski A., Bar-Eli H.Y., Kayiaros S.T. Response to the Letter to the Editor on «Correlation of the Caprini Score and Venous Thromboembolism Incidence Following Primary Total Joint Arthroplasty-Results of a Single-Institution Protocol». *J Arthroplasty*. 2018; 33 (8): 2698–2699. DOI: 10.1016/j.arth.2018.03.064. PMID: 29735184
 59. Arnold D.M., Donahoe L., Clarke E.J., Tkaczyk A.J., Heels-Ansdell D., Zytaruk N., Cook R., Weibert K.E., McDonald E., Cook D.J. Bleeding during critical illness: a prospective cohort study using a new measurement tool. *Clin Invest Med.* 2007; 30 (2): 93–102. DOI: 10.25011/cim.v30i2.985. PMID: 17716547
 60. Krag M., Perner A., Wetterslev J., Wise M.P., Borthwick M., Bendel S., McArthur C., Cook D., Nielsen N., Pelosi P., Keus F., Guttormsen A.B., Moller A.D., Moller M.H.; SUP-ICU co-authors. Prevalence and outcome of gastrointestinal bleeding and use of acid suppressants in acutely ill adult intensive care patients. *Intensive Care Med.* 2015; 41 (5): 833–845. DOI: 10.1007/s00134-015-3725-1. PMID: 25860444
 61. Marker S., Krag M., Moller M.H. What's new with stress ulcer prophylaxis in the ICU? *Intensive Care Med.* 2017; 43 (8): 1132–1134. DOI: 10.1007/s00134-017-4733-0. PMID: 28238056
 62. Mazzeff M., Kiefer J., Greenwood J., Tanaka K., Menaker J., Kon Z., Sanchez P., Pham S., Herr D. Epidemiology of gastrointestinal bleeding in adult patients on extracorporeal life support. *Intensive Care Med.* 2015; 41 (11): 2015. DOI: 10.1007/s00134-015-4006-8. PMID: 26264245
 63. Luyt C.E., Brechot N., Demondion P., Jovanovic T., Hékimian G., Lebret G., Nieszkowska A., Schmidt M., Trouillet J.L., Leprince P., Cha-

- stre J., Combes A. Brain injury during venovenous extracorporeal membrane oxygenation. *Intensive Care Med.* 2016; 42 (5): 897–907. DOI: 10.1007/s00134-016-4318-3. PMID: 27007107
64. Ejaz A., Ahmed M.M., Tasleem A., Rafay Khan Niazi M., Ahsraf M.E., Ahmad I., Zakir A., Raza A. Thromboprophylaxis in Intensive Care Unit Patients: A Literature Review. *Cureus.* 2018; 10 (9): e3341. DOI: 10.7759/cureus.3341. PMID: 30473974
 65. Hostler D.C., Marx E.S., Moores L.K., Petteys S.K., Hostler J.M., Mitchell J.D., Holley P.R., Collen J.F., Foster B.E., Holley A.B. Validation of the International Medical Prevention Registry on Venous Thromboembolism Bleeding Risk Score. *Chest.* 2016; 149 (2): 372–379. DOI: 10.1378/chest.14-2842. PMID: 26867833
 66. Rosenberg D.J., Press A., Fishbein J., Lesser M., McCullagh L., McGinn T., Spyropoulos A.C. External validation of the IMPROVE bleeding risk assessment model in medical patients. *Thromb Haemost.* 2016; 116 (3): 530–536. DOI: 10.1160/TH16-01-0003. PMID: 27307054
 67. Zeidan A.M., Streiff M.B., Lau B.D., Ahmed S.R., Kraus P.S., Hobson D.B., Carolan H., Lambrianidi C., Horn P.B., Shermock K.M., Tinoco G., Siddiqui S., Haut E.R. Impact of a venous thromboembolism prophylaxis «smart order set»: Improved compliance, fewer events. *Am J Hematol.* 2013; 88 (7): 545–549. DOI: 10.1002/ajh.23450. PMID: 23553743
 68. Mitchell J.D., Collen J.F., Petteys S., Holley A.B. A simple reminder system improves venous thromboembolism prophylaxis rates and reduces thrombotic events for hospitalized patients. *J Thromb Haemost.* 2012; 10 (2): 236–243. DOI: 10.1111/j.1538-7836.2011.04599.x. PMID: 22188121
 69. Lau B.D., Haut E.R. Practices to prevent venous thromboembolism: a brief review. *BMJ Qual Saf.* 2014; 23 (3): 187–195. DOI: 10.1136/bmjqs-2012-001782. PMID: 23708438
 70. Cade J.F. High risk of the critically ill for venous thromboembolism. *Crit Care Med.* 1982; 10 (7): 448–450. DOI: 10.1097/00003246-198207000-00006. PMID: 7044682
 71. Welsby I., Ortel T.L. Is the time for individualized thromboprophylaxis regimens in ICU? *Crit Care Med.* 2015; 43 (2): 500–501. DOI: 10.1097/CCM.0000000000000784. PMID: 25599484
 72. Boonyawat K., Crowther M.A. Venous thromboembolism prophylaxis in critically ill patients. *Semin Thromb Hemost.* 2015; 41 (1): 68–74. DOI: 10.1055/s-0034-1398386. PMID: 25594495
 73. Alhazzani W., Lim W., Jaeschke R.Z., Murad M.H., Cade J., Cook D.J. Heparin thromboprophylaxis in medical-surgical critically ill patients: a systematic review and meta-analysis of randomized trials. *Crit Care Med.* 2013; 41 (9): 2088–2098. DOI: 10.1097/CCM.0b013e31828cf104. PMID: 23782973
 74. Beitland S., Sandven I., Kjærøvik L.K., Sandset P.M., Sunde K., Eken T. Thromboprophylaxis with low molecular weight heparin versus unfractionated heparin in intensive care patients: a systematic review with meta-analysis and trial sequential analysis. *Intensive Care Med.* 2015; 41 (7): 1209–1219. DOI: 10.1007/s00134-015-3840-z. PMID: 25971389
 75. Stelfox H.T., Brundin-Mather R., Soo A., Parsons Leigh J., Niven D.J., Fiest K.M., Doig C.J., Zuege D.J., Kushner B., Clement F., Straus S.E., Cook D.J., Bagshaw S.M., Sauro K.M. A multicentre controlled pre-post trial of an implementation science intervention to improve venous thromboembolism prophylaxis in critically ill patients. *Intensive Care Med.* 2019; 45 (2): 211–222. DOI: 10.1007/s00134-019-05532-1. PMID: 30707246
 76. Pai M., Adhikari N.K.J., Ostermann M., Heels-Ansdell D., Douketis J.D., Skrobik Y., Qushmaq I., Meade M., Guyatt G., Geerts W., Walsh M.W., Crowther M.A., Friedrich J.O., Burry L., Bellomo R., Brandão da Silva N., Costa Filho R., Cox M.J., Alves Silva S., Cook D.J., PROTECT (Prophylaxis for Thromboembolism in Critical Care Trial) Investigators. Low-molecular-weight heparin venous thromboprophylaxis in critically ill patients with renal dysfunction: a subgroup analysis of the PROTECT trial. *PLoS ONE.* 2018; 13 (6): 0198285. DOI: 10.1371/journal.pone.0198285. PMID: 29856817
 77. Мороз Е.В., Каратеев А.Е., Крюков Е.В., Чернецов В.А. Желудочно-кишечные кровотечения при использовании новых пероральных антикоагулянтов: эпидемиология, факторы риска, лечение и профилактика. *Научно-практическая ревматология.* 2017; 55 (6): 675–684. DOI: 10.14412/1995-4484-2017-675-684.
 78. Chi G., Gibson C., Kalayci A., Cohen A.T., Hernandez A.E., Hull R.D., Kahe F., Jafarizade M., Sharfaei S., Liu Y., Harrington R.A., Goldhaber S.Z. Extended-duration betrixaban versus shorter-duration enoxaparin for venous thromboembolism prophylaxis in critically ill medical patients: an APEX trial substudy. *Intensive Care Med.* 2019; 45 (4): 477–487. DOI: 10.1007/s00134-019-05565-6. PMID: 30778649
 79. Rali P., Gangemi A., Moores A., Mohrien K., Moores L. Direct-Acting Oral Anticoagulants in Critically Ill Patients. *Chest.* 2019; 156 (3): 604–618. DOI: 10.1016/j.chest.2019.05.025. PMID: 31251908
 80. Bertolotti L., Murgier M., Stelfox H.T. Direct oral anticoagulants for venous thromboembolism prophylaxis in critically ill patients: where do we go from here? *Intensive Care Med.* 2019; 45 (4): 549–551. DOI: 10.1007/s00134-019-05605-1. PMID: 30911805
 81. Hobson D.B., Chang T.Y., Aboagye J.K., Lau B.D., Shihab H.M., Fisher B., Young S., Sujeta N., Shaffer D.L., Popoola V.O., Kraus P.S., Knorr G., Farrow N.E., Streiff M.B., Haut E.R. Prevalence of graduated compression stocking-associated pressure injuries in surgical intensive care units. *J Crit Care.* 2017; 40: 1–6. DOI: 10.1016/j.jccr.2017.02.016. PMID: 28284096
 - stre J., Combes A. Brain injury during venovenous extracorporeal membrane oxygenation. *Intensive Care Med.* 2016; 42 (5): 897–907. DOI: 10.1007/s00134-016-4318-3. PMID: 27007107
 64. Ejaz A., Ahmed M.M., Tasleem A., Rafay Khan Niazi M., Ahsraf M.E., Ahmad I., Zakir A., Raza A. Thromboprophylaxis in Intensive Care Unit Patients: A Literature Review. *Cureus.* 2018; 10 (9): e3341. DOI: 10.7759/cureus.3341. PMID: 30473974
 65. Hostler D.C., Marx E.S., Moores L.K., Petteys S.K., Hostler J.M., Mitchell J.D., Holley P.R., Collen J.F., Foster B.E., Holley A.B. Validation of the International Medical Prevention Registry on Venous Thromboembolism Bleeding Risk Score. *Chest.* 2016; 149 (2): 372–379. DOI: 10.1378/chest.14-2842. PMID: 26867833
 66. Rosenberg D.J., Press A., Fishbein J., Lesser M., McCullagh L., McGinn T., Spyropoulos A.C. External validation of the IMPROVE bleeding risk assessment model in medical patients. *Thromb Haemost.* 2016; 116 (3): 530–536. DOI: 10.1160/TH16-01-0003. PMID: 27307054
 67. Zeidan A.M., Streiff M.B., Lau B.D., Ahmed S.R., Kraus P.S., Hobson D.B., Carolan H., Lambrianidi C., Horn P.B., Shermock K.M., Tinoco G., Siddiqui S., Haut E.R. Impact of a venous thromboembolism prophylaxis «smart order set»: Improved compliance, fewer events. *Am J Hematol.* 2013; 88 (7): 545–549. DOI: 10.1002/ajh.23450. PMID: 23553743
 68. Mitchell J.D., Collen J.F., Petteys S., Holley A.B. A simple reminder system improves venous thromboembolism prophylaxis rates and reduces thrombotic events for hospitalized patients. *J Thromb Haemost.* 2012; 10 (2): 236–243. DOI: 10.1111/j.1538-7836.2011.04599.x. PMID: 22188121
 69. Lau B.D., Haut E.R. Practices to prevent venous thromboembolism: a brief review. *BMJ Qual Saf.* 2014; 23 (3): 187–195. DOI: 10.1136/bmjqs-2012-001782. PMID: 23708438
 70. Cade J.F. High risk of the critically ill for venous thromboembolism. *Crit Care Med.* 1982; 10 (7): 448–450. DOI: 10.1097/00003246-198207000-00006. PMID: 7044682
 71. Welsby I., Ortel T.L. Is the time for individualized thromboprophylaxis regimens in ICU? *Crit Care Med.* 2015; 43 (2): 500–501. DOI: 10.1097/CCM.0000000000000784. PMID: 25599484
 72. Boonyawat K., Crowther M.A. Venous thromboembolism prophylaxis in critically ill patients. *Semin Thromb Hemost.* 2015; 41 (1): 68–74. DOI: 10.1055/s-0034-1398386. PMID: 25594495
 73. Alhazzani W., Lim W., Jaeschke R.Z., Murad M.H., Cade J., Cook D.J. Heparin thromboprophylaxis in medical-surgical critically ill patients: a systematic review and meta-analysis of randomized trials. *Crit Care Med.* 2013; 41 (9): 2088–2098. DOI: 10.1097/CCM.0b013e31828cf104. PMID: 23782973
 74. Beitland S., Sandven I., Kjærøvik L.K., Sandset P.M., Sunde K., Eken T. Thromboprophylaxis with low molecular weight heparin versus unfractionated heparin in intensive care patients: a systematic review with meta-analysis and trial sequential analysis. *Intensive Care Med.* 2015; 41 (7): 1209–1219. DOI: 10.1007/s00134-015-3840-z. PMID: 25971389
 75. Stelfox H.T., Brundin-Mather R., Soo A., Parsons Leigh J., Niven D.J., Fiest K.M., Doig C.J., Zuege D.J., Kushner B., Clement F., Straus S.E., Cook D.J., Bagshaw S.M., Sauro K.M. A multicentre controlled pre-post trial of an implementation science intervention to improve venous thromboembolism prophylaxis in critically ill patients. *Intensive Care Med.* 2019; 45 (2): 211–222. DOI: 10.1007/s00134-019-05532-1. PMID: 30707246
 76. Pai M., Adhikari N.K.J., Ostermann M., Heels-Ansdell D., Douketis J.D., Skrobik Y., Qushmaq I., Meade M., Guyatt G., Geerts W., Walsh M.W., Crowther M.A., Friedrich J.O., Burry L., Bellomo R., Brandão da Silva N., Costa Filho R., Cox M.J., Alves Silva S., Cook D.J., PROTECT (Prophylaxis for Thromboembolism in Critical Care Trial) Investigators. Low-molecular-weight heparin venous thromboprophylaxis in critically ill patients with renal dysfunction: a subgroup analysis of the PROTECT trial. *PLoS ONE.* 2018; 13 (6): 0198285. DOI: 10.1371/journal.pone.0198285. PMID: 29856817
 77. Moroz E.V., Karateev A.E., Kryukov E.V., Chernetsov V.A. Gastrointestinal bleeding with the use of new oral anticoagulants: epidemiology, risk factors, treatment and prevention. *Nauchno-prakticheskaya revmatologiya.* 2017; 55 (6): 675–684 [In Russ.]. DOI: 10.14412/1995-4484-2017-675-684.
 78. Chi G., Gibson C., Kalayci A., Cohen A.T., Hernandez A.E., Hull R.D., Kahe F., Jafarizade M., Sharfaei S., Liu Y., Harrington R.A., Goldhaber S.Z. Extended-duration betrixaban versus shorter-duration enoxaparin for venous thromboembolism prophylaxis in critically ill medical patients: an APEX trial substudy. *Intensive Care Med.* 2019; 45 (4): 477–487. DOI: 10.1007/s00134-019-05565-6. PMID: 30778649
 79. Rali P., Gangemi A., Moores A., Mohrien K., Moores L. Direct-Acting Oral Anticoagulants in Critically Ill Patients. *Chest.* 2019; 156 (3): 604–618. DOI: 10.1016/j.chest.2019.05.025. PMID: 31251908
 80. Bertolotti L., Murgier M., Stelfox H.T. Direct oral anticoagulants for venous thromboembolism prophylaxis in critically ill patients: where do we go from here? *Intensive Care Med.* 2019; 45 (4): 549–551. DOI: 10.1007/s00134-019-05605-1. PMID: 30911805
 81. Hobson D.B., Chang T.Y., Aboagye J.K., Lau B.D., Shihab H.M., Fisher B., Young S., Sujeta N., Shaffer D.L., Popoola V.O., Kraus P.S., Knorr G., Farrow N.E., Streiff M.B., Haut E.R. Prevalence of graduated compression stocking-associated pressure injuries in surgical intensive care units. *J Crit Care.* 2017; 40: 1–6. DOI: 10.1016/j.jccr.2017.02.016. PMID: 28284096

82. Gibson C.D., Colvin M.O., Park M.J., Lai Q., Lin J., Negassa A., Shah C.D., Langston M.D. Prevalence and Predictors of Deep Vein Thrombosis in Critically Ill Medical Patients Who Underwent Diagnostic Duplex Ultrasonography. *J Intensive Care Med.* 2018; 885066618813300. DOI: 10.1177/0885066618813300. PMID: 30453801
83. Liew N.C., Chang Y.H., Choi G., Chu P.H., Gao X., Gibbs H., Ho C.O., Ibrahim H., Kim T.K., Kritpracha B., Lee L.H., Lee L., Lee W.Y., Li Y.J., Nicolaides A.N., Oh D., Pratama D., Ramakrishnan N., Robless P.A., Villarama-Aleman G., Wong R.; Asian Venous Thrombosis Forum. Asian venous thromboembolism guidelines: prevention of venous thromboembolism. *Int Angiol.* 2012; 31 (6): 501–516. PMID: 23222928
84. Бокарев И.Н., Попова Л.В. Первичная профилактика венозного тромбоза. В кн.: Бокарев И.Н., Попова Л.В. Венозный тромбоз и тромбоз легочной артерии. М.: Медицинское информационное агентство; 2013: 281–293.
85. Акчурин Р.С., Аршинин А.В., Бокарев М.И., Боровков Н.Н., Дерябин Р.А., Кондратьева Т.Б., Костин А.А., Кузнецов М.Р., Мельников А.П., Немирова С.В., Парфенов В.А., Петрухин В.А., Пичугин В.В., Попова Л.В., Сергеев С.В., Симоненко В.Б., Яхно Н.Н., Бокарев И.Н. (ред.). Медведев А.П. (ред.). Всероссийская Ассоциация по изучению тромбозов, геморрагий и патологии сосудов имени А.А. Шмидта — Б.А. Кудряшова. Диагностика, лечение и профилактика венозных тромбозов и тромбозов легочной артерии. Рекомендации. М.: П-Центр; 2016: 84.
86. Tamanna R. Venous Thromboembolism in Intensive Care Unit. *University Heart Journal.* 2009; 5 (2): 84–88. DOI: 10.3329/uhj.v5i2.4562.
87. Frydman A. Low-molecular-weight heparins: an overview of their pharmacodynamics, pharmacokinetics and metabolism in humans. *Haemostasis.* 1996; 26 (Suppl 2): 24–38. DOI: 10.1159/000217270. PMID: 8707165
88. Lim W., Dentali F., Eikelboom J.W., Crowther M.A. Meta-analysis: low-molecular-weight heparin and bleeding in patients with severe renal insufficiency. *Ann Intern Med.* 2006; 144 (9): 673–684. DOI: 10.7326/0003-4819-144-9-200605020-00011. PMID: 16670137
89. Моисеев В.С., Мухин Н.А., Смирнов А.В., Кобалава Ж.Д., Бобкова И.Н., Виллевалде С.В., Ефремовцева М.А., Козловская Л.В., Швецов М.Ю., Шестакова М.В. Сердечно-сосудистый риск и хроническая болезнь почек: стратегии кардио-нефропротекции. *Eurasian Journal of Internal Medicine.* 2014; 1 (4): 232–257.
90. Al-Dorzi H.M., Tamim H.M., Aldawood A.S., Arabi Y.M. Venous thromboembolism in critically ill cirrhotic patients: practices of prophylaxis and incidence. *Thrombosis.* 2013; 2013: 1–7. DOI: 10.1155/2013/807526. PMID: 24386564
91. Vignon P., Dequin P.F., Renault A., Mathonnet A., Paleiron N., Imbert A., Chatellier D., Gissot V., Lhéritier G., Aboyans V., Prat G., Garot D., Boulain T., Diehl J.L., Bressollette L., Delluc A., Lacut K.; Clinical Research in Intensive Care and Sepsis Group (CRICS Group). Intermittent pneumatic compression to prevent venous thromboembolism in patients with high risk of bleeding hospitalized in intensive care units: the CIREA1 randomized trial. *Intensive Care Med.* 2013; 39 (5): 872–880. DOI: 10.1007/s00134-013-2814-2. PMID: 23370827
92. Warkentin T.E. Heparin-induced thrombocytopenia. *Curr Opin Crit Care.* 2015; 21 (6): 576–585. DOI: 10.1097/MCC.0000000000000259. PMID: 26539932
93. Дударенко С.В., Ежова О.А. Гепарининдуцированная тромбоцитопения. *Неотложная кардиология и кардиоваскулярные риски.* 2018; 2 (1): 252–257.
94. Kim S.C., Tran N., Schewe J.C., Boehm O., Wittmann M., Graeff I., Hoeft A., Baumgarten G. Safety and economic considerations of argatroban use in critically ill patients: a retrospective analysis. *J Cardithorac Surg.* 2015; 10: 19. DOI: 10.1186/s13019-015-0214-0. PMID: 25879883
95. Kang M., Alahmadi M., Sawh S., Kovacs M.J., Lazo-Langner A. Fondaparinux for the treatment of suspected heparin-induced thrombocytopenia: a propensity score-matched study. *Blood.* 2015; 125 (6): 924–929. DOI: 10.1182/blood-2014-09-599498. PMID: 25515959
96. Pappalardo F., Covello R.D., Pieri M., Agracheva N., De Bonis M., Calabrò M.G., Koster A., Zangrillo A. Anticoagulation for critically ill cardiac surgery patients: is primary bivalirudin the next step? *J Cardithorac Vasc Anesth.* 2014; 28 (4): 1013–1017. DOI: 10.1053/j.jvca.2013.10.004. PMID: 24447496
97. Tardy-Poncet B., Wolf M., Lasne D., Bauters A., Ffrench P., Elalamy I., Tardy B. Danaparoid cross-reactivity with heparin-induced thrombocytopenia antibodies: report of 12 cases. *Intensive Care Med.* 2009; 35 (8): 1449–1453. DOI: 10.1007/s00134-009-1464-x. PMID: 19350215
98. Srinivasan A.E., Rice L., Bartholomew J.R., Rangaswamy C., La Perna L., Thompson J.E., Murphy S., Baker K.R. Warfarin-induced skin necrosis and venous limb gangrene in the setting of heparin-induced thrombocytopenia. *Arch Intern Med.* 2004; 164 (1): 66–70. DOI: 10.1001/archinte.164.1.66. PMID: 14718324
99. Tardy-Poncet B., Nguyen P., Thiranos J.C., Morange P.E., Biron-Andreani C., Gruel Y., Morel J., Wynckel A., Grunebaum L., Villacorta-Torres J., Grosjean S., de Maistre E. Argatroban in the management of heparin-induced thrombocytopenia: a multicenter clinical trial. *Crit Care.* 2015; 19: 396. DOI: 10.1186/s13054-015-1109-0. PMID: 26556106
82. Gibson C.D., Colvin M.O., Park M.J., Lai Q., Lin J., Negassa A., Shah C.D., Langston M.D. Prevalence and Predictors of Deep Vein Thrombosis in Critically Ill Medical Patients Who Underwent Diagnostic Duplex Ultrasonography. *J Intensive Care Med.* 2018; 885066618813300. DOI: 10.1177/0885066618813300. PMID: 30453801
83. Liew N.C., Chang Y.H., Choi G., Chu P.H., Gao X., Gibbs H., Ho C.O., Ibrahim H., Kim T.K., Kritpracha B., Lee L.H., Lee L., Lee W.Y., Li Y.J., Nicolaides A.N., Oh D., Pratama D., Ramakrishnan N., Robless P.A., Villarama-Aleman G., Wong R.; Asian Venous Thrombosis Forum. Asian venous thromboembolism guidelines: prevention of venous thromboembolism. *Int Angiol.* 2012; 31 (6): 501–516. PMID: 23222928
84. Bokarev I.N., Popova L.V. Primary prevention of venous thromboembolism. In the book: Bokarev I.N., Popova L.V. Venous thromboembolism and pulmonary thromboembolism. M.: Medical news agency; 2013: 281–293 [In Russ.].
85. Akchurin R. S., Arshinov A. V., Bokarev M. I., Borovkov N. N., Deryabin R. A., Kondratieva T. B., Kostin A. A., Kuznetsov M. R., Melnikov A. P., Nemirova S. V., Parfenov V. A., Petrukhin V. A., Pichugin V. V., Popova L. V., Sergeev S. V., Simonenko V. B., Yakhno N. N., Bokarev I. N. (ed.), Medvedev A. P. (ed.). All - Russian Association for the Study of thrombosis, Hemorrhages and vascular Pathology named after A. A. Schmidt-B. A. Kudryashov. Diagnosis, treatment and prevention of venous thrombosis and pulmonary embolism. Guidelines. Moscow: P-Center; 2016: 84 [In Russ.].
86. Tamanna R. Venous Thromboembolism in Intensive Care Unit. *University Heart Journal.* 2009; 5 (2): 84–88. DOI: 10.3329/uhj.v5i2.4562.
87. Frydman A. Low-molecular-weight heparins: an overview of their pharmacodynamics, pharmacokinetics and metabolism in humans. *Haemostasis.* 1996; 26 (Suppl 2): 24–38. DOI: 10.1159/000217270. PMID: 8707165
88. Lim W., Dentali F., Eikelboom J.W., Crowther M.A. Meta-analysis: low-molecular-weight heparin and bleeding in patients with severe renal insufficiency. *Ann Intern Med.* 2006; 144 (9): 673–684. DOI: 10.7326/0003-4819-144-9-200605020-00011. PMID: 16670137
89. Moiseev V. S., Mukhin N. A., Smirnov A. V., Kobalava Zh. D., Bobkova I. N., Villevalde S. V., Efremovtseva M. A., Kozlovskaya L. V., Shvetsov M. Yu., Shestakova M. V. Cardiovascular Risk and Chronic Kidney Disease: Cardio-Nephroprotection Strategies. *Eurasian Journal of Internal Medicine.* 2014; 1 (4): 232–257 [In Russ.].
90. Al-Dorzi H.M., Tamim H.M., Aldawood A.S., Arabi Y.M. Venous thromboembolism in critically ill cirrhotic patients: practices of prophylaxis and incidence. *Thrombosis.* 2013; 2013: 1–7. DOI: 10.1155/2013/807526. PMID: 24386564
91. Vignon P., Dequin P.F., Renault A., Mathonnet A., Paleiron N., Imbert A., Chatellier D., Gissot V., Lhéritier G., Aboyans V., Prat G., Garot D., Boulain T., Diehl J.L., Bressollette L., Delluc A., Lacut K.; Clinical Research in Intensive Care and Sepsis Group (CRICS Group). Intermittent pneumatic compression to prevent venous thromboembolism in patients with high risk of bleeding hospitalized in intensive care units: the CIREA1 randomized trial. *Intensive Care Med.* 2013; 39 (5): 872–880. DOI: 10.1007/s00134-013-2814-2. PMID: 23370827
92. Warkentin T.E. Heparin-induced thrombocytopenia. *Curr Opin Crit Care.* 2015; 21 (6): 576–585. DOI: 10.1097/MCC.0000000000000259. PMID: 26539932
93. Dudarenko S. V., Ezhova O. A. Heparin-induced thrombocytopenia. *Neotlozhnaya kardiologiya i kardiovaskulyarnye riski.* 2018; 2 (1): 252–257 [In Russ.].
94. Kim S.C., Tran N., Schewe J.C., Boehm O., Wittmann M., Graeff I., Hoeft A., Baumgarten G. Safety and economic considerations of argatroban use in critically ill patients: a retrospective analysis. *J Cardithorac Surg.* 2015; 10: 19. DOI: 10.1186/s13019-015-0214-0. PMID: 25879883
95. Kang M., Alahmadi M., Sawh S., Kovacs M.J., Lazo-Langner A. Fondaparinux for the treatment of suspected heparin-induced thrombocytopenia: a propensity score-matched study. *Blood.* 2015; 125 (6): 924–929. DOI: 10.1182/blood-2014-09-599498. PMID: 25515959
96. Pappalardo F., Covello R.D., Pieri M., Agracheva N., De Bonis M., Calabrò M.G., Koster A., Zangrillo A. Anticoagulation for critically ill cardiac surgery patients: is primary bivalirudin the next step? *J Cardithorac Vasc Anesth.* 2014; 28 (4): 1013–1017. DOI: 10.1053/j.jvca.2013.10.004. PMID: 24447496
97. Tardy-Poncet B., Wolf M., Lasne D., Bauters A., Ffrench P., Elalamy I., Tardy B. Danaparoid cross-reactivity with heparin-induced thrombocytopenia antibodies: report of 12 cases. *Intensive Care Med.* 2009; 35 (8): 1449–1453. DOI: 10.1007/s00134-009-1464-x. PMID: 19350215
98. Srinivasan A.E., Rice L., Bartholomew J.R., Rangaswamy C., La Perna L., Thompson J.E., Murphy S., Baker K.R. Warfarin-induced skin necrosis and venous limb gangrene in the setting of heparin-induced thrombocytopenia. *Arch Intern Med.* 2004; 164 (1): 66–70. DOI: 10.1001/archinte.164.1.66. PMID: 14718324
99. Tardy-Poncet B., Nguyen P., Thiranos J.C., Morange P.E., Biron-Andreani C., Gruel Y., Morel J., Wynckel A., Grunebaum L., Villacorta-Torres J., Grosjean S., de Maistre E. Argatroban in the management of heparin-induced thrombocytopenia: a multicenter clinical trial. *Crit Care.* 2015; 19: 396. DOI: 10.1186/s13054-015-1109-0. PMID: 26556106

Поступила 11.03.2020

Received 11.03.2020

Правила для русскоязычных авторов журнала «Общая реаниматология»

с учетом рекомендаций российской Ассоциации научных редакторов и издателей (РАНРИ)
и International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) редакция 21.04.2020

Правовые и этические 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. Исключение составляют переводы на русский/английский язык отдельных статей, имеющих большое практическое значение и/или представляющих особый научный интерес, определяемый актуальностью тематики, высокими индексом цитирования, запросом по ключевым словам.

— 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 от-

клонения рукописи, а также с правилами ее оформления.

— автор, ответственный за переписку с редакцией, выражает позицию всего авторского коллектива.

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

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.

Авторы имеют право получить по запросу информацию в виде электронного письма о подготовке, оформлении и продвижении рукописи: journal_or@mail.ru; www.reanimatology.com. Автор, ответственный за переписку с редакцией, получает по электронной почте тексты рецензий; решение редколлегии о публикации или отклонении рукописи с обоснованием причины; верстку отредактированного варианта рукописи для получения авторского согласия на публикацию.

Гарантии Автора

Предоставленная в редакцию рукопись полностью оригинальна. Использование любых материалов, защищенных лицензией от несанкционированного воспроизведения, допускается только с письменного разрешения правообладателя(ей) и при обязательной ссылке на 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.

Конфликт интересов сторон: Автор/Редакция

Конфликт интересов сторон Автор/Редакция решается путем переговоров сторон, в случае неурегулированных путем переговоров разногласий — в соответствии с действующим законодательством РФ и международными нормативно-правовыми актами, регулиющими публикацию рукописей в научно-практических медицинских журналах.

Согласие на публикацию отредактированного материала выражает автор, ответственный за переписку с редакцией. После ознакомления с версткой он направляет в редакцию электронное письмо по одной из представленных форм:

1) Авторы* согласны на публикацию рукописи** в представленном виде.

2) Авторы* согласны на публикацию рукописи** после внесения в верстку следующих правок:... (далее следует перечень с указанием номера страницы гранок верстки, номера абзаца, номера строки в абзаце и самой правки).

*Указывается весь авторский состав. ** Указывается название рукописи.

Срок оповещения редакции о принятом авторами решении — не более 3-х дней с момента отправки верстки автору, ответственному за переписку с редакцией.

Внимание! На стадии верстки допускается правка опечаток, ошибочных цифр и слов. Редактирование материала (замена, исключение, добавление предложений, абзацев и иллюстративных блоков) не принимается. Существенные изменения верстки приводят к ее удорожанию и задержке выпуска в связи с переформатированием и обновлением перевода текста на английский язык. В таком случае редакция снимает материал с печати и переносит его публикацию в другой номер в отредактированном авторами виде.

Сроки продвижения рукописи

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

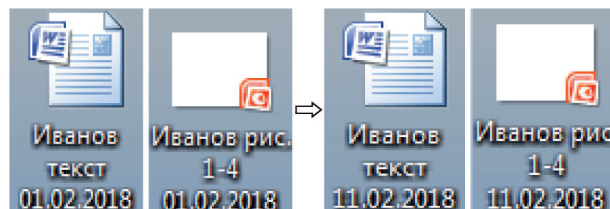
— Рецензирование — не более 20-и рабочих дней с момента электронной отправки рецензенту рукописи.

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

— Заседание редколлегии в очно-заочной форме — 1 раз в 2 месяца (в январе, марте, мае, июле, сентябре и ноябре) не позднее, чем за 1 месяц до выпуска тиража журнала.

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). При обновлении версий рукописи и ее приложений (таблицы, иллюстрации) в формате подписи файлов меняется только дата.

Пример:

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 на последней странице, подтверждающими их авторство и согласие с содержанием рукописи (последняя страница предоставляется в виде скана); 4) таблицы и иллюстрации (графики, диаграммы, фотографии, рисунки и т. п.) с номером, названием и примечанием; 5) библиографический список; 6) сопроводительное письмо.

Форма сопроводительного письма:

Главному редактору журнала
«Общая реаниматология»
Заслуженному деятелю науки России,
член-корреспонденту РАН, профессору
В. В. Морозу

Просим Вас рассмотреть возможность публикации ... (вид рукописи; Фамилии, Имена, Отчества всех авторов; название рукописи) в журнале «Общая реаниматология».

Авторы рукописи ознакомлены с Информацией для авторов 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, Power Point; рисунки — jpeg; схемы — **ТОЛЬКО В РЕДАКТИРУЕМОМ ФОРМАТЕ** (Word; Power Point); 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.

Формулы должны иметь четкую разметку всех элементов: строчных и прописных, а также латинских и греческих букв; подстрочных и надстрочных индексов. В случае цифр и букв, сходных по написанию (0 — цифра, O — буква), должны быть сделаны соответствующие пометки.

Названия

При описании аппаратуры в скобках указываются фирма и страна производитель.

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

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

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

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

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

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

Виды и рекомендуемый объем рукописи

Обзорная статья, мета-анализ: не более 25-и страниц включая не более 10-и таблиц и иллюстраций в общем количестве; список цитируемой литературы — не менее 80-и наименований.

Заказанная или переводная статья: по договоренности.

Оригинальная статья: не более 15-и страниц, включая не более 6-и таблиц и иллюстраций в общем количестве; список цитируемой литературы — не менее 25-и наименований.

Краткая статья: не более 10-и страниц, включая не более 4-х таблиц и иллюстраций в общем количестве; список цитируемой литературы — не менее 15-и наименований.

Дискуссионная статья (включает 1—2 вопроса для обсуждения): не более 5-и страниц, включая не более 2-х таблиц и иллюстраций в общем количестве; список цитируемой литературы — не более 20-и наименований.

Письмо в редакцию: не более 600-а слов. Письма, адресованные сотрудникам редакции, не публикуются.

Внимание! В библиографии рекомендуется приводить не менее 30% источников 5-летней давности, включая текущий год.

Структурные разделы статей и рекомендации по их написанию

Все структурные разделы начинаются с нового абзаца. Их названия выделяются жирным шрифтом.

Титульный лист содержит:

1) полное название статьи, которое должно: быть информативным, кратким (около 80 знаков), не включать аббревиатур (за исключением общепринятых в научной литературе), напечатанным как предложение (с прописной буквы, далее строчными буквами), после названия в скобках содержать пояснение о формате исследования (обзор, мета-анализ, клиническое наблюдение; экспериментальное исследование; другое);

2) инициалы имен, отчеств и фамилии всех авторов;

3) краткую информацию об авторах (полные имена, отчества и фамилии всех авторов, должность, ученое звание);

4) полное название и почтовый адрес учреждений, откуда представляется работа, включая индекс;

5) адрес электронной почты, номер телефона, фамилию, имя, отчество автора, ответственного за переписку с редакцией.

Внимание! В английском варианте имя указывается полностью, адрес указывается в обратном порядке, для названий улиц применяется транслитерация.

Связь авторов с местом их работы осуществляется через последовательную нумерацию, указанную в верхнем регистре в конце фамилии каждого автора и перед названием учреждения, где работает данный автор. Цифры, проставленные у фамилии автора и учреждения с его местом работы должны совпадать. Если автор имеет несколько мест работы, то под отдельными номерами указываются все учреждения, имеющие отношение к выполненному исследованию. Последовательность нумерации учреждений находится в прямой зависимости от порядка следования авторов.

Пример оформления п. п. 1, 2, 4:

Глюкозо-инсулиновая смесь как кардиопротектор в кардиологии и кардиохирургии (обзор)

И. А. Козлов^{1,2}, Т. В. Клыпа³

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

² НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского, Федеральный научно-клинический центр реаниматологии и реабилитологии, Россия, 10703, г. Москва, ул. Петровка, д. 25, стр. 2

³ Федеральный научно-клинический центр Федерального медико-биологического агентства России, Россия, 115682, г. Москва, Ореховый бульвар, д. 28

Glucose-insulin Mixture as a Cardioprotective Agent in Cardiology and Cardiac Surgery (Review)

Igor A. Kozlov^{1, 2}, Tatiana V. Klypa³

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

² V. A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology, Federal Scientific and Clinical Center of Reanimatology and Reabilitology,

25 Petrovka Str., Build. 2, Moscow 107031, Russia

³ Federal Scientific and Clinical Center, Federal Medico-Biological Agency of the Russia, 28 Orekhoviy bulvar, Moscow 115682, Russia

Резюме — наиболее читаемая часть работы, объемом не более 260 слов. Оно не должно содержать аббревиатур и сокращений за исключением единиц измерения, математических величин и терминов. Резюме включает 4 обязательных раздела: 1) цель исследования; 2) материалы и методы; 3) результаты (изложение основных полученных результатов и их статистической значимости); 4) заключение (выводы, основанные на собственных результатах исследования /клинического наблюдения).

Ключевые слова (до 6), предназначены для индексирования статьи в информационно-поисковых системах. Они размещаются на странице с резюме курсивом, через точку с запятой и без точки в конце. От адекватного подбора ключевых слов зависят эффективность поиска статьи и ее последующее цитирование. В связи с этим рекомендуется избегать лексики, редко употребляемой в научной литературе, длинных словосочетаний, затрудняющих автоматический поиск, повтора слов из названия рукописи.

Введение раскрывает актуальность исследования и освещает состояние вопроса со ссылками на наиболее значимые публикации. В конце введения формулируется цель, отражающая необходимость проведения исследования. Формулировка цели в резюме должна совпадать с формулировкой цели во введении.

Материалы и методы содержат критерии включения/исключения материала и обоснование выбора методов исследования; включают информацию о факторах, ограничивающих исследование. Если исследование проводили в рамках определенной программы, то здесь указывается ее название. Если клиническая и научная части работы были выполнены на базе разных учреждений, то в этом разделе указывают название учреждения, на базе которого был получен материал для исследования. В этом разделе описывают количественные и качественные характеристики включенных в исследование больных/обследованных или экспериментальных животных; дизайн исследования, использованные клинические, лабораторные, инструментальные, экспериментальные и прочие методики, в том числе методы статистической обработки данных.

Далее см. на сайте www.reanimatology.com.



Жизнь продолжается! Цитофлавин®

ПАРЕНТЕРАЛЬНЫЙ КОМПЛЕКС ДЛЯ АКТИВАЦИИ
МЕТАБОЛИЗМА НЕЙРОНОВ В УСЛОВИЯХ ГИПОКСИИ ¹

Способствует:

- усилению интенсивности аэробного гликолиза в нервных клетках;
- активации утилизации глюкозы и β -окисления жирных кислот в нервной ткани;
- стимулированию синтеза γ -аминомасляной кислоты в нейронах;
- увеличению устойчивости мембран нервных и глиальных клеток к ишемии;
- улучшению коронарного и мозгового кровоотоков.

