



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

# ОБЩАЯ РЕАНИМАТОЛОГИЯ GENERAL REANIMATOLOGY

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ  
Scientific-and-Practical Journal

Том 17

Volume 17

№ 5

85

*лет Научно-исследовательскому институту  
общей реаниматологии  
им. В. А. Неговского ФНКЦ РР*

*The 85<sup>th</sup> Anniversary of the V. A. Negovsky  
Research Institute of General Reanimatology,  
Federal Research and Clinical Center  
of Intensive Care Medicine and Rehabilitology*

Москва  
Moscow  
2021



Федеральный научно-клинический центр реаниматологии и реабилитологии (ФНКЦ РР)



Научно-исследовательский институт общей реаниматологии имени В.А. Неговского ФНКЦ РР

# НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОМУ ИНСТИТУТУ ОБЩЕЙ РЕАНИМАТОЛОГИИ ИМ. В.А. НЕГОВСКОГО ФНКЦ РР – 85 ЛЕТ

Научно-исследовательский институт общей реаниматологии им. В.А. Неговского ФНКЦ РР:

- основан **19 октября 1936 г.**
- с 2016 г. интегрирован в структуру Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научно-клинический центр реаниматологии и реабилитологии» (ФНКЦ РР)

- головное и единственное научное учреждение, реализующее программу фундаментальных научных исследований в анестезиологии-реаниматологии: экспериментальные исследования; геномика, иммуномика, метаболомика критических состояний; биофизика мембран клеток при критических состояниях; патоморфология критических состояний; органопротекция в анестезиологии-реаниматологии.



**ОБЩАЯ РЕАНИМАТОЛОГИЯ**  
**OBSHCHAYA REANIMATOLOGIYA**

научно-практический рецензируемый журнал

Выходит с 2005 г.

- 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» зарегистрирован 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», Москва, Россия

Федеральный научно-клинический центр реаниматологии и реабилитологии, Москва, Россия

**Publisher:**

Federal Research and Clinical Center of Intensive Care Medicine and Rehabilitation, 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, ФНКЦ реаниматологии и реабилитологии (г. Москва, Россия)

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

**В. Т. ДОЛГИХ**, зам. гл. ред., д. м. н., профессор, НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского ФНКЦ 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 ФНКЦ реаниматологии и реабилитологии (г. Москва, Россия)

**РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ**

**С. БАРАМИ**, профессор, Международное общество по изучению шока, Институт экспериментальной и клинической травматологии им. Л. Больцмана (г. Вена, Австрия)

**А. Е. БАУТИН**, д. м. н., Национальный медицинский исследовательский центр им. В. А. Алмазова (г. Санкт-Петербург, 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)

**А. М. ГОЛУБЕВ**, д. м. н., профессор, ФНКЦ реаниматологии и реабилитологии (г. Москва, Россия)

**А. В. ГРЕЧКО**, член-корр. РАН, профессор, ФНКЦ реаниматологии и реабилитологии (г. Москва, Россия)

**Е. В. ГРИГОРЬЕВ**, д. м. н., профессор, НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний СО РАН (г. Кемерово, Россия)

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

**GENERAL REANIMATOLOGY**

Scientific-and-Practical Peer-Reviewed Journal

Since 2005

- 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, Moscow, Russia

**Издатель:**

Федеральный научно-клинический центр реаниматологии и реабилитологии, Москва, Россия

**Publisher:**

Federal Research and Clinical Center of Intensive Care Medicine and Rehabilitation, Moscow, Russia

**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 Rehabilitation (Moscow, Russia)

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

**Vladimir T. DOLGIH**, Deputy Editor-in-Chief, 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)

**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 Rehabilitation (Moscow, Russia)

**EDITORIAL BOARD**

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

**Andrey E. BAUTIN**, MD, V. A. Almazov National Medical Research Center (St. Petersburg, Russia)

**Leo L. BOSSAERT**, MD, Professor, Board of Advisory Committee, European Resuscitation Council University of Antwerpen (Belgium)

**Gennady A. BOYARINOV**, MD, PhD, DSc, Professor, Nizhniy Novgorod State Medical Academy (Nizhniy Novgorod, Russia)

**Jean-Louis VINCENT**, Professor, Erasme Hospital, Universite Libre de Bruxelles (Belgium)

**Arkady M. GOLUBEV**, MD, PhD, DSc, Professor, Federal Research and Clinical Center of Intensive Care Medicine and Rehabilitation (Moscow, Russia)

**Andrey V. GRECHKO**, PhD, DSc, Professor, Corr. Member of RAS, Federal Research and Clinical Center of Intensive Care Medicine and Rehabilitation (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)

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

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

**Б. ЗАУГЕЛЬ**, д. м. н., профессор, клиника анестезиологии-реаниматологии Гамбургского Университета (г. Гамбург, Германия)

**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)

**М. Ю. КИРОВ**, д. м. н., профессор, Северный Государственный медицинский Университет (г. Архангельск, 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)

**Дж. ЛАНДОНИ**, профессор, Университет Вита-Салюте Сан Раффаэле (г. Милан, Италия)

**К. М. ЛЕБЕДИНСКИЙ**, д. м. н., профессор, Северо-Западный медицинский университет им. И. И. Мечникова (г. Санкт-Петербург, Россия)

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

**С. А. ПЕРЕПЕЛИЦА**, д. м. н., Балтийский Федеральный университет им. И. Канта (г. Калининград, Россия)

**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)

**Б. Д. САНИОВА**, д. м. н., профессор, Университетский госпиталь (г. Мартин, Словакия)

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

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

**И. В. ЯРЕМА**, член-корр. РАН, профессор, Московский государственный медико-стоматологический 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](mailto:journal_or@mail.ru);

сайт: [www.reanimatology.com](http://www.reanimatology.com)

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

Цена свободная

**Подписано в печать:** 22.10.2021

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

**Bernd SAUGEL**, MD, Professor, University Medical Center Hamburg-Eppendorf, Hamburg, Germany

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

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

**Mikhail Yu. KIROV**, MD, DSc, Professor, Northern State Medical University (Arkhangelsk, Russia)

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

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

**Giovanni LANDONI**, MD, Associate Professor, Vita-Salute San Raffaele, Milan, Italy

**Konstantin M. LEBEDINSKY**, MD, DSc, Professor, I. I. Mechnikov North-Western Medical University (St. Petersburg, Russia)

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

**Svetlana A. PEREPELITSA**, MD, DSc, I. Kant Baltic Federal University (Kaliningrad, 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)

**Beata D. SANIOVA**, MD, PhD, DSc, Professor, University Hospital (Martin, Slovak Republic)

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

**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](mailto:journal_or@mail.ru);

Web: [www.reanimatology.com](http://www.reanimatology.com)

**Subscription:**

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

**Signed for printing:** 22.10.2021

## СОДЕРЖАНИЕ

## CONTENTS

- РЕДАКЦИОННАЯ СТАТЬЯ**  
 Научно-исследовательскому институту  
 общей реаниматологии  
 им. В. А. Неговского ФНКЦ РР —  
 85 лет (редакционная статья)  
*В. В. Мороз, А. Н. Кузовлев,  
 Е. В. Лугинина, А. В. Гречко*
- КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ**  
 Индекс функции сердца как возможный целевой  
 показатель для коррекции гемодинамики  
 при абдоминальном сепсисе  
 (пилотное исследование)  
*С. А. Раутбарт, И. Н. Тюрин,  
 А. А. Александровский, И. А. Козлов*
- Характеристика кандидатных молекулярных  
 маркеров при ишемическом  
 и геморрагическом инсульте  
*А. М. Голубев, А. В. Гречко, В. Е. Захарченко,  
 М. М. Канарский, М. В. Петрова, И. В. Борисов*
- Вклад полиморфизма промоторной области  
 гена AGTR1 в течение и исход сепсиса у пациентов  
 с различной коморбидностью  
*А. Г. Чумаченко, Е. К. Григорьев,  
 В. М. Писарев*
- В ПОМОЩЬ ПРАКТИКУЮЩЕМУ ВРАЧУ**  
 Влияние сердечно-легочной реанимации  
 с поддержкой диспетчером скорой медицинской  
 помощи на восстановление эффективного  
 кровообращения и краткосрочную  
 выживаемость  
*С. С. Николовски, Н. Б. Божич, З. З. Фишер,  
 А. Д. Лазич, Е. З. Тиянич, В. И. Раффэй*
- Анализ мгновенных параметров сигнала ЭЭГ  
 на основании разложения по эмпирическим  
 модам в применении к паттерну  
 «вспышка-подавление»  
 при анестезии пропофолом  
*Г. Соболева, М. С. Фабус,  
 М. Фишер, М. Дробны, Б. Дробна-Саниова*
- Современные аспекты профессиональной  
 подготовки анестезиологов-реаниматологов  
 в ординатуре  
*С. А. Перепелица, В. В. Мороз,  
 В. Т. Долгих, Е. А. Боева,  
 Д. О. Старостин, М. А. Милованова,  
 В. В. Антонова*
- Искусственная вентиляция легких:  
 «полное затмение» сердца (редакционная статья)  
*Дж. Ландони, П. Нарделли,  
 А. Дзангрилло, Л. А. Хаджар*
- ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ**  
 Влияние концентрации хлорида лития  
 на его нейропротекторные свойства  
 при ишемическом инсульте у крыс  
*Р. А. Черпаков, О. А. Гребенчиков*
- Проявление отека-набухания сенсомоторной  
 коры большого мозга крыс в зависимости  
 от длительности окклюзии  
 общих сонных артерий  
 (морфометрическое исследование)  
*С. С. Степанов, Д. Б. Авдеев, В. А. Акулинин,  
 А. Ю. Шоронова, Л. М. Макарьева, М. С. Коржук*
- EDITORIAL**  
 4 The 85<sup>th</sup> Anniversary of the V. A. Negovsky Research  
 Institute of General Rehabilitology, Federal Research  
 and Clinical Center of Intensive Care Medicine  
 and Rehabilitology (Editorial)  
*Victor V. Moroz, Artem N. Kuzovlev,  
 Elena V. Luginina, Andrey V. Grechko*
- CLINICAL STUDIES**  
 9 Cardiac Function Index as a Possible Target  
 Parameter for Hemodynamic Correction  
 in Abdominal Sepsis  
 (Pilot Study)  
*Surgey A. Rautbart, Igor N. Tyurin,  
 Alexandr A. Alexandrovskiy, Igor A. Kozlov*
- 23 Comparative Characterization of Candidate Molecular  
 Markers in Ischemic and Hemorrhagic Stroke  
*Arkady M. Golubev, Andrey V. Grechko,  
 Vladislav E. Zakharchenko, Mikhail M. Kanarsky,  
 Marina V. Petrova, Ilya V. Borisov*
- 35 Contribution of AGTR1 Promoter Region  
 Polymorphism to the Progression and Outcome  
 of Sepsis in Patients with Various Comorbidities  
*Anastasia G. Chumachenko, Evgeniy K. Grigoriev,  
 Vladimir M. Pisarev*
- FOR PRACTITIONER**  
 52 Dispatcher-Assisted Cardiopulmonary  
 Resuscitation — Influence on Return  
 of Spontaneous Circulation  
 and Short-Term Survival  
*Srdjan S. Nikolovski, Neda B. Bozic, Zoran Z. Fiser,  
 Aleksandra D. Lazic, Jelena Z. Tijanic,  
 Violetta I. Raffay*
- 65 Instantaneous EEG Signal Analysis Based  
 on Empirical Mode Decomposition  
 Applied to Burst-Suppression  
 In Propofol Anaesthesia  
*Gabriela Sobolova, Marco S. Fabus,  
 Martin Fischer, Michal Drobny,  
 Beata Drobna-Saniova*
- 80 Current Aspects of Professional Training  
 of Anesthesiologists and Intensive Care Specialists  
 in Residency Programs  
*Svetlana A. Perepelitsa, Victor V. Moroz,  
 Vladimir T. Dolgikh, Ekaterina A. Boeva,  
 Daniil O. Starostin, Marina A. Milovanova,  
 Viktoriya V. Antonova*
- 96 Mechanical Ventilation.  
 Total Eclipse of the Heart (Editorial)  
*Giovanni Landoni, Pasquale Nardelli,  
 Alberto Zangrillo, Ludhmila Abrahão Hajjar*
- EXPERIMENTAL STUDIES**  
 101 Effect of Lithium Chloride Concentration  
 on Its Neuroprotective Properties  
 in Ischemic Stroke in Rats  
*Rostislav A. Cherpakov, Oleg A. Grebenchikov*
- 111 Relation between the Severity of the Sensorimotor  
 Cortical Edema with Cell Swelling and the Duration  
 of Common Carotid Artery Occlusion  
 in Rats (Morphometric Study)  
*Sergey S. Stepanov, Dmitry B. Avdeev, Victor A. Akulinin,  
 Anastasia Yu. Shoronova, Lyubov M. Makarieva,  
 Mikhail S. Korzhuk*

## Научно-исследовательскому институту общей реаниматологии им. В. А. Неговского ФНКЦ РР — 85 лет (редакционная статья)

В. В. Мороз, А. Н. Кузовлев\*, Е. В. Лугинина, А. В. Гречко

НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского,  
Федеральный научно-клинический центр реаниматологии и реабилитологии,  
Россия, 107031, г. Москва, ул. Петровка, д. 25, стр. 2

### The 85<sup>th</sup> Anniversary of the V. A. Negovsky Research Institute of General Rehabilitology, Federal Research and Clinical Center of Intensive Care Medicine and Rehabilitology (Editorial)

Victor V. Moroz, Artem N. Kuzovlev\*, Elena V. Luginina, Andrey V. Grechko

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:** В. В. Мороз, А. Н. Кузовлев, Е. В. Лугинина, А. В. Гречко. Научно-исследовательскому институту общей реаниматологии им. В. А. Неговского ФНКЦ РР — 85 лет (редакционная статья). *Общая реаниматология*. 2021; 17 (5): 4–8. <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2021-5-4-8> [На русск. и англ.]

**For citation:** Victor V. Moroz, Artem N. Kuzovlev, Elena V. Luginina, Andrey V. Grechko. The 85<sup>th</sup> anniversary of the v.a.negovsky research institute of general rehabilitology, federal research and clinical center of intensive care medicine and rehabilitology (editorial). *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2021; 17 (5): 4–8. <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2021-5-4-8> [In Russ. and Engl.]

#### Резюме

Реаниматология — наука о критических, терминальных и постреанимационных состояниях — зародилась в стенах Научно-исследовательского института общей реаниматологии им. В. А. Неговского ФНКЦ РР, которому 19 октября 2021 г. исполняется 85 лет. В данной редакционной статье отражены основные этапы исторического развития Научно-исследовательского института общей реаниматологии им. В. А. Неговского ФНКЦ РР, а также современные уникальные научные достижения коллектива Института.

**Ключевые слова:** реаниматология, наука о реанимации, Неговский; институт общей реаниматологии; критические состояния

#### Summary

Reanimatology (the science of resuscitation) represents the science of critical illness, terminal and post-resuscitation conditions, originated within the walls of the V. A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology, Federal Research and Clinical Center of Intensive Care Medicine and Rehabilitology, turns 85 years old on October 19, 2021. This editorial briefly describes the history of the development of the Institute, as well as the current scientific achievements of the Institute staff.

**Keywords:** reanimatology; science of resuscitation; Negovsky; Research Institute of General Reanimatology; critical illness

DOI:10.15360/1813-9779-2021-5-4-8

Развитие множества современных медицинских дисциплин сегодня немыслимо без реаниматологии — науки о критических, терминальных и постреанимационных состояниях, а уникальному учреждению, в стенах

которого впервые в мире зародилась реаниматология как наука, — Научно-исследовательскому институту общей реаниматологии им. В. А. Неговского ФНКЦ РР — 19 октября 2021 г. исполняется 85 лет.

Адрес для корреспонденции:

\*Артём Николаевич Кузовлев  
E-mail: [artem\\_kuzovlev@mail.ru](mailto:artem_kuzovlev@mail.ru)

Correspondence to:

\*Artem N. Kuzovlev  
E-mail: [artem\\_kuzovlev@mail.ru](mailto:artem_kuzovlev@mail.ru)

## **Становление Научно-исследовательского института общей реаниматологии им. В. А. Неговского ФНКЦ РР**

Приказом Наркомздрава СССР 19 октября 1936 г. при Институте нейрохирургии с целью изучения закономерностей умирания и восстановления жизненных функций организма при оживлении и создания патогенетически обоснованного, пригодного для применения в клинической практике метода оживления, была создана лаборатория специального назначения, работавшая над проблемой «Восстановление жизненных процессов при явлениях, сходных со смертью», инициатором создания которой стал Владимир Александрович Неговский, основоположник нового направления в медицине — реаниматологии.

Научными направлениями Лаборатории были: изучение общих закономерностей угасания жизненных функций при умирании организма и их восстановления после оживления (особое значение придавалось угасанию и восстановлению функций головного мозга), создание эффективного универсального алгоритма сердечно-легочной и церебральной реанимации, доказательство реальности внедрения методов оживления в практическую медицину, преодоление скепсиса широких врачебных и научных кругов к самой идее оживления и сопротивления ее внедрению в практику.

В. А. Неговским впервые было доказано, что умирание — это закономерный процесс, были изучены в эксперименте и клинике этапы умирания, продемонстрировано, что в основе критических, терминальных и постреанимационных состояний лежат неспецифические типовые патологические процессы, предложен термин «клиническая смерть», как обратимый этап умирания.

В годы Великой Отечественной войны был впервые успешно применен комплекс реанимационных мероприятий и было доказано, что оживление организма должно стать систематической работой. В 1943 г. вышла первая книга В. А. Неговского «Восстановление жизненных функций организма, находящегося в состоянии агонии или клинической смерти», в которой подчеркивается необходимость глубокого изучения динамики угасания и восстановления центральной нервной системы, без чего не может быть решена главная задача оживления — полноценное восстановление функций головного мозга, восстановление социально активного человека. В 1945 г. вышла вторая монография В. А. Неговского «Опыт терапии состояний агонии и клинической смерти в вой-

сковом районе». В 1952 г. Минздрав СССР издал первую инструкцию «О внедрении в лечебную практику методов восстановления жизненных функций организма, находящегося в состоянии агонии или клинической смерти». В 1948 году лаборатория становится самостоятельным подразделением в структуре Российской академии медицинских наук под названием «Лаборатория экспериментальной физиологии по оживлению организма». В 1954 г. В. А. Неговский опубликовал монографию «Патофизиология и терапия агонии и клинической смерти», а в 1960 г. «Оживление и искусственная гипотермия» — первая в мире монография по данной проблеме.

В послевоенные годы Лабораторией создаются первые клинические группы, отделения при больницах и выездные бригады для лечения терминальных состояний, а в 1952 г. Минздрав СССР издает первую инструкцию «О внедрении в лечебную практику методов восстановления жизненных функций организма, находящегося в состоянии агонии или клинической смерти», подготовленную сотрудниками лаборатории, а с 1958 года на основании Циркулярного письма Минздрава СССР об организации отделений лечения терминальных состояний началось создание реанимационной службы страны.

### **Рождение реаниматологии**

Обобщение результатов исследований на базе лаборатории, а также данных отечественных и зарубежных авторов позволило В. А. Неговскому в 1961 году на Международном конгрессе травматологов в Будапеште инициировать признание новой медицинской науки — реаниматологии. Таким образом, в медицине оформились три ключевых направления, соответствующие трем состояниям больных, пострадавших и раненых: первое — состояние, когда возможно помочь человеку консервативными методами — терапия, второе — состояние, когда нужны агрессивные методы — хирургия, третье — критические, терминальные и постреанимационные состояния.

В. А. Неговским и коллегами было установлено, что при успешном оживлении человека после остановки кровообращения развивается постреанимационная болезнь, которая является следствием патологических процессов, развившихся как во время остановки кровообращения, так и после оживления. «Однако восстановление циркуляции крови и газообмена — лишь первый и далеко не самый сложный этап... Термин «сердечно-легочная реанимация» несостоятелен. После решения задач первого этапа возникают новые задачи, в общем, как это сейчас ясно, гораздо более

сложные...» (В. А. Неговский, 1979 г.) По результатам масштабных экспериментальных и клинических исследований вышла на русском языке в двух изданиях (1979, 1987 гг.) и на английском языке монография В. А. Неговского, А. М. Гурвича, Е. С. Золотокрылиной «Постренимационная болезнь».

Развитие научной школы В. А. Неговского и формирование концепции постренимационной болезни позволило перейти на другой уровень понимания реаниматологии не только как раздела медицины об умирании и оживлении, но и как принципиально новой науки о жизнеобеспечении при критических состояниях. В 1977 г. лаборатория получает название «Научно-исследовательская лаборатория общей реаниматологии АМН СССР», а в 1985 г. реорганизована в Научно-исследовательский институт общей реаниматологии АМН СССР, в котором были организованы экспериментальные и клинические подразделения по отдельным направлениям реаниматологии. Академик РАМН В. А. Неговский бессменно руководил вначале лабораторией, а затем институтом до 1988 года.

Важнейшим практическим результатом деятельности института было создание в 1985 г. первой в нашей стране Инструкции по определению биологической смерти на основании смерти мозга. Сотрудниками института получены фундаментальные данные, касающиеся закономерностей угасания и восстановления жизненных функций организма при различных причинах умирания. Разработана теория фибрилляции сердца, получены приоритетные данные об изменениях миокарда при разных видах умирания, в частности. При высоковольтной электрогравме, созданы принципиально новые дефибрилляторы, обеспечивающие эффективную дефибрилляцию и лечение аритмий сердца.

Исходя из общегосударственной задачи по реорганизации и совершенствованию медицинской помощи при чрезвычайных ситуациях, сотрудники Института разработали концепцию организации анестезиолого-реанимационной службы медицины катастроф, а с целью развития этого направления в 1990 г. создан филиал Института в г. Новокузнецке для изучения проблем критических состояний у шахтеров (функционировавший до 2012 г.).

### **Научно-исследовательский институт общей реаниматологии им. В. А. Неговского ФНКЦ РР в XXI веке**

С 2001 г. в НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского функционирует диссертационный совет Д 001.051.01 по защите диссертаций

на соискание ученой степени доктора и кандидата наук по специальностям: «Анестезиология и реаниматология» и «Патологическая физиология» — медицинские науки.

С 2005 г. Институт издает рецензируемый научно-практический журнал «Общая реаниматология», включенный в Перечень ВАК и международную информационную базу данных «Scopus».

В 2009 г. Институту присвоено имя В. А. Неговского (Научно-исследовательский институт общей реаниматологии им. В. А. Неговского РАМН). В 2013 г. Институт был передан в ведение Федерального агентства научных организаций (ФАНО России).

В 2016 г. Институт интегрирован в структуру Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научно-клинический центр реаниматологии и реабилитологии» (ФНКЦ РР), ставшего уникальным учреждением для Российской Федерации и большинства иностранных государств, занимающейся лечением и реабилитацией сложнейшей категории пациентов с тяжелым повреждением головного мозга в условиях протезирования жизненно-важных функций. В настоящее время ФНКЦ РР проводит фундаментальные и прикладные научные исследования по анестезиологии-реаниматологии и реабилитологии, готовит высококвалифицированные медицинские кадры, ведет научно-экспертную деятельность и отнесен к первой (высшей) категории — организации-лидеры по итогам оценки результативности деятельности научных организаций, выполняющих научно-исследовательские, опытно-конструкторские и технологические работы гражданского назначения в 2020 году.

### **Основные научные направления Научно-исследовательского института общей реаниматологии им. В. А. Неговского ФНКЦ РР**

За прошедшие годы развития Лаборатории и Института был пройден большой путь от изучения базовых принципов патофизиологии критических, терминальных и постренимационных состояний до глубоких фундаментальных, междисциплинарных исследований в анестезиологии-реаниматологии. Ключевыми научными направлениями фундаментальных научных исследований Центра в настоящее время являются: экспериментальные исследования критических состояний; геномика, иммуномика, метаболомика критических состояний; изучение биофизики мембран клеток при критических состояниях; изучение патоморфологии критических состояний; органопротекция

в анестезиологии-реаниматологии; организация и проведение многоцентровых рандомизированных клинических исследований в анестезиологии-реаниматологии.

В рамках реализации государственного задания НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского ФНКЦ РР по программам фундаментальных научных исследований получены результаты, которые раскрыли молекулярные механизмы эндотелиопротективного действия солей лития. Доказано, что лития хлорид предотвращает разборку клаудина и VE-кадгерина в межклеточных контактах, уменьшает количество апоптотических клеток в монослое эндотелиальных клеток линии Ea.hy 926, что может свидетельствовать о протекторном эффекте препарата на эндотелиальный барьер. Реализация защитных эффектов хлорида лития на эндотелий реализуется через фосфорилирование GSK-3 $\beta$ . Такое защитное действие может обеспечивать сохранение функционального сосудистого барьера при критических состояниях. Подтверждение вышеизложенного в экспериментальных моделях и раскрытие молекулярных механизмов защиты эндотелия позволило инициировать клиническое испытание хлорида лития (I фаза) для доказательства его органопротекторных свойств.

Для определения эффектов ксенона был изучен уровень экспрессии генов NF-kB1 и NF-kB2, контролирующих синтез факторов, запускающих экспрессию генов цитокинов и других молекул, участвующих в воспалении, а также ген Mvd88, который контролирует один из сигнальных белков, обеспечивающих внутриклеточную передачу сигналов активации на промоторные участки провоспалительных генов. Изменение экспрессии наблюдалось через 6 и 24 часа после экспериментальной черепно-мозговой травмы у крыс. Травматическое повреждение головного мозга приводило к повышению экспрессии генов воспаления NF-kB1, NF-kB2 и Mvd88 только в зоне травмы. Через 24 часа после воздействия ксенона наблюдали менее выраженную активацию экспрессии NF-kB1, NF-kB2 и Mvd88 в ткани мозга; контралатерально в неповрежденной ткани головного мозга обнаружили лишь небольшое повышение экспрессии гена Mvd88, уровни NF-kB1 и NF-kB2 были не изменены. Полученные данные указывают на способность ксенона снижать экспрессию провоспалительных генов в нервной ткани на модели травмы головного мозга. Использование ксенона при тяжелом повреждении головного мозга поможет предотвратить патогенетически значимую избыточность посттравматических воспалительных реакций и нейрональную гибель. Это станет основой для

разработки методов применения ксенона с целью органопротекции при критических состояниях, что позволит снизить летальность.

Проведены фундаментальные научные исследования адаптивного иммунома при критических состояниях: при исследовании эпителио-специфических ответов IgG антител в плазме пациентов с хроническими критическими состояниями с помощью технологии иммуночипов, содержащих более 125 000 различных пептидов, выявлены две комбинации распознаваемых антителами пептидов (иммуносигнатур), по которым различаются пациенты с благополучным и неблагоприятным исходом внутрибольничной пневмонии. Результаты станут основой для разработки тест-системы на основе ограниченного набора пептидов, которая обеспечит раннюю стратификацию пациентов по группам риска неблагоприятного исхода с целью персонализации лечения и снижения летальности пациентов с инфекционными осложнениями критических состояний.

С помощью мультиплексного анализа экспрессии генов с использованием системы nCounter (Nanostring) выявлен спектр ранних реакций транскриптома клеток мозга крысы на модельные фрагменты ДНК, моделирующие патогенетически значимые для развития критических состояний молекулы, циркулирующие после травм, инсульта, при сепсисе. Обнаружили, что только окисленные фрагменты ДНК, содержащие остатки оксо-8-дезоксигуанозина, обладают способностью инициировать высокий уровень экспрессии генов, контролирующих процессы нейрогенеза и нейропротекции — нейротрофического фактора мозга и фактора роста нервов, их рецепторов — TrkB и TrkA, а также провоспалительных генов, кодирующих стимулирующие нейрогенез белки S100b, S100A8, S100A9. Эти результаты способствуют познанию ранних цитопротективных реакций клеток нервной системы на продукты окислительного стресса, которые будут использованы для создания на их основе новых методов регуляции защитных механизмов головного мозга, а также ранних биомаркеров адаптивной цитопротекции при критических состояниях.

С помощью методов атомно-силовой микроскопии и атомно-силовой спектроскопии измерены параметры нативных эритроцитов, получены уникальные изображения цитоскелета высокого качества, разработаны количественные оценки конфигурации сети цитоскелета, измерены модули Юнга E нативных эритроцитов при хранении эритроцитной взвеси. В прямом биофизическом исследовании выработаны количественные критерии состояния хранящихся эритроцитов, предна-

значенных для гемотрансфузии. После 19–24-го дней хранения в фильтрованных эритроцитах возникают необратимые изменения морфологии, наноструктуры мембран, строения цитоскелета, упруго-эластичных свойств, вызывающие снижение качества эритроцитной взвеси, что может увеличить риск посттрансфузионных осложнений.

В ходе целенаправленных метаболомных исследований научного коллектива найдены ключевые ароматические микробные метаболиты (АММ), которые рекомендуется использовать как интегральный показатель тяжести септического процесса. Доказано при клинической апробации во многих хирургических клиниках, что эти АММ обладают высокой прогностической значимостью, по их концентрации в крови можно прогнозировать риск развития органных дисфункций и летального исхода. Так, исходный уровень АММ в день поступления в ОРИТ был в среднем в 5,5 раз выше в группе с летальным исходом по сравнению с группой выживших. Доказана тесная корреляционная связь АММ с показателями многопараметрических шкал тяжести, в то же время измерение уровня АММ имеет неоспоримые преимущества, так как микробные метаболиты патогенетически связаны с развитием септического процесса. Показано также, что мониторинг АММ в крови может служить объективным критерием для выбора сорбента, определения показаний, оценки необходимости повторных процедур детоксикации при экстракорпоральном лечении септического шока.

Выявлена динамика содержания кандидатных молекулярных маркеров в сыворотке крови пациентов с геморрагическим и ишемическим инсультом, которая, вероятно, отражает процессы альтерации и регенерации, соответствующие стадиям заболевания. Использование выявленных в результате исследования кандидатных молекулярных биомаркеров, после соответствующей валидации, перспективно в комплексной диагностике, мониторинге лечения и реабилитационных мероприятий у пациентов с геморрагическим инсультом.

В НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского ФНКЦ РР успешно разработана и внедрена прорывная стратегия антимикробной терапии, основанная на технологии адаптивной фаготерапии. В результате снижено общее потребление антибиотиков широкого спектра в отделениях реанимации, снижена антибиотикорезистентность проблемных микроорганизмов, доказана эффективность комплекса бактериофагов в лечении внутрибольничных инфекций у данной категории пациентов.

НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского ФНКЦ РР в течение многих лет сотрудничает с Европейским Советом по реанимации и Международным обществом по изучению шока.

В 2018 г. в НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского ФНКЦ РР впервые был создан уникальный Симуляционный центр (Лаборатория изучения перспективных симуляционных технологий), оснащенный многофункциональным оборудованием разного уровня реалистичности, системой непрерывной видео-регистрации и хранения информации, что обеспечивает полный учебно-образовательный цикл. Оборудование симуляционного центра сформировано по модульному принципу и позволяет реализовывать образовательные программы любого уровня сложности на минимальных площадях.

Результаты научной деятельности НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского ФНКЦ РР отражены в многочисленных рейтинговых международных и отечественных научных публикациях, за последние 5 лет издано более 20 монографий, 15 учебников и учебных пособий, получено 18 патентов. Коллектив НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского ФНКЦ РР принимает участие в разработке отечественных и международных клинических рекомендаций в анестезиологии-реаниматологии, ключевых научных и образовательных конференциях. Почти четверть века проводится Международная конференция «Жизнеобеспечение при критических состояниях», также пользуются авторитетом в научной среде все-российская конференция «Проблема инфекций при критических состояниях» и специализированная конференция по экспериментальной хирургии, анестезиологии и реаниматологии лабораторных животных. Научные сотрудники НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского ФНКЦ РР являются исполнителями научных проектов в рамках грантов РНФ и РФФИ, получателями грантов и стипендий Президента Российской Федерации.

Интеграция НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского в структуру Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научно-клинический центр реаниматологии и реабилитологии» (ФНКЦ РР) дала новый мощный импульс для развития фундаментальной науки и эффективной трансляции полученных новых знаний в клиническую практику.

***Поздравляем коллектив НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского ФНКЦ РР с 85-летием!***

Поступила 2021.09.30

## Индекс функции сердца как возможный целевой показатель для коррекции гемодинамики при абдоминальном сепсисе (пилотное исследование)

С. А. Раутбарт<sup>1,2</sup>, И. Н. Тюрин<sup>3,4</sup>, А. А. Александровский<sup>2</sup>, И. А. Козлов<sup>1\*</sup>

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

<sup>2</sup> Городская клиническая больница им. В. М. Буянова Департамента здравоохранения г. Москвы  
Россия, 115516, Москва, ул. Бакинская, д. 26

<sup>3</sup> Городская клиническая больница № 40 Департамента здравоохранения г. Москвы  
Россия 108814, Москва, п. Сосенское п. Коммунарка, ул. Сосенский стан, д. 8

<sup>4</sup> Российский Национальный Исследовательский Медицинский Университет им. Н. И. Пирогова Минздрава России,  
Россия, 117997, г. Москва, ГСП-7, ул. Островитянова, д. 1

## Cardiac Function Index as a Possible Target Parameter Hemodynamic Correction in Abdominal Sepsis (Pilot Study)

Surgey A. Rautbart<sup>1,2</sup>, Igor N. Tyurin<sup>3,4</sup>, Alexandr A. Alexandrovskiy<sup>2</sup>, Igor A. Kozlov<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> M. F. Vladimirsky Moscow Regional Research Clinical Institute  
61/2 Shchepkin Str., 129110 Moscow, Russia

<sup>2</sup> V. M. Buyanov City Clinical Hospital, Moscow Department of Health  
26 Bakinskya Str., 115516 Moscow, Russia

<sup>3</sup> City Clinical Hospital № 40, Moscow Department of Health Russia  
8 Sosensky Stan Str., Kommunarka settlement, Sosenskoye, 108814 Moscow, Russia

<sup>4</sup> N. I. Pirogov Russian National Medical Research University, Ministry of Health of Russia  
1 Ostrovityanov Str., 117997 Moscow, Russia

**Для цитирования:** С. А. Раутбарт, И. Н. Тюрин, А. А. Александровский, И. А. Козлов. Индекс функции сердца как возможный целевой показатель для коррекции гемодинамики при абдоминальном сепсисе (пилотное исследование). *Общая реаниматология*. 2021; 17 (5): 9–22. <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2021-5-9-22> [На русск. и англ.]

**For citation:** Sergey A. Rautbart, Igor N. Tyurin, Alexandr A. Alexandrovskiy, Igor A. Kozlov. Cardiac function index as a possible target parameter for hemodynamic correction in abdominal sepsis (pilot study). *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2021; 17 (5): 9–22. <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2021-5-9-22> [In Russ. and Engl.]

### Резюме

**Цель исследования:** изучить предикторную значимость параметров центральной гемодинамики в отношении летальности и оценить их потенциальную приемлемость для цель-ориентированной терапии на протяжении первых четырех суток лечения больных с сепсисом.

**Материалы и методы.** Проанализировали результаты обследования и лечения 62 больных в возрасте 50,9±2,13 лет с абдоминальным сепсисом. Тяжесть состояния при поступлении в отделение реаниматологии по шкале APACHE II составляла 13 [10–15] баллов, по шкале SOFA — 8 [6,75–9,25] баллов. Летальный исход через 15,6±1,4 суток после поступления наступил у 19 (31%) больных. Центральную гемодинамику изучали с помощью транспульмональной термодилуции по стандартной методике. Инфузии и назначения симпатомиметических препаратов выполняли в соответствии с рекомендациями Сепсис-3. При статистическом анализе применяли логистическую регрессию и ROC-анализ.

**Результаты.** Медианные значения основных показателей кровообращения в течение первых четырех суток лечения сепсиса находились в пределах физиологической нормы. На всех этапах лечения предикторами летальности являлись значения сердечного индекса, производительности сердца, обусловленной постнагрузкой, глобальной фракции изгнания сердца и индекса функции сердца. Однако первые три показателя не обеспечивали либо достаточного качества моделей на этапах исследования, либо стабильного порогового значения с приемлемой чувствительностью и специфичностью. Индекс функции сердца сохранял на всех этапах исследования хорошее качество модели (площадь под ROC-кривой 0,708–0,753) и стабильное пороговое значение ( $\leq 5,75$ – $\leq 5,81$  мин<sup>-1</sup>) с удовлетворительной и сбалансированной чувствительностью и специфичностью, составившими около 70%.

**Заключение.** Значения сердечного индекса, производительности сердца, обусловленной постнагрузкой, глобальной фракции изгнания сердца и индекса функции сердца на протяжении первых че-

Адрес для корреспонденции:

\*Игорь Александрович Козлов  
E-mail: iakozlov@mail.ru

Correspondence to:

\*Igor A. Kozlov  
E-mail: iakozlov@mail.ru

тырех суток интенсивного лечения сепсиса являются предикторами летального исхода. Вместе с тем, только индекс функции сердца сохраняет на всех этапах исследования хорошее качество модели и стабильное пороговое значение с приемлемым уровнем чувствительности и специфичности. Необходимо дальнейшее изучение возможности использования индекса функции сердца как одного из корригируемых показателей при цель-ориентированной терапии, направленной на оптимизацию функции сердечно-сосудистой системы при сепсисе.

**Ключевые слова:** индекс функции сердца; сепсис; септическая кардиопатия; цель-ориентированная терапия; центральная гемодинамика

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## Summary

**Aim of the study:** to determine the predictive value of central hemodynamic parameters in relation to mortality and evaluate their potential acceptability for goal-directed therapy during days 1–4 of treatment in patients with sepsis.

**Material and methods.** The results of investigation and treatment of 62 patients aged 50.9±2.13 years with abdominal sepsis were analyzed. The patient severity on admission to the intensive care unit was 13 [10–15] on the APACHE II scale, 8 [6.75–9.25] on the SOFA scale. Lethal outcome 15.6±1.4 days after admission occurred in 19 (31%) patients. Central hemodynamic parameters were studied by transpulmonary thermodilution according to the standard technique. Infusions and administration of sympathomimetic drugs were performed according to Sepsis-3 guidelines. Statistical analysis was performed using logistic regression and ROC analysis.

**Results.** The median values of the main circulatory parameters during days 1–4 of sepsis treatment were within normal ranges. Cardiac index, afterload-related cardiac performance, global cardiac ejection fraction and cardiac function index were predictors of mortality at all stages of treatment. However, the first three parameters did not provide either sufficient model quality at the study stages or a stable cutoff value with acceptable sensitivity and specificity. The cardiac function index maintained good model quality (area under the ROC curve 0.708–0.753) and a stable cutoff value ( $\leq 5.75$  to  $\leq 5.81$  min<sup>-1</sup>) with acceptable and balanced sensitivity and specificity of about 70% at all study stages.

**Conclusion.** The cardiac index, afterload cardiac performance, global cardiac ejection fraction and cardiac function index during days 1–4 of intensive care of sepsis are predictors of lethal outcome. At the same time, only the cardiac function index maintains good model quality and consistent cut-off point value with acceptable sensitivity and specificity at all stages of the study. The feasibility of using the cardiac function index as one of the parameters of goal-directed therapy aimed at cardiovascular function improvement in sepsis needs further investigation.

**Keywords:** cardiac function index; sepsis; sepsis-induced cardiomyopathy; goal-directed therapy; central hemodynamics

**Conflicts of Interest.** The authors declare no conflicts of interest.

DOI:10.15360/1813-9779-2021-5-9-22

## Введение

Роль цель-ориентированной терапии (ЦОТ) в интенсивном лечении пациентов с сепсисом и септическим шоком остается предметом активной дискуссии [1, 2]. Тем более, что изучение эффективности ЦОТ в настоящее время становится затруднительным, так как ее элементы вошли в рутинную практику отделений реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) и стали стандартным компонентом лечения пациентов с сепсисом [3, 4]. Кроме того, причиной неоднородных мнений о ЦОТ является отсутствие общепринятого комплекса показателей, на коррекцию которых следует ориентироваться [1, 2, 5, 6]. Целевые показатели варьируются от простейших, например, «времени заполнения пятна» [2] и артериального давления (АД) [1, 2], до параметров центральной гемодинамики (ЦГД), определенных с

## Introduction

The role of goal-directed therapy (GDT) in the intensive care of sepsis and septic shock has been actively debated [1, 2]. Moreover, efficacy assessment of GDT is now becoming difficult, since its elements have entered the routine practice of intensive care units (ICU) and have become a standard component of sepsis treatment [3, 4]. In addition, lack of universally accepted set of indices which could be the targets for correction explains the controversial opinions on GDT [1, 2, 5, 6]. Target parameters range from the simplest ones, e. g., capillary refill time [2] and blood pressure (BP) [1, 2], to central hemodynamic parameters measured using Swan–Ganz catheter [7, 8]. Only a few publications have attempted to use transpulmonary thermodilution (TPTD) results for guiding GDT in sepsis [9, 10].

The most current algorithms of GDT include successive correction of central venous pressure

помощью катетера Свана–Ганза [7, 8]. В единичных публикациях делают попытки использовать для ЦОТ при сепсисе результаты транспульмональной термодилуции (ТПТД) [9, 10].

Наиболее современные алгоритмы ЦОТ включают последовательную коррекцию центрального венозного давления (ЦВД), АД, сатурации центральной венозной крови, лактатемии, темпа диуреза [5, 11]. Несмотря на очевидную целесообразность этих корректирующих мер, указывают, что ЦОТ, благоприятно влияя на течение начальных стадий сепсиса, не оказывает влияния на общую летальность и риск развития выраженной полиорганной недостаточности при тяжелом течении сепсиса [11–13]. Кроме того, целесообразность использования для ЦОТ уровня ЦВД в последние годы подвергаются активной критике [6, 14].

В процессе реализации ЦОТ, как правило, рекомендуют достигать и поддерживать уровень ряда умозрительно выбранных показателей в диапазоне нормальных значений [2, 6]. Корректность применения конкретных значений того или иного показателя оценивают эмпирически на основе результатов лечения больных [15].

Вместе с тем, отдельные клиницисты подчеркивают, что оценка состояния кровообращения с позиций физиологической нормы при сепсисе может быть неадекватной [16, 17]. Авторы [16] подчеркивают необходимость поиска новых показателей, более информативно отражающих специфику нарушений ЦГД при сепсисе. Мы также отмечали, что нормальные значения целого ряда параметров, регистрируемых с помощью ТПТД, являются при сепсисе предикторами летального исхода [18].

Таким образом, выбор целевых гемодинамических показателей и их конкретных значений для ЦОТ при сепсисе остается актуальной научно-практической задачей [6]. Возможным подходом к ее решению является выявление параметров кровообращения, которые, с одной стороны, обладают наиболее отчетливой предикторной значимостью в отношении риска летальности, а с другой — могут быть скорректированы с помощью известных лечебных мер. Полагаем, что важным условием при поиске таких целевых показателей должно быть сохранение их предикторной значимости в отношении летальности, несмотря на первичные корректирующие меры и формальную нормализацию стандартных параметров кровообращения.

Цель исследования — изучить предикторную значимость ЦГД в отношении летальности и оценить их потенциальную приемлемость для ЦОТ на протяжении первых четырех суток лечения больных с сепсисом.

(CVP), BP, central venous blood saturation, lactatemia, urine output [5, 11]. Despite the obvious feasibility of these corrective measures and favorable effects of GDT in early stages of sepsis, it has no impact on overall mortality and the risk of advanced multiple organ failure in severe sepsis [11–13]. In addition, the appropriateness of using the CVP level for guiding GDT has been strongly criticized in recent years [6, 14].

While implementing GDT, several hypothetical indices have generally been suggested to be achieved and maintained within normal ranges [2, 6]. The validity of specific values of a particular index is evaluated empirically based on the results of patients' treatment [15].

At the same time, some clinicians emphasize that the assessment of circulation based on normal physiology in sepsis may be inadequate [16, 17]. Some authors [16] underline the need to search for new parameters, reflecting more adequately the specific features of central circulation disturbances in sepsis. We also pointed out that normal values of some parameters registered by TPTD could be predictors of lethal outcome in sepsis [18].

Thus, the choice of target hemodynamic parameters and their specific values for DGT in sepsis remains a relevant scientific and practical issue [6]. A possible solution approach includes the identification of circulatory parameters, which, on the one hand, have the most distinctive predicting value for mortality risk, and, on the other hand, can be corrected by the known therapeutic measures. We believe that the search for such targets should always associate with the preservation of their predictive significance with regard to mortality, despite the primary corrective measures and formal normalization of the standard circulatory parameters.

The aim of this study was: to study the predictive value of central hemodynamic parameters for mortality and evaluate their potential acceptability for GDT during days 1–4 of treatment of patients with sepsis.

## Materials and Methods

This simple observational prospective study, performed in accordance with the approval of the Ethical Committee of the M.F. Vladimirsky Moscow Medical and Research Institute, protocol No. 11 of December 13, 2018, included 65 patients with abdominal sepsis who met the following criteria:

- age from 18 to 85 years;
- no clinical or instrumental signs of septic shock on admission to intensive care unit (ICU): mean blood pressure was >65 mm Hg, lactate <2 mmol/l with fluid and (in some cases) sympathomimetic therapy;
- written informed consent for the use of invasive monitoring and treatment, including transpulmonary thermodilution.

The non-inclusion criteria were:

- terminal stage of cancer;

## Материал и методы

В простое обсервационное проспективное исследование, выполняемое в соответствии с разрешением Этического комитета ФУВ ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского, протокол № 11 от 13.12.2018, включили 65 больных с абдоминальным сепсисом, соответствующих критериям:

- возраст от 18 до 85 лет;
- отсутствие при поступлении в отделение реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) клинико-диагностических признаков септического шока: на фоне инфузионной и в отдельных наблюдениях симпатомиметической терапии уровень АД<sub>ср</sub> был более 65 мм рт. ст., а лактатемии — менее 2 ммоль/л;

— наличие письменного информированного согласия на использование инвазивных мер наблюдения и лечения, включая применение транспульмональной термодилуции.

Критерии невключения:

- терминальная стадия онкологические заболевания;
- наличие сопутствующих клапанных заболеваний сердца и осложненных форм ишемической болезни сердца, хронической недостаточности кровообращения в анамнезе;
- беременность;
- невозможность выполнить катетеризацию бедренной артерии.

Критерии исключения:

- летальный исход в первые 4 суток от поступления в ОРИТ;
- перевод больного в другое отделение или стационар.
- вынужденное прекращение мониторинга ЦГД в первые 4 суток от поступления в ОРИТ.

На основании критериев из исследования исключили 3 больных. Проанализировали результаты обследования и лечения 62 больных, демографические и общеклинические характеристики которых представили в табл. 1. Причинами сепсиса являлись: острый деструктивный панкреатит ( $n=31$ ), острый гангренозный аппендицит ( $n=6$ ), перфоративная язва двенадцатиперстной кишки или желудка ( $n=8$ ), перфорация кишечника ( $n=7$ ), кишечная непроходимость ( $n=2$ ), острый деструктивный холецистит ( $n=2$ ), холангит ( $n=3$ ), обструктивный пиелонефрит ( $n=2$ ), язвенный колит ( $n=1$ ).

При остром деструктивном панкреатите на начальных этапах лечения оперативные вмешательства не выполняли. В 1-е сутки нахождения в ОРИТ больным с холангитом выполняли эндоскопическую ретроградную холангиопанкреатографию с папил-

- history of valvular heart disease and complicated coronary heart disease, chronic failure;
- pregnancy;
- impossibility of performing the femoral artery catheterization.

The exclusion criteria:

- death during days 1–4 of ICU stay;
- patient transfer to the other ward or hospital;
- forced discontinuation of central hemodynamic monitoring during days 1–4 after admission to the ICU.

Based on the criteria, 3 patients were excluded from the study. The results of the investigation and treatment of 62 patients were analyzed, the demographic and general clinical characteristics are presented in Table 1. The causes of sepsis were acute destructive pancreatitis ( $n=31$ ), acute gangrenous appendicitis ( $n=6$ ), perforated duodenal or gastric ulcer ( $n=8$ ), intestinal perforation ( $n=7$ ), intestinal obstruction ( $n=2$ ), acute destructive cholecystitis ( $n=2$ ), cholangitis ( $n=3$ ), obstructive pyelonephritis ( $n=2$ ), ulcerative colitis ( $n=1$ ).

In acute destructive pancreatitis no surgical interventions were performed during the initial stage of treatment. On day 1 of ICU stay patients with cholangitis underwent endoscopic retrograde cholangiopancreatography with papillosphincterotomy, and those with obstructive pyelonephritis had percutaneous puncture nephrostomy done. The remaining patients were admitted to the ICU from the operating room after surgical interventions for their primary disease.

All 62 patients on the ventilator received planned sedation with propofol 0.8–3.1 (2[1–1.9]) mg/kg/h, no other sedatives or muscle relaxants were used.

Lethal outcome on days 8–31 (15.6±1.42) in ICU occurred in 19 (30.6%) patients, 14-day mortality was 12.9%, 28-day — 27.4%.

On day 1 of intensive care the patients underwent catheterization of the central vein (subclavian and/or internal jugular) and femoral artery using Pulsioath PV2015L204F catheter (Pulsion Medical Systems company), which was connected to the PiCCO-plus module (Pulsion Medical Systems company) of Dräger monitoring system. Cardiac output was determined using TPTD according to standard technique [19]. TPTD and central hemodynamic parameters were recorded during the first 12 hours after the patient's admission to ICU, and later daily in the morning between 9.00 and 11.00 a.m.

All patients received standard treatment, including infusion of balanced crystalloid solutions, de-escalation antibiotic therapy with subsequent drug changes according to the results of microbiological studies of biological fluids. Administration and infusion of sympathomimetic drugs were performed according to the protocol of circulatory disturbances correction in agreement with the Sepsis-3 guideline [20].

**Таблица 1. Демографические и общие клинические показатели обследованных пациентов.**

**Table 1. Demographic and general clinical characteristics of studied patients.**

| Parameter                              | Value               | Me [P25–P75] ( $M \pm m$ )                 |
|--|---------------------|--|
| Age, years                             | 22–83               | 50.9±2.13<br>48 [39.25; 63.75] (50.9±2.13) |
| Male/female, $n$ (%)                   | 39/23 (62.9%/37.1%) |  |
| SOFA Score                             | 2–14                | 8,0 [6.75–9.25] (8.1±0.3)                  |
| APACHE II Score                        | 6–20                | 13 [10; 15]                                |
| Surgery on day 1 of treatment, $n$ (%) | 31 (50%)            |  |
| Mechanical lung ventilation, $n$ (%)   | 56 (90.3%)          |  |

**Примечание.** Value — значение; age, years — возраст, лет; male/female — мужчин/женщин; surgery on day 1 of treatment — операция в 1-е сутки лечения; mechanical lung ventilation — искусственная вентиляция легких.

лосфинктеротомией, а больным с обструктивным пиелонефритом — чрескожную пункционную нефростомию. Остальные больные поступали в ОРИТ из операционной после выполнения оперативных вмешательств по поводу основного заболевания.

Все 56 больных, находившихся на ИВЛ, получали плановую седацию: пропофол в дозах 0,8–3,1 (2 [1–1,9]) мг/кг/ч, других седативных препаратов и миорелаксантов не назначали.

Летальный исход на 8–31-е (15,6±1,42) сутки нахождения в ОРИТ наступил у 19 (30,6%) больных, 14-суточная летальность составила 12,9%, 28-суточная — 27,4%.

В 1-е сутки интенсивного лечения больным выполняли катетеризацию магистральной вены (подключичная и/или внутренняя яремная) и бедренной артерии катетером Pulsioath PV2015L204F (фирма «Pulsion Medical Systems»), который соединяли с модулем PiCCO-plus (фирма «Pulsion Medical Systems») мониторной системы Drager. Определение сердечного выброса осуществляли с помощью ТПТД по стандартной методике [19]. ТПТД и регистрацию показателей ЦГД выполняли в первые 12 часов от момента поступления больного в ОРИТ, а затем — ежедневно утром в интервале между 9.00 и 11.00.

Все больные получали стандартное лечение, включавшее инфузию сбалансированных кристаллоидных растворов, стартовую деэскалационную антибиотикотерапию с дальнейшей сменой препаратов, согласно результатам микробиологических исследований биологических сред. Инфузию и назначение симпатомиметических препаратов выполняли в соответствии с протоколом коррекции нарушений в системе кровообращения по рекомендациям Сепсис-3 [20].

В анализ включили пол и возраст больных, а также оценку тяжести их состояния при поступлении в ОРИТ по шкале APACHE II (баллы) и по шкале SOFA (баллы) в первые 24 ч от момента поступления и на 2-е и 4-е сутки лечения.

В 1-е, 2-е и 4-е сутки лечения регистрировали среднее артериальное давление (АД<sub>ср</sub>), частоту сердечных сокращений (ЧСС), сердечный выброс (СВ), сердечный индекс (СИ), общее периферическое сосудистое сопротивление (ОПСС), индексированные ОПСС (ИОПСС), ударный объем (ИУО), глобальный конечно-диастолический объем (ИГКДО), глобальную фракцию изгнания сердца (ГФИС), индекс функции сердца (ИФС) и индекс мощности сердца (ИМС = СИ × АД<sub>ср</sub> / 451). Вычисляли показатель «производительность сердца, обусловленная постнагрузкой» (ПСОП, %) (англ. «afterload-related cardiac performance») [16], как отношение величин измеренного СВ (СВ<sub>и</sub>) и расчетного СВ (СВ<sub>р</sub>):

$$\text{ПСОП (\%)} = \text{СВ}_и (\text{л/мин}) / \text{СВ}_р (\text{л/мин}) \times 100 (\%),$$

$$\text{где } \text{СВ}_р = \text{ОПСС}^{-0.64} \times 394,07.$$

Для хранения и обработки данных использовали базу данных, сформированную в программе Microsoft Office Excel. Развернутый статистический анализ выполнили с помощью программных пакетов «Microsoft Office Excel», и «MedCalc 15». Нормальность распределения данных определяли с помощью критериев Колмогорова–Смирнова и Шапиро–Уилка. При нормальном распределении данные представили в виде медианы (*Me*), 25% и 75% квартилей (*P25–P75*), а также средних ве-

The analysis included sex and age of patients, as well as their severity assessment on admission to the ICU using APACHE II scale (in points) and SOFA scale (in points) in the first 24 hours of admission and on days 2 and 4.

On days 1, 2, and 4 the mean arterial pressure (MAP), heart rate (HR), cardiac output (CO), cardiac index (CI), total peripheral vascular resistance (TPVR), and indexed TPVR (TPVR<sub>i</sub>), stroke volume (SV<sub>i</sub>), global end-diastolic volume (GEDV<sub>i</sub>), global cardiac ejection fraction (GCEF), cardiac function index (CFI), and cardiac power index (CPI = CI × MAP / 451). We calculated the afterload-related cardiac performance (ACP, %) [16] as the ratio of measured CO (CO<sub>measured</sub>) and estimated CO (CO<sub>estimated</sub>):

$$\text{ACP (\%)} = \text{CO}_{\text{measured}} (\text{l/min}) / \text{CO}_{\text{estimated}} (\text{l/min}) \times 100 (\%),$$

$$\text{where } \text{CO}_{\text{estimated}} = \text{TPVR}^{-0.64} \times 397,07$$

A database generated in Microsoft Office Excel was used to store and process the data. Detailed statistical analysis was performed using the Microsoft Office Excel and MedCalc 15 software packages. Normality of data distribution was determined using Kolmogorov–Smirnov and Shapiro–Wilks tests. For normal distribution, data were presented as median (*Me*), 25% and 75% quartiles (*P25* to *P75*), and mean values (*M*) and errors of the mean (*m*); for non-normal distribution, data were presented as median (*Me*) and 25% and 75% quartiles (*P25* to *P75*). Frequency of the variables was represented as the mean frequency (*P*). Stepwise differences were assessed using Student's test for paired comparisons and Wilcoxon's test with Bonferroni correction. Frequency differences were compared using Pearson's  $\chi^2$  test. Differences were considered significant at  $P < 0.05$ .

To evaluate the prognostic significance of the indices, we assessed the influence of independent variables on the binary-coded dependent ones using logistic regression. When performing logistic regression, we calculated odds ratio (*OR*), 95% confidence interval (*CI*), and significance of influence (*P*). ROC analysis was performed to assess the discrimination (distinguishing between patients with favorable and unfavorable outcomes) of independent variables. It included only those indexes which demonstrated predictive significance according to logistic regression data. We analyzed the characteristics of ROC-curves and calculated the area under the curve (*AUC*). Model quality was considered to be excellent in  $\text{AUC} > 0.9$ , very good in 0.8–0.89, good in 0.7–0.79, medium in 0.6–0.69, poor in 0.5–0.59. The AUCs were compared with each other, and their differences were considered to be significant at  $P < 0.05$ . The cut-off point, i.e., the value of the variable indicating the risk of an adverse outcome, was determined according to the Youden index (sum of maximum sensitivity and specificity requirement), the test sensitivity requirement approaching 80%, and the balance requirement between sensitivity and specificity (minimum difference between these values). The value that corresponds most closely to all three requirements was chosen as the cut-off point. In assessing sensitivity and specificity, the confidence interval (*CI*) of these parameters was calculated.

## Results and Discussion

Moderate tachycardia, which persisted on all subsequent days, decreased versus normal median TPVR<sub>i</sub> and GEDV<sub>i</sub> (Table 2) were noted on day 1.

личин ( $M$ ) и ошибок средних ( $m$ ), при распределении, отличном от нормального — в виде медианы ( $Me$ ) и 25% и 75% квартилей ( $P25-P75$ ). Частоту признаков представляли в виде средней частоты ( $P$ ). Поэтапные отличия оценивали с помощью критерия Стьюдента для парных сравнений и критерия Вилкоксона с поправкой Бонферрони. Отличия частотных признаков сравнивали с помощью критерия  $\chi^2$  Пирсона. Отличия считали значимыми при  $p < 0,05$ .

Для оценки прогностической значимости показателей оценивали влияние независимых переменных на зависимую, закодированную бинарно, с помощью метода логистической регрессии. При выполнении логистической регрессии рассчитывали отношение шансов (ОШ), 95% доверительный интервал (ДИ) и значимость влияния ( $p$ ). Для оценки разделительной способности (разграничение больных с благоприятными и неблагоприятными исходами) независимых переменных выполняли ROC-анализ. В последний включали только те показатели, которые продемонстрировали предикторную значимость по данным логистической регрессии. Анализировали характеристики ROC-кривых с расчетом площади под кривой (ППК). Качество модели считали при  $ППК > 0,9$  — отличным,  $0,8-0,89$  — очень хорошим,  $0,7-0,79$  — хорошим,  $0,6-0,69$  — средним,  $0,5-0,59$  — неудовлетворительным. Выполняли сравнение ППК; отличие ППК считали значимым при  $p < 0,05$ . Пороговое значение (ПЗ) переменной (порог отсечения, точка «cut-off»), т. е. значение переменной, указывающее на риск неблагоприятного исхода, определяли по индексу Юдена (требование максимальной суммы чувствительности и специфичности), требованию чувствительности теста, приближающейся к 80%, и требованию баланса между чувствительностью и специфичностью (минимальная разность между этими значениями). За ПЗ принимали значение, в наибольшей степени соответствующее всем трем требованиям. При оценке чувствительности и специфичности рассчитывали доверительный интервал (ДИ) этих показателей.

## Результаты и обсуждение

В 1-е сутки отметили умеренную тахикардию, сохранявшуюся на всех последующих этапах, уменьшение относительно нормы медианы ИОПСС и ИГҚДО (табл. 2). ПСОП был снижен по отношению к оптимальному уровню ( $\geq 80\%$ ). На 2-е сутки увеличивались СИ, ПСОП, ИУО, ИМС и ГФИС. При этом медианы всех этих показателей находились в пределах нормальных значений. На 4-е сутки зарегистрировали дальнейшее увеличение ИУО. На этом этапе значения большинства параметров ЦГД, включая АД<sub>ср</sub>, были выше, чем в 1-е сутки; неизменными оставались только ЧСС, ИОПСС и ИФС.

ЧСС на всех этапах исследования не обладала разделительной способностью в отношении летальности при сепсисе (табл. 3). Некоторые показатели были предикторами неблагоприятного исхода только на одном из этапов исследования: ИУО и ИОПСС — на

ACP was decreased versus the optimal level ( $\geq 80\%$ ). On day 2, CI, ACP, SVi, CPI and GCEF increased. At the same time, medians of all these indices were within normal values. On day 4, we recorded a further increase in SVi. At this stage the values of the majority of central hemodynamic parameters, including MAP, were higher than on day 1; only HR, TPVri and CFI remained unchanged.

HR at all stages of the study had no discriminating power with regard to mortality in sepsis (Table 3). Some indices were predictors of adverse outcome only at one stage of the study: SVi and TPVri on day 2, while MAP and GEDVi on day 4. CPI had predictive significance on days 2 and 4. CI, ACP, GCEF and CFI had robust discriminating power for sepsis mortality during the whole study period.

The indices that had predictive significance only on day 2 of the study (SVi, TPVri) in ROC analysis (Table 4) provided good quality models, with a sensitivity of about 60%. Only cut-off point of TPVri, which was close to the upper normal limit, had a specificity exceeding 80%. MAP and GEDVi on day 4 proved moderate quality models with unsatisfactory sensitivity and specificity. Thus, all four of these parameters had no discriminating power to reliably predict the risk of mortality. The CPI on days 2 and 4 of follow-up provided good quality models. However, the cut-off point of the index exceeding  $0.7 \text{ W/m}^2$  had insufficient balance of sensitivity and specificity (the difference between them was about 20%).

Of the four central hemodynamic parameters with consistent predictive value, only the CFI in all stages of the study provided good quality models with almost robust cut-off point ( $5.75-5.8 \text{ min}^{-1}$ ) and balanced sensitivity and specificity, in most cases exceeding 70%. The cut-off point of ACP and GCEF being decreased on day 1, increased significantly later in the study, reaching normal levels by day 4. CI had a fairly consistent cut-off point ( $3.5-3.7 \text{ l/min/m}^2$ ), but its sensitivity and specificity were low and/or unbalanced on days 1 and 4 of follow-up.

The hemodynamic profile of the studied patients was similar to one of sepsis, described in numerous studies. The most persistent abnormalities were moderate decrease in TPVri and tachycardia, characteristic of sepsis [17, 21]. Sinus tachycardia in the clinical situation under consideration has a complex origin, which includes the effects of bacterial lipopolysaccharides and proinflammatory cytokines on cardiac pacemaker [22, 23], increased sympathetic activity due to excess of endogenous and administration of exogenous catecholamines [24], changes characteristic of septic myocarditis [25], and pathophysiological response to absolute or relative hypovolemia [26].

Based on the values of medians of central hemodynamic parameters, there was no marked in-

**Таблица 2. Показатели кровообращения у пациентов с абдоминальным сепсисом в первые четверо суток интенсивного лечения.****Table 2. Circulatory parameters in patients with abdominal sepsis during days 1–4 of intensive care.**

| Parameter                                    | Values on various days of treatment, Me [P25 – P75] (M±m) |                                |                                | Differences |          |          |
|--|---|--------------------------------|--------------------------------|-------------|----------|----------|
|  | Day 1   | Day 2                          | Day 4                          | Days 1–2    | Days 1–4 | Days 2–4 |
| MAP, mm Hg                                   | 89 [76.25–105.3]  | 97.75 [88.5–106.88]            | 102.7 [91.1–109]               | P=0.086     | P=0.012  | P=0.643  |
| HR, min <sup>-1</sup>                        | 102 [90–112]<br>(100.7±2.3)                               | 99 [88.4–108]<br>(98.2±1.8)    | 97 [88.25–105]<br>(96.2±2.06)  | P=0.939     | P=0.243  | P=0.892  |
| CI, l/min/m <sup>2</sup>                     | 3.5 [2.58–4.01]   | 3.78 [3.08–4.39]               | 4.02 [3.43–4.65]               | P=0.027     | P=0.0001 | P=0.157  |
| ACP, %                                       | 77.02 [68.2–87.4]   | 85.35 [79.69–91.63]            | 87.16 [80.2–94.6]              | P=0.0003    | P=0.0001 | P=1.0    |
| SVi, ml/m <sup>2</sup>                       | 37.16 [25–44.31]<br>(36.2±1.63)                           | 40 [33–47.66]<br>(40.3±1.46)   | 44.5 [40–50]<br>(44±1.18)      | P=0.007     | P<0.0001 | P=0.004  |
| TPVRI, dyn×s×cm <sup>5</sup> /m <sup>2</sup> | 1896 [1590–2561]  | 1901 [1685–2471]               | 1795 [1510–2216]               | P=1.0       | P=0.092  | P=0.143  |
| CPI, W/m <sup>2</sup>                        | 0.62 [0.52–0.85]  | 0.795 [0.643–0.992]            | 0.88 [0.69–1.01]               | P=0.0125    | P=0.0001 | P=0.099  |
| GEDVi, ml/m <sup>2</sup>                     | 573.7 [475–708.8]   | 619.1 [512.7–761.1]            | 636 [560–749.5]                | P=0.526     | P=0.024  | P=0.292  |
| GCEF, %                                      | 24.9 [18.3–29.1]  | 27.1 [21.26–31]                | 27.88 [22.7–32.5]              | P=0.015     | P=0.0001 | P=0.654  |
| CFI, min <sup>-1</sup>                       | 6.04 [5.16–6.81]<br>(5.9±0.22)                            | 6.19 [4.95–7.78]<br>(6.3±0.27) | 5.91 [5.04–7.85]<br>(6.3±0.26) | P=0.127     | P=0.08   | P=1.0    |

**Note.** For table 2–4: MAP — mean arterial pressure; HR — heart rate; CI — cardiac index; ACP — afterload-related cardiac performance; SVi — stroke volume index; TPVRI — total peripheral vascular resistance index; CPI — cardiac power index; GEDVi — global end-diastolic volume index; GCEF — global cardiac ejection fraction; CFI — cardiac function index.

**Примечание.** Values on various days of treatment — значения показателей в различные сутки лечения; differences — различия; для табл. 2–4: MAP — среднее артериальное давление, Адср; HR — частота сердечных сокращений, ЧСС; CI — сердечный индекс, СИ; ACP — производительность сердца, обусловленная постнагрузкой, ПСОП; SVi — индекс ударного объема, ИУО; TPVRI — индекс общего периферического сосудистого сопротивления, ИОПСС; CPI — индекс мощности сердца, ИМС; GEDVi — индекс глобального конечно-диастолического объема, ИГКДО; GCEF — глобальная фракция изгнания сердца, ГФИС; CFI — индекс функции сердца, ИФС.

2-е сутки, а Адср и ИГКДО — на 4-е сутки. ИМС имел предикторную значимость на 2-е и 4-е сутки. Устойчивой разделительной способностью в отношении летального исхода сепсиса в течение всего периода исследования обладали СИ, ПСОП, ГФИС и ИФС.

Показатели, обладавшие предикторной значимостью только на 2-е сутки исследования (ИУО, ИОПСС), при ROC-анализе (табл. 4) обеспечили модели хорошего качества, с уровнем чувствительности около 60%. Только ПЗ ИОПСС, близкое к верхней границе нормы, обладало специфичностью, превышавшей 80%. Адср и ИГКДО на 4-е сутки продемонстрировали модели среднего качества с неудовлетворительным уровнем чувствительности и специфичности. Таким образом, все четыре указанных параметра не обладали разделительной способностью, позволявшей уверенно прогнозировать риск летальности. ИМС на 2-е и 4-е сутки наблюдения обеспечил модели хорошего качества. Однако ПЗ показателя, превышавшие 0,7 Вт/м<sup>2</sup>, не обладали достаточной сбалансированностью чувствительности и специфичности (разность чувствительности и специфичности приближалась к 20%).

Из четырех параметров ЦГД, обладавших устойчивой предикторной значимостью, только ИФС на всех этапах исследования обеспечил модели хорошего качества с практически стабильным ПЗ (5,75–5,8 мин<sup>-1</sup>) и сбалансированными чувствительностью и специфичностью, в большинстве случаев превышавшими 70%. ПЗ ПСОП и ГФВ, сниженные в 1-е сутки, существен-

**Таблица 3. Предикторная значимость показателей кровообращения у пациентов с абдоминальным сепсисом в первые четверо суток интенсивного лечения (логистическая регрессия).****Table 3. Predictor significance of blood circulation parameters in patients with abdominal sepsis on days 1–4 of intensive care (logistic regression).**

| Parameter | Day | OR     | 95% CI        | P value |
|-----------|-----|--------|---------------|---------|
| MAP       | 1   | 1.0042 | 0.9765–1.0326 | 0.7689  |
|           | 2   | 0.9986 | 0.9608–1.0380 | 0.9439  |
|           | 4   | 0.9547 | 0.9127–0.9986 | 0.0432  |
| HR        | 1   | 0.9906 | 0.9612–1.0209 | 0.5402  |
|           | 2   | 1.0207 | 0.9814–1.0617 | 0.3064  |
|           | 4   | 0.9915 | 0.9584–1.0257 | 0.6205  |
| CInd      | 1   | 0.5199 | 0.2790–0.9687 | 0.0394  |
|           | 2   | 0.3667 | 0.1793–0.7500 | 0.0060  |
|           | 4   | 0.3647 | 0.1724–0.7713 | 0.0083  |
| ACP       | 1   | 0.9488 | 0.9030–0.9970 | 0.0377  |
|           | 2   | 0.9376 | 0.8860–0.9921 | 0.0254  |
|           | 4   | 0.9122 | 0.8562–0.9719 | 0.0045  |
| SVi       | 1   | 0.9781 | 0.9354–1.0228 | 0.3323  |
|           | 2   | 0.9241 | 0.8722–0.9791 | 0.0074  |
|           | 4   | 0.9413 | 0.8841–1.0022 | 0.0586  |
| TPVRI     | 1   | 1.0005 | 0.9999–1.0012 | 0.1110  |
|           | 2   | 1.0014 | 1.0004–1.0024 | 0.0044  |
|           | 4   | 1.0006 | 0.9998–1.0014 | 0.1307  |
| CPI       | 1   | 0.2772 | 0.0382–2.0108 | 0.2044  |
|           | 2   | 0.0771 | 0.0063–0.9356 | 0.0442  |
|           | 4   | 0.0032 | 0.0001–0.1113 | 0.0015  |
| GEDVi     | 1   | 1.0026 | 0.9998–1.0053 | 0.0650  |
|           | 2   | 1.0023 | 0.9992–1.0053 | 0.1424  |
|           | 4   | 1.0044 | 1.0009–1.0080 | 0.0149  |
| GCEF      | 1   | 0.9181 | 0.8466–0.9956 | 0.0389  |
|           | 2   | 0.8687 | 0.7939–0.9506 | 0.0022  |
|           | 4   | 0.8939 | 0.8217–0.9724 | 0.0090  |
| CFI       | 1   | 0.5797 | 0.3963–0.8479 | 0.0049  |
|           | 2   | 0.6421 | 0.4638–0.8889 | 0.0076  |
|           | 4   | 0.6067 | 0.4293–0.8575 | 0.0046  |

**Note.** OR — odds ratio; CI — confidence interval.

**Примечание.** OR — отношение шансов, ОШ. Для табл. 3, 4: CI — доверительный интервал, ДИ.

**Таблица 4. Разделительная способность показателей кровообращения у больных с абдоминальным сепсисом в первые четверо суток интенсивного лечения (ROC-анализ).**

**Table 4. Discriminating power of circulation parameters in patients with abdominal sepsis on days 1–4 of intensive care (ROC-analysis).**

| Parameter | Day | AUC   | 95% CI      | P value | Cut-off | % (CI)           |                  |
|-----------|-----|-------|-------------|---------|---------|------------------|------------------|
|           |     |       |             |         |         | Sensitivity      | Specificity      |
| MAP       | 4   | 0.670 | 0.540–0.783 | 0.0256  | ≤103    | 73.7 (48.8–90.9) | 55.8 (39.9–70.9) |
| CInd      | 1   | 0.670 | 0.540–0.783 | 0.0299  | ≤3.575  | 73.7 (48.8–90.9) | 55.8 (39.9–70.9) |
|           | 2   | 0.748 | 0.622–0.849 | 0.0010  | ≤3.655  | 73.7 (48.8–90.9) | 74.4 (58.8–86.5) |
|           | 4   | 0.707 | 0.578–0.816 | 0.0057  | ≤3.773  | 68.4 (43.4–87.4) | 66.7 (50.5–80.4) |
| ACP       | 1   | 0.653 | 0.566–0.804 | 0.0391  | ≤71.257 | 47.4 (24.4–71.1) | 69.8 (53.9–82.8) |
|           | 2   | 0.703 | 0.557–0.797 | 0.0098  | ≤82.145 | 57.9 (33.5–79.7) | 69.8 (53.9–82.8) |
|           | 4   | 0.737 | 0.623–0.851 | 0.0004  | ≤86.412 | 73.7 (48.8–90.9) | 61.9 (45.6–76.4) |
| SVi       | 2   | 0.700 | 0.571–0.809 | 0.0081  | ≤39     | 63.2 (38.4–83.7) | 60.5 (44.4–75.0) |
| TPVri     | 2   | 0.736 | 0.609–0.839 | 0.0016  | >2353   | 63.2 (38.4–83.7) | 81.4 (66.6–91.6) |
| CPI       | 2   | 0.725 | 0.598–0.830 | 0.0046  | ≤0.794  | 79.0 (54.5–93.9) | 62.8 (46.7–77.0) |
|           | 4   | 0.782 | 0.659–0.877 | <0.0001 | ≤0.727  | 63.2 (38.4–83.7) | 85.7 (71.5–94.6) |
| GEDVi     | 4   | 0.646 | 0.514–0.763 | 0.0816  | >639.5  | 57.9 (33.5–79.7) | 59.5 (43.3–74.4) |
| GCEF      | 1   | 0.657 | 0.526–0.772 | 0.0683  | ≤21.458 | 63.2 (38.4–83.7) | 74.4 (58.8–86.5) |
|           | 2   | 0.749 | 0.624–0.850 | 0.0004  | ≤24.855 | 63.2 (38.4–83.7) | 69.8 (53.9–82.8) |
|           | 4   | 0.690 | 0.560–0.802 | 0.0118  | ≤26.385 | 63.2 (38.4–83.7) | 61.9 (45.6–76.4) |
| CFI       | 1   | 0.708 | 0.580–0.816 | 0.0086  | ≤5.806  | 73.7 (48.8–90.9) | 67.4 (51.5–80.9) |
|           | 2   | 0.708 | 0.580–0.816 | 0.0097  | ≤5.794  | 73.7 (48.8–90.9) | 72.1 (56.3–84.7) |
|           | 4   | 0.753 | 0.627–0.854 | 0.0009  | ≤5.746  | 79.0 (54.4–93.9) | 73.8 (58.0–86.1) |

**Note.** AUC — area under curve.

**Примечание.** AUC — площадь под кривой, ППК; Cut-off — отсечение; Sensitivity — чувствительность; Specificity — специфичность.

но возрастали на этапах исследования, достигая к 4-м суткам нормального уровня. СИ обладал достаточно стабильным ПЗ (3,5–3,7 л/мин/м<sup>2</sup>), но в 1-е и 4-е сутки наблюдения чувствительность и специфичность были низкими и/или несбалансированными.

Гемодинамический профиль обследованных больных соответствовал состоянию кровообращения при сепсисе, описанному в многочисленных исследованиях. Наиболее стойкими нарушениями являлись: характерное для сепсиса умеренное снижение ИОПСС и тахикардия [17, 21]. Синусовая тахикардия в рассматриваемой клинической ситуации имеет комплексный патогенез, который включает влияние на водитель сердечного ритма липополисахарида и провоспалительных цитокинов [22, 23], повышение симпатической активности при избытке эндогенных и введении экзогенных катехоламинов [24], изменения, характерные для септического миокардита [25], а также патофизиологический ответ на абсолютную или относительную гиповолемию [26].

Судя по медианам параметров ЦД, в первые сутки наблюдения выраженного угнетения насосной функции сердца не было. Вместе с тем, регистрировали уменьшение ПСОП и ГФИС, которые указывали на некоторую депрессию сократимости сердца [16, 19]. Эту депрессию традиционно объясняют уменьшением преднагрузки (умеренное снижение ИГКДО) на фоне дистрибутивных нарушений кровообращения [19].

inhibition of cardiac pump function during the first 24 hours of the follow-up. At the same time, reduced ACP and GCEF were found, which indicated certain depression of cardiac contractility [16, 19]. This depression is traditionally explained by decreased preload (moderate reduction of GEDVi) with the underlying distributive circulatory derangements [19].

Starting from day 2 of intensive care, all circulatory indices, including ACP and GCEF, were practically normal. Obviously, the corrective measures based on Sepsis-3 guidelines [20] allowed achieving formal normalization of most hemodynamic parameters, including MAP and CI.

MAP during the initial stages of treatment was not a predictor of mortality, i. e., achieving the goal (MAP>65–70 mm Hg), used in all GDT protocols [1, 2], was not naturally associated with the outcome of sepsis. Only on day 4 of follow-up the risk of mortality increased in patients with MAP <103 mm Hg. However, maintenance of elevated MAP by high doses of vasopressors is currently strongly discouraged [2]. Probably, apparent predicting ability of CPI regarding mortality on days 2–4 of follow-up was also due to a slightly decreased MAP level in patients who died later with constant CI value. CPI might not be considered as a potential target indicator in sepsis, in contrast to heart failure [27]. Other parameters, whose predictive significance appeared only at one of the stages of the study (SVi, TPVri, and GEDVi), could not be considered as the target indexes as well. In addition, all these parameters had insufficient sensitivity and/or specificity, indicating poor quality of the prognostic model.

Начиная со 2-х суток интенсивного лечения, все показатели кровообращения, включая ПСОП и ГФИС, становились практически нормальными. Очевидно, что корректирующие меры, основанные на рекомендациях Сепсис-3 [20], позволили достичь формальной нормализации большинства гемодинамических параметров, включая АД<sub>ср</sub> и СИ.

АД<sub>ср</sub> на начальных этапах лечения не являлось предиктором летальности, т. е. достижение цели (АД<sub>ср</sub> > 65–70 мм рт. ст.), используемой во всех протоколах ЦОТ [1,2], не было закономерно связано с исходом сепсиса. Только на 4-е сутки наблюдения у больных с уровнем АД<sub>ср</sub> < 103 мм рт. ст. риск летальности возрастал. Однако поддержание повышенного АД<sub>ср</sub> за счет высоких доз вазопрессоров в настоящее время однозначно не рекомендуют [2]. Вероятно, проявление предикторной значимости ИМС в отношении летальности на 2–4-е сутки наблюдения также было обусловлено несколько сниженным уровнем АД<sub>ср</sub> у умерших в дальнейшем больных на фоне постоянного уровня СИ. Вполне вероятно, что при сепсисе, в отличие от сердечной недостаточности [27], ИМС не может рассматриваться как потенциальный целевой показатель. Также не могли претендовать на роль целевых показателей и другие параметры, предикторная значимость которых проявлялась только на одном из этапов исследования — ИУО, ИОПСС и ИГКДО. Кроме того, у всех этих показателей был неудовлетворительным уровень чувствительности и/или специфичности, что указывало на недостаточно высокое качество прогностической модели.

Учитывая патогенез дистрибутивных нарушений кровообращения при сепсисе и важнейшую роль преднагрузки в этой клинической ситуации [17, 28], вполне закономерен интерес к ИГКДО. Последний считают чувствительным показателем преднагрузки [19]. ИГКДО пытались применить в качестве ориентира для ЦОТ, но не получили удовлетворения [29]. Алгоритм коррекции ИГКДО, как правило, предусматривает увеличение исходно сниженного параметра. Например, рекомендуют выбирать лечебную тактику, ориентируясь на ИГКДО > 740 мл/м<sup>2</sup> [6], т. е. уровень, соответствующий середине диапазона нормальных значений [19].

По нашим данным, с летальным исходом ассоциировался более высокий, чем у остальных больных, но нормальный уровень ИГКДО. Это полностью противоречит трактовке авторов [28], указывавших, что увеличение конечно-диастолического объема левого желудочка (т. е. прирост преднагрузки) при сепсисе является благоприятным прогностическим признаком. Неоднозначность в оценке опти-

In view of the pathogenesis of distributive circulatory disturbances in sepsis and the crucial role of preload in this clinical situation [17, 28], the interest in GEDVi is quite natural. This index is considered to be a sensitive indicator of preload [19]. There have been attempts to use GEDVi as a landmark for GDT, but they were unsuccessful [29]. As a rule, the algorithm of GEDVi correction includes augmentation of initially decreased parameter. For example, it is recommended to choose treatment strategy guided by GEDVi > 740 ml/m<sup>2</sup> [6], i. e., corresponding to the mid-point of the normal value range [19].

Our data showed that a higher than in other patients but normal level of GEDVi was associated with the lethal outcome. It completely contradicts the interpretation of some authors [28], who pointed out that the increase in left ventricular end-diastolic volume (i. e., preload increase) in sepsis is a favorable prognostic sign. Ambiguity in the assessment of the optimal level of GEDVi in complex hemodynamic disorders in sepsis [17], probably, makes it difficult to use this indicator as a target one. Obviously, a normal GEDVi level cannot be regarded as an indication for the initiation of any corrective measures that can reduce it, such as restrictive infusion strategy and/or diuretic therapy. Thus, control of GEDVi does not always pave the way for an effective therapeutic strategy.

The CI, ACP, GCEF, and CFI had consistent discrimination power with respect to mortality. At the same time, the quality of models (AUC), as well as sensitivity and specificity of cut-off point at different stages varied. For example, on day 1, the risk of mortality was increased in patients with CI < 3.57 L/min/m<sup>2</sup>, but the model quality was average, and the specificity of the cut-off point was 56.8%, indicating an extremely high risk of false negative results. On day 4, decreased CI provided good model quality, but the cut-off point (< 3.77 L/min/m<sup>2</sup>) also had insufficient sensitivity and specificity (< 70%). The difficulty of adequately interpreting «normality» or «reduction» of CI in sepsis is quite obvious. According to some authors, in most patients with reduced afterload due to vasodilatation CI could be significantly elevated, especially after active fluid therapy [16, 17]. Nevertheless, the specific extent of such an increase remains unclear, and the proper CI values have not been established. Some authors recommend maintaining moderately reduced CI (2.5–2 L/min/m<sup>2</sup>) without using it as a target [2]. Other clinicians use its value of ≥ 2.5–2 L/min/m<sup>2</sup> as target [7], with no specified upper normal limit. However, maintenance of SI values above normal limit (> 4.5 L/min/m<sup>2</sup>) has not been shown to improve sepsis outcome [30].

ACP reflecting the adequacy of CI elevation in response to reduced afterload was developed in an attempt to optimize the evaluation and interpreta-

мального уровня ИГКДО в условиях сложных нарушений гемодинамики при сепсисе [17], вероятно, затрудняет использование этого показателя как целевого. Вполне очевидно, что нормальный уровень ИГКДО не может расцениваться как показание к началу каких-либо корригирующих мер, способных его уменьшить, например, рестриктивной инфузионной тактики и/или диуретической терапии. Таким образом, контроль ИГКДО не всегда создает предпосылки для рациональной лечебной тактики.

Устойчивой разделительной способностью в отношении летальности обладали СИ, ПСОП, ГФВ и ИФС. Вместе с тем, качество моделей (ППК), а также чувствительность и специфичность ПЗ на различных этапах варьировали. Например, в 1-е сутки риск летальности был повышен у больных с СИ < 3,57 л/мин/м<sup>2</sup>, но при этом качество модели было средним, а специфичность ПЗ составила 56,8%, что указывало на крайне высокий риск ошибок второго рода. На 4-е сутки снижение СИ обеспечило хорошее качество модели, но ПЗ (< 3,77 л/мин/м<sup>2</sup>) также характеризовалось недостаточными чувствительностью и специфичностью (< 70%). Сложность адекватной трактовки при сепсисе «нормальности» или «снижения» СИ вполне очевидна. Указывают, что при сниженной постнагрузке на фоне вазодилатации СИ у большинства больных должен быть существенно повышен, особенно после активных инфузий [16, 17]. Тем не менее, конкретная степень такого повышения остается не вполне ясной, а должные значения СИ не установлены. Одни авторы рекомендуют поддерживать умеренно сниженный СИ (2,5–2 л/мин/м<sup>2</sup>), не используя последний в качестве целевого показателя [2]. Другие клиницисты используют в качестве целевого СИ ≥ 2,5–2 л/мин/м<sup>2</sup> [7], при этом верхняя граница рекомендуемого диапазона значений не указывается. Вместе с тем, было показано, что поддержание супранормального СИ (> 4,5 л/мин/м<sup>2</sup>) не улучшает исход сепсиса [30].

Попыткой оптимизировать оценку и трактовку нарушений насосной функции сердца при сепсисе является разработанный [16] показатель ПСОП, отражающий адекватность повышения СИ в ответ на уменьшение постнагрузки. Сниженный ПСОП сохранял предикторную значимость в отношении риска летальности на протяжении всего периода наблюдения. Однако качество модели, чувствительность и специфичность ПЗ были аналогичны этим характеристикам у модели, основанной на СИ. Кроме того, если в 1-е сутки ПЗ соответствовало описанному ранее [16] в качестве предиктора летальности (около 70%), то к 4-м суткам ПЗ возрастало до практически нормальных значений (около 90%), которые не должны были

tion of cardiac pump dysfunction in sepsis [16]. Reduced ACP retained its predictive value regarding the risk of mortality throughout the whole period of observation. However, the model quality, sensitivity, and specificity of the cut-off point were similar to those of the CI-based model. In addition, while on day 1, the cut-off point was consistent with that previously described [16] as a predictor of mortality (about 70%), by day 4, the cut-off point increased to near normal values (about 90%), which were not supposed to associate with mortality. Thus, ACP turned out to be quite acceptable for screening of patients with reduced cardiac function but did not provide effective assessment of blood circulation over time after the initial corrective measures.

A similar situation was characteristic of GCEF, whose cut-off point increased from a reduced (21%) to a normal level (26%) as a result of treatment [19]. Such changes in GCEF can be interpreted as an indicator of complete treatment efficacy. At the same time, by day 4 of follow-up, the physiological value of GCEF, characteristic of preserved systolic heart function [19, 31], associated with an increased risk of mortality. As a result, the issue of the appropriate GCEF level, the necessity and the options of its correction remained unsolved.

The only hemodynamic index that maintained acceptable model quality (AUC > 0.7) and consistent cut-off point value throughout the study was CFI. We have previously reported this index as an early predictor of adverse outcome of abdominal sepsis [32, 33]. In addition, in the clinical situation under consideration, CFI correlates with the age of patients [33, 34]. There are few studies on the diagnostic value of this index in sepsis. The CFI in patients with septic cardiopathy has been reported to be as informative as echocardiographic indices and invasive hemodynamic evaluation using Swan–Ganz catheter [31, 35]. According to our data, CFI in early period after patients' admission to ICU has better prognostic value with regard to mortality than standard bedside echocardiographic parameters (ejection fraction and left ventricular volumes) [36].

The cut-off point for CFI remained practically unchanged throughout the study and was within the middle of the normal range (4.5–6.5 min<sup>-1</sup>) [19]. This is consistent with the concept of a favorable role of moderate increase of cardiac pump function in sepsis [16], which indicates, above all, an adequate response of myocardial inotropy to reduced afterload [16, 17]. At the same time, when using the cut-off point of CFI as a guide for GDT there will be no need to provide supranormal level of cardiac performance, which can facilitate the choice of optimal treatment strategy.

Previously, CFI has not been considered as a parameter of GDT. Normal values of this index (about 6 min<sup>-1</sup>) were reported in the general group of pa-

быть ассоциированы с летальностью. Таким образом, ПСОП оказался вполне приемлем для скрининга больных со сниженной функцией сердца, но не обеспечил эффективной динамической оценки кровообращения после начальных корригирующих мер.

Сходная ситуация была характерна для ГФИС, ПЗ которой в результате лечения возросло со сниженного (21%) до нормального уровня (26%) [19]. Такая динамика ГФИС может трактоваться как показатель полной эффективности лечения. Вместе с тем, к 4-м суткам наблюдения физиологическое значение ГФИС, характерное для удовлетворительной систолической функции сердца [19, 31], было ассоциировано с повышенным риском летальности. В результате вопрос о должном уровне ГФИС, необходимости и варианте корригирующей терапии оставался открытым.

Единственным гемодинамическим показателем, сохраняющим приемлемое качество модели (ППК > 0,7) и стабильное значение ПЗ на этапах исследования был ИФС. Ранее мы отмечали, что этот показатель является ранним предиктором неблагоприятного исхода абдоминального сепсиса [32, 33]. Кроме того, в рассматриваемой клинической ситуации ИФС коррелирует с возрастом больных [33, 34]. Исследования, посвященные диагностической ценности показателя при сепсисе немногочисленны. Сообщали, что ИФС у больных с септической кардиопатией не уступает по информативности эхокардиографическим (ЭхоКГ) показателям и инвазивной оценке ЦГД с помощью катетера Свана-Ганза [31, 35]. По нашим данным, ИФС в ранние сроки после поступления больных в ОРИТ обладает лучшей прогностической способностью в отношении летальности, чем стандартные параметры прикроватной ЭхоКГ (фракция изгнания и объемы левого желудочка) [36].

ПЗ для ИФС практически не менялось в течение всего периода наблюдения и соответствовало середине диапазона нормальных значений (4,5–6,5 мин<sup>-1</sup>) [19]. Это вполне укладывается в концепцию о благоприятной роли при сепсисе умеренно повышенной насосной функции сердца [16], что свидетельствует, прежде всего, об адекватной реакции миокардиального инотропизма на снижение постнагрузки [16, 17]. Вместе с тем, при использовании ПЗ ИФС в качестве ориентира для ЦОТ не будет необходимости обеспечивать супранормальный уровень производительности сердца, что может облегчить выбор рациональной лечебной тактики.

Ранее ИФС не рассматривали в качестве параметра ЦОТ. В общей группе больных с сепсисом были описаны нормальные значения показателя (около 6 мин<sup>-1</sup>), а при тяжелой

tients with sepsis, and while in severe septic cardiopathy it dropped down to less than 4.5 min<sup>-1</sup> [31]. In a mixed population of general ICU patients, a sharp decrease in left ventricular ejection fraction is associated with a CFI of about 3.2 min<sup>-1</sup> [35, 37]. Our data suggest that while correcting CFI in sepsis, one should maintain it within 5.7–6.5 min<sup>-1</sup>, using the established cut-off point and the upper normal limit as the desirable range of values.

It follows from the formula of CFI calculation (CI/GEDVi) that this parameter reflects not only myocardial systolic function [31, 35], but also the efficiency of preload performance, i. e., heterometric regulation of cardiac work according to the fundamental Frank–Starling law [38]. The most important condition for adequate preload is normal myocardial relaxation, which can be disturbed in septic cardiopathy. The extremely unfavorable role of diastolic dysfunction in sepsis is currently beyond doubt [39]. We believe that the decrease of CFI below 5.7 min<sup>-1</sup> can be considered as an early manifestation of septic cardiopathy and using CFI as one of the correctable parameters of GDT aimed at optimizing blood circulation in sepsis could be reasonable.

Limitations of the study: the study group included both the operated patients with various abdominal and retroperitoneal surgical diseases complicated by sepsis and non-operated patients with acute destructive pancreatitis; thermodilution study of central hemodynamics was performed once a day.

## Conclusion

Thus, we conclude that despite satisfactory median values of circulatory indices achieved as a result of correction therapy, specific levels of CI, ACE, GCEF and CFI during days 1–4 of ICU stay are predictors of fatal outcome in sepsis. At the same time, the only hemodynamic index that retained fair quality (AUC 0.708–0.753) and consistent cut-off point ( $\leq 5.75$  —  $\leq 5.81$  min<sup>-1</sup>) with acceptable and balanced sensitivity and specificity, reaching 70%, at all stages of the study was CFI. Considering that this index reflects not only systolic myocardial function, but also the efficiency of heterometric regulation of cardiac work according to the Frank–Starling law, it can be assumed that a decrease in this index down to 5.7 min<sup>-1</sup> and less is an early manifestation of myocardial dysfunction characteristic of septic cardiopathy. Further research into the feasibility of using CFI as one of the correctable indices in GDT aimed at optimizing the cardiovascular function in sepsis is required.

септической кардиопатии — снижение до уровня менее 4,5 мин<sup>-1</sup> [31]. Известно, что в смешанной популяции больных ОРИТ общего

профиля резкое снижение фракции изгнания левого желудочка ассоциируется с ИФС около  $3,2 \text{ мин}^{-1}$  [35, 37]. Наши данные дают основания предположить, что в процессе коррекции ЦГД при сепсисе следует поддерживать ИФС в пределах  $5,7\text{--}6,5 \text{ мин}^{-1}$ , используя в качестве границ желательного диапазона значений установленное ПЗ и верхнюю границу физиологической нормы.

Из формулы расчета ИФС (СИ/ИГКДО) следует, что этот параметр отражает не только систолическую функцию миокарда [31, 35], но и эффективность реализации преднагрузки, т. е. гетерометрической регуляции работы сердца по фундаментальному закону Франка–Старлинга [38]. Важнейшим условием формирования адекватной преднагрузки является нормальное расслабление миокарда, которое при септической кардиопатии может нарушаться. Крайне неблагоприятная роль при сепсисе диастолической дисфункции в настоящее время не вызывает сомнений [39]. Полагаем, что снижение ИФС до уровня менее  $5,7 \text{ мин}^{-1}$  можно рассматривать как раннее проявление септической кардиопатии, при этом есть основания апробировать ИФС в качестве одного из корректируемых параметров при реализации алгоритмов ЦОТ, направленной на оптимизацию кровообращения при сепсисе.

Ограничения исследования: в обследованную группу были включены как оперированные больные с различными хирургическими заболеваниями органов брюшной полости и забрюшинного пространства, осложнившимися

ся сепсисом, так и неоперированные больные острым деструктивным панкреатитом; термолюционное исследование ЦГД выполняли 1 раз в сутки.

## Заключение

Таким образом, можно заключить, что, несмотря на удовлетворительные медианные значения показателей кровообращения, достигаемые в результате корректирующих мер, определенные уровни СИ, ПСОП, ГФВ и ИФС на протяжении первых четырех суток являются предикторами летального исхода сепсиса. Вместе с тем, единственным гемодинамическим показателем, сохранявшим на всех этапах исследования хорошее качество модели (ППК  $0,708\text{--}0,753$ ) и стабильное ПЗ ( $\leq 5,75$  —  $\leq 5,81 \text{ мин}^{-1}$ ) с приемлемой и сбалансированными чувствительностью и специфичностью, достигавшими уровня около 70%, был ИФС. Учитывая, что последний отражает не только систолическую функцию миокарда, но и эффективность гетерометрической регуляции работы сердца по закону Франка–Старлинга, можно полагать, что снижение этого показателя до уровня менее  $5,7 \text{ мин}^{-1}$  является ранним проявлением миокардиальной дисфункции, характерной для септической кардиопатии. Необходимо дальнейшее изучение возможности использовать ИФС как один из корректируемых показателей при ЦОТ, направленной на оптимизацию функции сердечно-сосудистой системы при сепсисе.

## Литература

1. Rivers E., Nguyen B., Havstad S., Ressler J., Muzzin A., Knoblich B., Peterson E., Tomlanovich M. Early Goal-Directed Therapy Collaborative Group. Early goal-directed therapy in the treatment of severe sepsis and septic shock. *N Engl J Med.* 2001; 345 (19): 1368–1377. DOI: 10.1056/NEJMoa010307. PMID: 11794169
2. Greenwood J. C., Orloski C. J. End points of sepsis resuscitation. *Emerg. Med. Clin. North Am.* 2017; 35 (1): 93–107. DOI: 10.1016/j.emc.2016.09.001. PMID: 27908340
3. Park S.K., Shin S.R., Hur M., Kim W.H., Oh E.A., Lee S.H. The effect of early goal-directed therapy for treatment of severe sepsis or septic shock: A systemic review and meta-analysis. *J. Crit. Care.* 2017; 38: 115–122. DOI: 10.1016/j.jcrrc.2016.10.019. PMID: 27886576
4. Zhou X., Tang G., Wu F. Early goal-directed therapy is not equivalent to goal-oriented therapy or protocol-directed therapy. *J. Crit. Care.* 2017; 38: 371. DOI: 10.1016/j.jcrrc.2016.12.009. PMID: 28063752.
5. Nguyen H.B., Jaehne A.K., Jayaprakash N., Semler M.W., Hegab S., Yataco A.C., Tatem G., Salem D., Moore S., Boka K., Gill J.K., Gardner-Gray J., Pflaum J., Domecq J.P., Hurst G., Belsky J.B., Fowkes R., Elkin R.B., Simpson S.Q., Falk J.L., Singer D.J., Rivers E.P. Early goal-directed therapy in severe sepsis and septic shock: insights and comparisons to ProCESS, ProMISE, and ARISE. *Crit Care.* 2016; 20 (1): 160. DOI: 10.1186/s13054-016-1288-3. PMID: 27364620;
6. Saugel B., Huber W., Nierhaus A., Kluge S., Reuter D.A., Wagner J.Y. Advanced Hemodynamic Management in Patients with Septic Shock. *Biomed Res Int.* 2016; 2016: 8268569. DOI: 10.1155/2016/8268569. PMID: 27703980
7. Bethlehem C., Groenwold F.M., Buter H., Kingma W.P., Kuiper M.A., de Lange F., Elbers P., Groen H., van Roon E.N., Boerma E.C. The Impact of a Pulmonary-Artery-Catheter-Based Protocol on Fluid and Catecholamine Administration in Early Sepsis. *Crit Care Res Pract.* 2012; 2012: 161879. DOI: 10.1155/2012/161879. PMID: 22454764
8. Velissaris D., Karamouzou V., Kotroni I., Pierrakos C., Karanikolas M. The Use of Pulmonary Artery Catheter in Sepsis Patients: A Literature Review. *J Clin Med Res.* 2016; 8 (11): 769–776. DOI: 10.14740/jocmr2719w. PMID: 27738477

## References

1. Rivers E., Nguyen B., Havstad S., Ressler J., Muzzin A., Knoblich B., Peterson E., Tomlanovich M. Early Goal-Directed Therapy Collaborative Group. Early goal-directed therapy in the treatment of severe sepsis and septic shock. *N Engl J Med.* 2001; 345 (19): 1368–1377. DOI: 10.1056/NEJMoa010307. PMID: 11794169
2. Greenwood J. C., Orloski C. J. End points of sepsis resuscitation. *Emerg. Med. Clin. North Am.* 2017; 35 (1): 93–107. DOI: 10.1016/j.emc.2016.09.001. PMID: 27908340
3. Park S.K., Shin S.R., Hur M., Kim W.H., Oh E.A., Lee S.H. The effect of early goal-directed therapy for treatment of severe sepsis or septic shock: A systemic review and meta-analysis. *J. Crit. Care.* 2017; 38: 115–122. DOI: 10.1016/j.jcrrc.2016.10.019. PMID: 27886576
4. Zhou X., Tang G., Wu F. Early goal-directed therapy is not equivalent to goal-oriented therapy or protocol-directed therapy. *J. Crit. Care.* 2017; 38: 371. DOI: 10.1016/j.jcrrc.2016.12.009. PMID: 28063752.
5. Nguyen H.B., Jaehne A.K., Jayaprakash N., Semler M.W., Hegab S., Yataco A.C., Tatem G., Salem D., Moore S., Boka K., Gill J.K., Gardner-Gray J., Pflaum J., Domecq J.P., Hurst G., Belsky J.B., Fowkes R., Elkin R.B., Simpson S.Q., Falk J.L., Singer D.J., Rivers E.P. Early goal-directed therapy in severe sepsis and septic shock: insights and comparisons to ProCESS, ProMISE, and ARISE. *Crit Care.* 2016; 20 (1): 160. DOI: 10.1186/s13054-016-1288-3. PMID: 27364620;
6. Saugel B., Huber W., Nierhaus A., Kluge S., Reuter D.A., Wagner J.Y. Advanced Hemodynamic Management in Patients with Septic Shock. *Biomed Res Int.* 2016; 2016: 8268569. DOI: 10.1155/2016/8268569. PMID: 27703980
7. Bethlehem C., Groenwold F.M., Buter H., Kingma W.P., Kuiper M.A., de Lange F., Elbers P., Groen H., van Roon E.N., Boerma E.C. The Impact of a Pulmonary-Artery-Catheter-Based Protocol on Fluid and Catecholamine Administration in Early Sepsis. *Crit Care Res Pract.* 2012; 2012: 161879. DOI: 10.1155/2012/161879. PMID: 22454764
8. Velissaris D., Karamouzou V., Kotroni I., Pierrakos C., Karanikolas M. The Use of Pulmonary Artery Catheter in Sepsis Patients: A Literature Review. *J Clin Med Res.* 2016; 8 (11): 769–776. DOI: 10.14740/jocmr2719w. PMID: 27738477

9. Zhang Z., Ni H., Qian Z. Effectiveness of treatment based on PiCCO parameters in critically ill patients with septic shock and/or acute respiratory distress syndrome: a randomized controlled trial. *Intensive Care Med.* 2015; 41 (3): 444–451. DOI: 10.1007/s00134-014-3638-4. PMID: 25605469.
10. Vignon P, Begot E, Mari A, Silva S, Chimot L, Delour P, Vargas F, Filloux B, Vandroux D, Jabot J, François B, Pichon N, Clavel M, Levy B, Slama M, Riu-Poulenc B. Hemodynamic Assessment of Patients With Septic Shock Using Transpulmonary Thermodilution and Critical Care Echocardiography: A Comparative Study. *Chest.* 2018; 153 (1): 55–64. DOI: 10.1016/j.chest.2017.08.022. PMID: 28866112
11. Zhang Z., Hong Y., Smischney N.J., Kuo H.P., Tsigiriotis P., Rello J., Kuan W.S., Jung C., Robba C., Taccone F.S., Leone M., Spapen H., Grimaldi D., Van Poucke S., Simpson S.Q., Honore P.M., Hofer S., Caironi P. Early management of sepsis with emphasis on early goal directed therapy: AME evidence series 002. *J. Thorac. Dis.* 2017; 9 (2): 392–405. DOI: 10.21037/jtd.2017.02.10. PMID: 28275488;
12. Mouncey P.R., Osborn T.M., Power G.S., Harrison D.A., Sadique M.Z., Grieve R.D., Jahan R., Harvey S.E., Bell D., Bion J.F., Coats T.J., Singer M., Young J.D., Rowan K.M. ProMISE Trial Investigators. Trial of early, goal-directed resuscitation for septic shock. *N. Engl. J. Med.* 2015; 372 (14): 1301–1311. DOI: 10.1056/NEJMoa1500896. PMID: 25776532
13. PRISM Investigators, Rowan K.M., Angus D.C., Bailey M., Barnato A.E., Bellomo R., Canter R.R., Coats T.J., Delaney A., Gimbel E., Grieve R.D., Harrison D.A., Higgins A.M., Howe B., Huang D.T., Kellum J.A., Mouncey P.R., Music E., Peake S.L., Pike F., Reade M.C., Sadique M.Z., Singer M., Yealy D.M. Early, Goal-Directed Therapy for Septic Shock — A Patient-Level Meta-Analysis. *N. Engl. J. Med.* 2017; 376 (23): 2223–2234. DOI: 10.1056/NEJMoa1701380. PMID: 28320242.
14. Cecconi M., Hernandez G., Dunser M., Antonelli M., Baker T., Bakker J., Duranteau J., Einav S., Groeneveld A.B.J., Harris T., Jog S., Machado F.R., Mer M., Monge Garcia M.I., Myatra S.N., Perner A., Teboul J.L., Vincent J.L., De Backer D. Fluid administration for acute circulatory dysfunction using basic monitoring: narrative review and expert panel recommendations from an ESICM task force. *Intensive Care Med.* 2019; 45 (1): 21–32. DOI: 10.1007/s00134-018-5415-2. PMID: 30456467
15. Sevransky J.E., Nour S., Susla G.M., Needham D.M., Hollenberg S., Pronovost P. Hemodynamic goals in randomized clinical trials in patients with sepsis: a systematic review of the literature. *Crit Care.* 2007; 11 (3): 67. DOI: 10.1186/cc5948. PMID: 17584921;
16. Werdan K., Oelke A., Hettwer S., Nuding S., Bubel S., Hoke R., Russ M., Lautenschläger C., Mueller-Werdan U., Ebel H. Septic cardiomyopathy: hemodynamic quantification, occurrence, and prognostic implications. *Clin. Res. Cardiol.* 2011; 100 (8): 661–668. DOI: 10.1007/s00392-011-0292-5. PMID: 21308379
17. Fenton K.E., Parker M.M. Cardiac Function and Dysfunction in Sepsis. *Clin Chest Med.* 2016; 37 (2): 289–298. DOI: 10.1016/j.ccm.2016.01.014. PMID: 27229645.
18. Козлов И. А., Тюрин И. Н., Раутбарт С. А. Ранние гемодинамические предикторы летального исхода абдоминального сепсиса. *Вестник анестезиологии и реаниматологии.* 2018; 15 (2): 6–15. DOI: 10.21292/2078-5658-2018-15-2-6-15
19. Кузьков В. В., Киров М. Ю. Инвазивный мониторинг гемодинамики в интенсивной терапии и анестезиологии. 2-е изд. Архангельск: Северный государственный медицинский университет. 2015: 392. ISBN 978-5-91702-180-5
20. 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. PMID: 26903338
21. 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. PMID: 23984731.
22. Takayama K., Yuhki K., Ono K., Fujino T., Hara A., Yamada T., Kuriyama S., Karibe H., Okada Y., Takahata O., Taniguchi T., Iijima T., Iwasaki H., Narumiya S., Ushikubi F. Thromboxane A2 and prostaglandin F2alpha mediate inflammatory tachycardia. *Nat Med* 2005; 11 (5): 562–566. DOI: 10.1038/nm1231. PMID: 15834430
23. Zorn-Pauly K., Pelzmann B., Lang P., Machler H., Schmidt H., Ebel H., Werdan K., Koidl B., Muller-Werdan U. Endotoxin impairs the human pacemaker current If. *Shock* 2007; 28 (6): 655–661. DOI: 10.1097/shk.0b013e31812386bf. PMID: 18092381
24. Boldt J., Menges T., Kuhn D., Diridis C., Hempelmann G. Alterations in circulating vasoactive substances in the critically ill — a comparison between survivors and non-survivors. *Intensive Care Med* 1995; 21 (3): 218–225. DOI: 10.1007/BF01701475. PMID: 7790607.
25. Kumar A., Krieger A., Symeonides S., Kumar A., Parrillo J.E. Myocardial dysfunction in septic shock: Part II. Role of cytokines and nitric oxide. *J Cardiothorac Vasc Anesth.* 2001; 15 (4): 485–511. DOI: 10.1053/jcan.2001.25003. PMID: 11505357
26. Hoke R.S., Müller-Werdan U., Lautenschläger C., Werdan K., Ebel H. Heart rate as an independent risk factor in patients with multiple organ dysfunction: a prospective, observational study. *Clin Res Cardiol.* 2012; 101 (2): 139–147. DOI: 10.1007/s00392-011-0375-3. PMID: 22048696
9. Zhang Z., Ni H., Qian Z. Effectiveness of treatment based on PiCCO parameters in critically ill patients with septic shock and/or acute respiratory distress syndrome: a randomized controlled trial. *Intensive Care Med.* 2015; 41 (3): 444–451. DOI: 10.1007/s00134-014-3638-4. PMID: 25605469.
10. Vignon P, Begot E, Mari A, Silva S, Chimot L, Delour P, Vargas F, Filloux B, Vandroux D, Jabot J, François B, Pichon N, Clavel M, Levy B, Slama M, Riu-Poulenc B. Hemodynamic Assessment of Patients With Septic Shock Using Transpulmonary Thermodilution and Critical Care Echocardiography: A Comparative Study. *Chest.* 2018; 153 (1): 55–64. DOI: 10.1016/j.chest.2017.08.022. PMID: 28866112
11. Zhang Z., Hong Y., Smischney N.J., Kuo H.P., Tsigiriotis P., Rello J., Kuan W.S., Jung C., Robba C., Taccone F.S., Leone M., Spapen H., Grimaldi D., Van Poucke S., Simpson S.Q., Honore P.M., Hofer S., Caironi P. Early management of sepsis with emphasis on early goal directed therapy: AME evidence series 002. *J. Thorac. Dis.* 2017; 9 (2): 392–405. DOI: 10.21037/jtd.2017.02.10. PMID: 28275488;
12. Mouncey P.R., Osborn T.M., Power G.S., Harrison D.A., Sadique M.Z., Grieve R.D., Jahan R., Harvey S.E., Bell D., Bion J.F., Coats T.J., Singer M., Young J.D., Rowan K.M. ProMISE Trial Investigators. Trial of early, goal-directed resuscitation for septic shock. *N. Engl. J. Med.* 2015; 372 (14): 1301–1311. DOI: 10.1056/NEJMoa1500896. PMID: 25776532
13. PRISM Investigators, Rowan K.M., Angus D.C., Bailey M., Barnato A.E., Bellomo R., Canter R.R., Coats T.J., Delaney A., Gimbel E., Grieve R.D., Harrison D.A., Higgins A.M., Howe B., Huang D.T., Kellum J.A., Mouncey P.R., Music E., Peake S.L., Pike F., Reade M.C., Sadique M.Z., Singer M., Yealy D.M. Early, Goal-Directed Therapy for Septic Shock — A Patient-Level Meta-Analysis. *N. Engl. J. Med.* 2017; 376 (23): 2223–2234. DOI: 10.1056/NEJMoa1701380. PMID: 28320242.
14. Cecconi M., Hernandez G., Dunser M., Antonelli M., Baker T., Bakker J., Duranteau J., Einav S., Groeneveld A.B.J., Harris T., Jog S., Machado F.R., Mer M., Monge Garcia M.I., Myatra S.N., Perner A., Teboul J.L., Vincent J.L., De Backer D. Fluid administration for acute circulatory dysfunction using basic monitoring: narrative review and expert panel recommendations from an ESICM task force. *Intensive Care Med.* 2019; 45 (1): 21–32. DOI: 10.1007/s00134-018-5415-2. PMID: 30456467
15. Sevransky J.E., Nour S., Susla G.M., Needham D.M., Hollenberg S., Pronovost P. Hemodynamic goals in randomized clinical trials in patients with sepsis: a systematic review of the literature. *Crit Care.* 2007; 11 (3): 67. DOI: 10.1186/cc5948. PMID: 17584921;
16. Werdan K., Oelke A., Hettwer S., Nuding S., Bubel S., Hoke R., Russ M., Lautenschläger C., Mueller-Werdan U., Ebel H. Septic cardiomyopathy: hemodynamic quantification, occurrence, and prognostic implications. *Clin. Res. Cardiol.* 2011; 100 (8): 661–668. DOI: 10.1007/s00392-011-0292-5. PMID: 21308379
17. Fenton K.E., Parker M.M. Cardiac Function and Dysfunction in Sepsis. *Clin Chest Med.* 2016; 37 (2): 289–298. DOI: 10.1016/j.ccm.2016.01.014. PMID: 27229645.
18. Kozlov I.A., Tyurin I.N., Rautbart S.A. Early hemodynamic predictors of lethal outcomes of abdominal sepsis. *Vestnik anesteziologii i reanimatologii= Messenger of Anesthesiology and resuscitation.* 2018; 15 (2): 6–15. [In Russ.] DOI: 10.21292/2078-5658-2018-15-2-6-15
19. Kuzkov V.V., Kirov M.Yu. Invasive hemodynamic monitoring in intensive care and anesthesiologists. 2-е изд. Архангельск: Severnyy gosudarstvennyy meditsinskiy universitet. 2015. [In Russ]
20. 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. PMID: 26903338
21. 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. PMID: 23984731.
22. Takayama K., Yuhki K., Ono K., Fujino T., Hara A., Yamada T., Kuriyama S., Karibe H., Okada Y., Takahata O., Taniguchi T., Iijima T., Iwasaki H., Narumiya S., Ushikubi F. Thromboxane A2 and prostaglandin F2alpha mediate inflammatory tachycardia. *Nat Med* 2005; 11 (5): 562–566. DOI: 10.1038/nm1231. PMID: 15834430
23. Zorn-Pauly K., Pelzmann B., Lang P., Machler H., Schmidt H., Ebel H., Werdan K., Koidl B., Muller-Werdan U. Endotoxin impairs the human pacemaker current If. *Shock* 2007; 28 (6): 655–661. DOI: 10.1097/shk.0b013e31812386bf. PMID: 18092381
24. Boldt J., Menges T., Kuhn D., Diridis C., Hempelmann G. Alterations in circulating vasoactive substances in the critically ill — a comparison between survivors and non-survivors. *Intensive Care Med* 1995; 21 (3): 218–225. DOI: 10.1007/BF01701475. PMID: 7790607.
25. Kumar A., Krieger A., Symeonides S., Kumar A., Parrillo J.E. Myocardial dysfunction in septic shock: Part II. Role of cytokines and nitric oxide. *J Cardiothorac Vasc Anesth.* 2001; 15 (4): 485–511. DOI: 10.1053/jcan.2001.25003. PMID: 11505357
26. Hoke R.S., Müller-Werdan U., Lautenschläger C., Werdan K., Ebel H. Heart rate as an independent risk factor in patients with multiple organ dysfunction: a prospective, observational study. *Clin Res Cardiol.* 2012; 101 (2): 139–147. DOI: 10.1007/s00392-011-0375-3. PMID: 22048696

27. Grodin J.L., Mullens W., Dupont M., Wu Y., Taylor D.O., Starling R.C., Tang W.H. Prognostic role of cardiac power index in ambulatory patients with advanced heart failure. *Eur J Heart Fail.* 2015; 17 (7): 689–696. DOI: 10.1002/ehf.268. PMID: 25924078
28. Kakahana Y, Ito T, Nakahara M., Yamaguchi K., Yasuda T. Sepsis-induced myocardial dysfunction: pathophysiology and management. *J Intensive Care.* 2016; 4: 22. DOI: 10.1186/s40560-016-0148-1. PMID: 27011791
29. Trof R.J., Beishuizen A., Cornet A.D., de Wit R.J., Girbes A.R., Groeneveld A.B. Volume-limited versus pressure-limited hemodynamic management in septic and nonseptic shock. *Crit Care Med.* 2012; 40 (4): 1177–1185. DOI: 10.1097/CCM.0b013e31823bc5f9. PMID: 22202713.
30. Gattinoni L., Brazzi L., Pelosi P., Latini R., Tognoni G., Pesenti A., Fumagalli R. A trial of goal-oriented hemodynamic therapy in critically ill patients. SvO<sub>2</sub> Collaborative Group. *N Engl J Med.* 1995; 333 (16): 1025–1032. DOI: 10.1056/NEJM199510193331601. PMID: 7675044
31. Ritter S., Rudiger A., Maggiorini M. Transpulmonary thermodilution derived cardiac function index identifies cardiac dysfunction in acute heart failure and septic patients: an observational study. *Crit Care.* 2009; 13 (4): R133–R143. DOI: 10.1186/cc7994. PMID: 19671146
32. 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
33. Козлов И. А., Тюрин И. Н., Раутбарт С. А. Ранние гемодинамические предикторы летального исхода абдоминального сепсиса. *Вестник анестезиологии и реаниматологии.* 2018; 15 (2): 6–15. DOI: 10.21292/2078-5658-2018-15-2-6-15
34. Раутбарт С.А., Тюрин И.Н., Шурыгин С.Н., Козлов И.А. Возрастные особенности центральной гемодинамики при сепсисе. *Вестник интенсивной терапии имени А.И. Салтанова.* 2019; 4: 88–97. DOI: 10.21320/1818-474X-2019-4-88-97
35. Aguilar G., Belda F.J., Ferrando C., Jover J.L. Assessing the left ventricular systolic function at the bedside: the role of transpulmonary thermodilution-derived indices. *Anesthesiol Res Pract.* 2011: Article ID 927421. DOI: 10.1155/2011/927421. PMID: 21808645
36. Тюрин И.Н., Раутбарт С.А., Ганиева И.И., Александровский А.А., Козлов И.А. Прикроватная эхокардиография и транспульмональная термодиллюция у больных с сепсисом. Пилотное исследование. *Вестник интенсивной терапии им. А.И. Салтанова.* 2020; 4: 108–1119. DOI: 10.21320/1818-474X-2020-4-108-119
37. Jabot J., Monnet X., Bouchra L., Chemla D., Richard C., Teboul J.L. Cardiac function index provided by transpulmonary thermodilution behaves as an indicator of left ventricular systolic function. *Crit Care Med.* 2009; 37 (11): 2913–2918. DOI: 10.1097/ccm.0b013e3181b01fd9. PMID: 19866507.
38. Бокерия Л. А., Лищук В. А. Интеллектуальное обеспечение кардиохирургии. Памяти Н. М. Амосова. *Клиническая физиология кровообращения.* 2005; 4: 5–13. Режим доступа: [https://cfc-journal.com/catalog/detail.php?SECTION\\_ID=905&ID=17052](https://cfc-journal.com/catalog/detail.php?SECTION_ID=905&ID=17052). Ссылка активна на 09.06.2021
39. Sanfilippo F., Corredor C., Fletcher N., Landesberg G., Benedetto U., Foex P., Cecconi M. Diastolic dysfunction and mortality in septic patients: a systematic review and meta-analysis. *Intensive Care Med.* 2015; 41 (6): 1004–1013. DOI: 10.1007/s00134-015-3748-7. PMID: 25800584
27. Grodin J.L., Mullens W., Dupont M., Wu Y., Taylor D.O., Starling R.C., Tang W.H. Prognostic role of cardiac power index in ambulatory patients with advanced heart failure. *Eur J Heart Fail.* 2015; 17 (7): 689–696. DOI: 10.1002/ehf.268. PMID: 25924078
28. Kakahana Y, Ito T, Nakahara M., Yamaguchi K., Yasuda T. Sepsis-induced myocardial dysfunction: pathophysiology and management. *J Intensive Care.* 2016; 4: 22. DOI: 10.1186/s40560-016-0148-1. PMID: 27011791
29. Trof R.J., Beishuizen A., Cornet A.D., de Wit R.J., Girbes A.R., Groeneveld A.B. Volume-limited versus pressure-limited hemodynamic management in septic and nonseptic shock. *Crit Care Med.* 2012; 40 (4): 1177–1185. DOI: 10.1097/CCM.0b013e31823bc5f9. PMID: 22202713.
30. Gattinoni L., Brazzi L., Pelosi P., Latini R., Tognoni G., Pesenti A., Fumagalli R. A trial of goal-oriented hemodynamic therapy in critically ill patients. SvO<sub>2</sub> Collaborative Group. *N Engl J Med.* 1995; 333 (16): 1025–1032. DOI: 10.1056/NEJM199510193331601. PMID: 7675044
31. Ritter S., Rudiger A., Maggiorini M. Transpulmonary thermodilution derived cardiac function index identifies cardiac dysfunction in acute heart failure and septic patients: an observational study. *Crit Care.* 2009; 13 (4): R133–R143. DOI: 10.1186/cc7994. PMID: 19671146
32. Tyurin I.N., Rautbart S.A., Kozlov I.A. Early Characteristics of Circulation in Patients with Poor Outcome of Abdominal Sepsis (Preliminary Report). *Obshchaya Reanimatologiya=General Reanimatology.* 2017; 13 (3): 13–24 [In Russ.]. DOI: 10.15360/1813-9779-2017-3-13-24]
33. Kozlov I.A., Tyurin I.N., Rautbart S.A. Early hemodynamic predictors of lethal outcomes of abdominal sepsis. *Vestnik anesteziologii i reanimatologii= Messenger of Anesthesiology and resuscitation.* 2018; 15 (2): 6–15. [In Russ.] DOI: 10.21292/2078-5658-2018-15-2-6-15
34. Rautbart S.A., Tyurin I.N., Shurigin S.N., Kozlov I.A. Age-related features of central hemodynamics in sepsis. Article. *Annals of Critical Care.* 2019; 4: 88–97. DOI: 10.21320/1818-474X-2019-4-88-97
35. Aguilar G., Belda F.J., Ferrando C., Jover J.L. Assessing the left ventricular systolic function at the bedside: the role of transpulmonary thermodilution-derived indices. *Anesthesiol Res Pract.* 2011: Article ID 927421. DOI: 10.1155/2011/927421. PMID: 21808645
36. Tyurin I.N., Rautbart S.A., Ganieva I.I., Aleksandrovsky A.A., Kozlov I.A. Critical care echocardiography and transpulmonary thermodilution in patients with sepsis. Pilot study. *Annals of Critical Care.* 2020; 4: 108–119. DOI: 10.21320/1818-474X-2020-4-108-119
37. Jabot J., Monnet X., Bouchra L., Chemla D., Richard C., Teboul J.L. Cardiac function index provided by transpulmonary thermodilution behaves as an indicator of left ventricular systolic function. *Crit Care Med.* 2009; 37 (11): 2913–2918. DOI: 10.1097/ccm.0b013e3181b01fd9. PMID: 19866507.
38. Bokeriya L.A., Lishchuk V.A. Intellektual'noe obespechenie kardiokhirurgii. Pamyati N.M. Amosova. *Klinicheskaya fiziologiya krovoobrashcheniya.* 2005; 4: 5–13. Available from: [https://cfc-journal.com/catalog/detail.php?SECTION\\_ID=905&ID=17052](https://cfc-journal.com/catalog/detail.php?SECTION_ID=905&ID=17052) (accessed 09.06.2021). [In Russ.]
39. Sanfilippo F., Corredor C., Fletcher N., Landesberg G., Benedetto U., Foex P., Cecconi M. Diastolic dysfunction and mortality in septic patients: a systematic review and meta-analysis. *Intensive Care Med.* 2015; 41 (6): 1004–1013. DOI: 10.1007/s00134-015-3748-7. PMID: 25800584

Received 2021.06.10

Поступила 2021.06.10

## Сравнительная характеристика содержания кандидатных молекулярных маркеров при ишемическом и геморрагическом инсульте

А. М. Голубев, А. В. Гречко, В. Е. Захарченко,  
М. М. Канарский\*, М. В. Петрова, И. В. Борисов\*

НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского,  
Федеральный научно-клинический центр реаниматологии и реабилитологии,  
Россия, 107031, г. Москва, ул. Петровка, д. 25, стр. 2

## Comparative Characterization of Candidate Molecular Markers in Ischemic and Hemorrhagic Stroke

Arkady M. Golubev, Andrey V. Grechko, Vladislav E. Zakharchenko,  
Mikhail M. Kanarsky\*, Marina V. Petrova, Ilya V. Borisov\*

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:** А. М. Голубев, А. В. Гречко, В. Е. Захарченко, М. М. Канарский, М. В. Петрова, И. В. Борисов. Характеристика кандидатных молекулярных маркеров при ишемическом и геморрагическом инсульте. *Общая реаниматология*. 2021; 17 (5): 23–34. <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2021-5-23-34> [На русск. и англ.]

**For citation:** Arkady M. Golubev, Andrey V. Grechko, Vladislav E. Zakharchenko, Mikhail M. Kanarsky, Marina V. Petrova, Ilya V. Borisov. Comparative characterization of candidate molecular markers in ischemic and hemorrhagic stroke. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2021; 17 (5): 23–34. <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2021-5-23-34> [In Russ. and Engl.]

### Резюме

По данным эпидемиологических исследований ведущей причиной заболеваемости, инвалидности и смертности являются цереброваскулярные заболевания, в частности ишемический и геморрагический инсульты. В последние годы большое внимание уделяется исследованию молекулярных маркеров ишемического и геморрагического инсультов. Актуальность подобных исследований обусловлена тем, что специфические для мозга белковые биомаркеры нейронов, глиальных клеток могут предоставить ценную и своевременную диагностическую информацию, необходимую для принятия клинических решений.

**Цель исследования** — выявление различий содержания молекулярных маркеров в сыворотке крови в остром, подостром и периоде раннего восстановления при ишемическом и геморрагическом инсультах.

**Материал и методы.** В исследование включили 59 пациентов. У 20 человек диагностировали геморрагический и у 39 человек — ишемический инсульт. В контрольную группу включили 20 добровольцев. Молекулярные маркеры ЦНС в сыворотке крови определяли в острой стадии инсульта, в подострой стадии и стадии раннего восстановительного периода. Количественную оценку содержания молекулярных маркеров ЦНС в сыворотке крови пациентов с ишемическим и геморрагическим инсультом осуществляли методом иммуноферментного анализа. Статистический анализ проводили непараметрическим методом Манна–Уитни.

**Результаты.** Содержание нейротрофического фактора головного мозга (BDNF) у добровольцев контрольной группы составляло 574,5 [455,5; 615] pg/ml. Значимые статистические различия выявили для острого и подострого периодов геморрагического инсультов: 674 [560; 749] и 664 [616; 762] pg/ml ( $p=0,003$  и  $p=0,0001$ ).

Содержание нейрон-специфической енолазы, значимо увеличено во всех периодах исследования: контрольная группа 4,15 [3,53; 4,8] ng/ml, острый период ишемического инсульта 5,4 [4,4; 6,4] ng/ml, ранний восстановительный период ишемического инсульта 5,4 [4,4; 6,4] ng/ml, острый период геморрагического инсульта 5,1 [4,6; 6,4] ng/ml, подострый период геморрагического инсульта 664 [616; 762] ng/ml. Соответственно  $p<0,001$ , 0,001, 0,014, 0,003.

В контрольной группе содержание белка S-100 в сыворотке крови составило 4,5 [3,8; 5,4] ng/ml. В остром периоде и периоде раннего восстановления при ишемическом инсульте содержание белка S-100 статистически значимо снижалось: 4,1 [3,4; 4,6] и 3,9 [3,4; 6],  $p<0,031$  и 0,014. Глиальный нейротрофический фактор был увеличен в остром и подостром периодах геморрагического инсульта: контроль 1,98 [1,64; 2,1], острый период 2,4 [2,2; 5], подострый период 2,4 [2,3; 2,6]. Соответственно  $p=0,002$  и  $<0,001$ .

#### Адрес для корреспонденции:

\*Илья Владимирович Борисов/E-mail: realzel@gmail.com  
\*Михаил Михайлович Канарский/E-mail: kanarimm@yandex.ru

#### Correspondence to:

\*Ilya V. Borisov/E-mail: realzel@gmail.com  
\*Mikhail M. Kanarsky/E-mail: kanarimm@yandex.ru

Рецептор-1 фактора роста эндотелия (VEGFR-1) статистически значимо снижался в подостром периоде геморрагического инсульта: контроль 903,5 [626;1115], подострый период 485 [211; 945], ( $p=0,001$ ),

**Заключение.** Выявили различия содержания молекулярных маркеров в сыворотке крови пациентов при ишемическом и геморрагическом инсульте. В остром периоде, периоде раннего восстановления при ишемическом инсульте, подостром периоде геморрагического инсульта отметили возрастание содержания в сыворотке крови нейрон специфической енолазы. Содержание мозгового нейротрофического фактора значимо возросло в остром и подостром периодах геморрагического инсульта. В остром и периоде раннего восстановления при ишемическом инсульте снижалось содержание белка S-100. Содержание глиального нейротрофического фактора в остром и подостром периодах геморрагического инсульта возросло. В подостром периоде геморрагического инсульта статистически значимо снижалось содержание рецептора-1 фактора роста эндотелия. Причем, его значение статистически значимо отличалось от значений в периоде раннего восстановления при ишемическом инсульте.

**Ключевые слова:** молекулярные маркеры; ЦНС; инсульт ишемический; инсульт геморрагический

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## Summary

According to epidemiological studies, the leading cause of morbidity, disability and mortality are cerebrovascular diseases, in particular ischemic and hemorrhagic strokes. In recent years considerable attention has been given to the study of molecular markers of ischemic and hemorrhagic strokes. These studies are relevant because brain-specific protein biomarkers of neurons and glial cells can provide valuable and timely diagnostic information necessary for clinical decision-making.

**The aim of the study** was to reveal the differences in the serum level of molecular markers in acute, subacute and early recovery periods of ischemic and hemorrhagic strokes.

**Material and methods.** The study included 59 patients. Twenty patients were diagnosed with hemorrhagic stroke and 39 had ischemic stroke. The control group included 20 volunteers. Serum levels of molecular CNS markers were determined in acute, subacute, and early recovery stages of stroke. The serum levels of CNS molecular markers of patients with ischemic and hemorrhagic stroke was measured quantitatively by enzyme immunoassay. Statistical analysis was performed by nonparametric Mann–Whitney method.

**Results.** The level of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in the control volunteers was 574.5 [455.5; 615] pg/ml. Significant differences were found for acute and subacute periods of hemorrhagic stroke: it was 674 [560; 749] pg/ml ( $P=0.003$ ) and 664 [616; 762] pg/ml ( $P=0.0001$ ).

The level of neuron-specific enolase was significantly increased in all periods of the study: it was 4.15 [3.53; 4.8] ng/ml in the control group, 5.4 [4.4; 6.4] ng/ml in acute period of ischemic stroke ( $P<0.001$ ), 5.4 [4.4; 6.4] ng/ml in early recovery period of ischemic stroke ( $P=0.001$ ), 5.1 [4.6; 6.4] ng/ml in acute period of hemorrhagic stroke ( $P=0.014$ ), 664 [616; 762] ng/ml in subacute period of hemorrhagic stroke ( $P=0.003$ ).

In the control group, the serum S-100 protein level was 4.5 [3.8; 5.4] ng/ml. In the acute and early recovery periods of ischemic stroke, S-100 protein level has significantly fallen down to 4.1 [3.4; 4.6] ng/ml ( $P<0.031$ ) and 3.9 [3.4; 6] ng/ml ( $P=0.014$ ), respectively. Glial-cell derived neurotrophic factor level was 1.98 [1.64; 2.1] ng/ml in the controls and increased up to 2.4 [2.2; 5] ng/ml ( $P=0.002$ ) in the acute period and 2.4 [2.3; 2.6] ng/ml ( $P<0.001$ ) in the subacute period of hemorrhagic stroke.

The vascular endothelial growth factor receptor-1 (VEGFR-1) was significantly lower in the subacute period of hemorrhagic stroke: 485 [211; 945] pg/ml in the subacute period vs 903.5 [626; 1115] pg/ml in the controls ( $P=0.001$ ).

**Conclusion.** We found differences in the serum level of molecular markers in patients with ischemic and hemorrhagic strokes. In the acute period, early recovery period of ischemic stroke, and subacute period of hemorrhagic stroke, there was an increase in the serum level of neuron-specific enolase. The level of brain-derived neurotrophic factor increased significantly in the acute and subacute periods of hemorrhagic stroke. In the acute and early recovery periods of ischemic stroke, the level of S-100 protein decreased. The level of glial cell-derived neurotrophic factor increased in the acute and subacute periods of hemorrhagic stroke. In the subacute period of hemorrhagic stroke, the level of endothelial growth factor receptor-1 significantly decreased. Moreover, there was significant difference between values of this parameter in the subacute period of hemorrhagic stroke and in the early recovery period of ischemic stroke.

**Keywords:** molecular markers; CNS; ischemic stroke; hemorrhagic stroke

**Conflict of interest.** Authors report no conflicts of interest.

DOI:10.15360/1813-9779-2021-5-23-34

## Введение

Цереброваскулярные заболевания являются одной из ведущих причин заболеваемости, инвалидности и смертности. В частности, заболеваемость ишемическим и геморрагическим

## Introduction

Cerebrovascular diseases are among leading causes of morbidity, disability and mortality. In particular, the incidence of ischemic and hemorrhagic stroke in various countries remains high, as evi-

инсультом в различных странах остается высокой, о чем свидетельствуют эпидемиологические исследования. В США был проведен анализ смертности от инсульта за 2010–2016 годы среди взрослых среднего возраста (35–64 года) и пожилых людей (старше 65 лет). Установлено, что повышение смертности от инсульта было более выражено среди людей среднего возраста по сравнению с пожилыми людьми [1].

Ретроспективный анализ данных по лечению более 520000 пациентов с инсультом в Большом Манчестере и Лондоне в период с января 2008 г. по март 2016 г. выявил снижение смертности среди пациентов, получавших лечение в специализированных отделениях для лечения острого инсульта. В отделениях, которые не были специализированы, снижения смертности не было выявлено [2].

В Швеции исследовали популяцию, которая состояла из 14125 пациентов, перенесших инсульт в течение 2010 года. Полученные результаты показали, что 26% пациентов умерли в течение года после инсульта. Почти 5% выживших перенесли повторный инсульт, а 40% остались инвалидами [3].

Статистический анализ с учетом прогнозируемого старения населения свидетельствует о том, что количество первых инсультов в Соединенном Королевстве увеличится к 2045 г. на 13% [4].

Данные по эпидемиологии инсульта в Корее выявили, что каждый 40-й взрослый человек в стране является пациентом с инсультом и 232 человека на 100000 населения ежегодно страдают от инсульта. Среди 100 пациентов, перенесших инсульт в 2014 году, у 76 был ишемический инсульт, у 15 — внутримозговое кровоизлияние, а у девяти — субарахноидальное кровоизлияние. Смертность от инсульта остается на уровне 30 смертей на 100 000 человек [5].

В последние годы большое внимание уделяется исследованию молекулярных маркеров ишемического и геморрагического инсультов. Актуальность подобных исследований обусловлена тем, что специфические для мозга белковые биомаркеры нейронов, глиальных клеток (нейрон-специфическая енолаза (NSE), S100 кальций-связывающий белок, глиальный фибриллярный кислый белок (GFAP) и др.) [например, убиквитин С-концевая гидролаза-L1 (UCH-L1), продукты распада  $\alpha$ II-спектрина SBDP120, SBDP145 и SBDP150, основной белок миелина (MBP), легкая цепь нейрофиламента (NF-L), тау-белок, визинин-подобный белок-1 (VLP 1), пептид NR2], которые обнаруживаются в спинномозговой жидкости и периферической крови, могут предоставить ценную и своевременную диагностическую информацию об инсульте, необходимую для принятия решений.

denced by epidemiological studies. In the United States, a 2010–2016 analysis of stroke mortality among middle-aged adults (35–64 years old) and older adults (over 65 years old) has shown more significant increase in stroke mortality among middle-aged people compared to the elderly [1].

A retrospective analysis of treatment data of more than 520000 patients with stroke in Greater Manchester and London between January 2008 and March 2016 revealed a decrease in mortality among patients treated in specialized acute stroke units. In wards that were not specialized, no reduction in mortality was found [2].

In Sweden, a population of 14,125 patients who had a stroke during 2010 was studied. The results showed that 26% of patients died within a year of stroke onset. Almost 5% of survivors had a second stroke, and 40% remained disabled [3].

Statistical analysis based on projected aging of the population suggests that the number of first strokes in the United Kingdom will increase by 13% by 2045 [4].

Stroke epidemiology data in Korea showed that one in 40 adults in the country is a stroke patient and 232 persons per 100,000 population suffer a stroke each year. Among 100 stroke patients in 2014, 76 had ischemic stroke, 15 had intracerebral hemorrhage, and 9 had subarachnoid hemorrhage. The mortality rate from stroke remains at 30 deaths per 100,000 persons [5].

In recent years considerable emphasis has been placed on the study of molecular markers of ischemic and hemorrhagic strokes. The relevance of such studies is due to the fact that brain-specific protein biomarkers of neurons, glial cells (neuron-specific enolase (NSE), S100 calcium-binding protein, glial fibrillary acidic protein (GFAP), etc.) [e. g., ubiquitin C-terminal hydrolase-L1 (UCH-L1), SBDP120, SBDP145 and SBDP150  $\alpha$ II-spectrin breakdown products, myelin basic protein (MBP), neurofilament light chain (NF-L), tau protein, visinin-like protein-1 (VLP 1), NR2 peptide], which are detected in cerebrospinal fluid and peripheral blood, can provide valuable and timely diagnostic information about stroke for decision-making. This information may include precise timing of stroke onset, stroke severity, prognosis of short- and long-term outcomes, and differential diagnosis between ischemic and hemorrhagic stroke [6].

Distinguishing between ischemic and hemorrhagic stroke is important for making diagnostic decisions and choosing treatment options. In particular, patients with ischemic stroke require intravenous thrombolysis, which is contraindicated in hemorrhagic stroke. Currently, computed tomography is used to diagnose hemorrhagic stroke. The use of biomarkers to rapidly rule out intracerebral hemorrhage may be useful in remote regions where transportation to the nearest CT scanner may take

Эта информация может включать уточнение сроков начала инсульта, его тяжесть, прогноз краткосрочных и долгосрочных результатов, дифференциально-диагностические признаки ишемического и геморрагического инсульта [6].

Выявление признаков, на основании которых отличают ишемию от геморрагического инсульта, является важным фактором, помогающим принимать диагностические решения и определять тактику лечения. В частности, пациентам с ишемическим инсультом необходим внутривенный тромболизис, который противопоказан при геморрагическом инсульте. В настоящее время для выявления геморрагического инсульта используется компьютерная томография. Использование биомаркеров для быстрого исключения внутримозгового кровоизлияния может быть полезно в отдаленных регионах, где транспортировка до ближайшего компьютерного томографа может занять несколько часов. В частности, ведущим кандидатом для выявления геморрагического инсульта является кислый глиальный фибриллярный белок, локализующийся в астроглии [7]. Он обнаруживается в очень низких концентрациях в плазме здоровых людей, поскольку не секретируется активно клетками [8]. Однако быстрое повреждение глиальных клеток при геморрагическом инсульте вызывает высвобождение большого количества глиального белка в кровоток в течение нескольких минут. Учитывая, что некроз клеток при ишемическом инсульте формируется в течение определенного промежутка времени, разница в кинетике высвобождения кислого белка астроцитов может быть использована для дифференциальной диагностики геморрагического и ишемического инсульта [9].

Одновременное выявление глиальных и нейронспецифических биомаркеров может быть полезным для дифференцировки острых нарушений мозгового кровообращения по ишемическому или геморрагическому типу [10].

### Материал и методы

В исследование включили 59 пациентов. У 20 человек диагностировали геморрагический и у 39 человек — ишемический инсульт.

В группе ишемического инсульта выделили острый (4–21 сутки) и ранний восстановительный период (22 дня — 6 мес.). В группе пациентов с геморрагическим инсультом исследования проводили в течение острого (2–21 сутки) и подострого периодов (22 суток — 3 мес.).

В контрольную группу включили 20 условно здоровых добровольцев. Перед включением в исследование у добровольцев получили информированное согласие.

Молекулярные маркеры ЦНС в сыворотке крови определяли в острой стадии инсультов (4–21 сутки), в

several hours. In particular, glial fibrillary acidic protein, localized in the astroglia, is a leading candidate for detection of hemorrhagic stroke [7]. It is found in very low concentrations in the plasma of healthy individuals because it is not actively secreted by cells [8]. However, rapid glial cell damage in hemorrhagic stroke causes the release of large amounts of this glial protein into the bloodstream within a few minutes. Considering that cell necrosis in ischemic stroke develops within a certain time interval, the changing levels of this acidic astrocyte protein can be used for differential diagnosis of hemorrhagic and ischemic stroke [9].

Simultaneous detection of glial and neuron-specific biomarkers may be useful in differentiating between acute ischemic or hemorrhagic brain accidents [10].

### Materials and Methods

Fifty-nine patients were included in the study. Twenty patients were diagnosed with hemorrhagic stroke and 39 with ischemic stroke.

In ischemic stroke group we distinguished acute (4–21 days) and early recovery period (22 days to 6 months). In the group of patients with hemorrhagic stroke, the tests were performed during the acute (2–21 days) and subacute periods (22 days to 3 months).

Twenty apparently healthy volunteers were included in the control group. Informed consent was obtained from the volunteers before enrolment.

CNS molecular markers in blood serum were measured in the acute phase of stroke (4–21 days), in the subacute stage of hemorrhagic stroke and in the early recovery stage of ischemic stroke (22 days to 3 months). Quantitative assessment of the serum level of CNS molecular markers in patients with ischemic and hemorrhagic stroke was performed by enzyme immunoassay. The brain-derived neurotrophic factor (BDNF), neuron-specific enolase (NSE), total protein S-100 ( $\alpha\beta$ - $\beta\beta$ ), glial cell-derived neurotrophic factor (GDNF), vascular endothelial growth factor receptor-1 (VEGFR-1) were measured. CNS molecular markers were measured using an Immunomat TM automated microplate immunoassay.

The reagents used were CanAg NSE EIA FUJIREBIO (Sweden); R&D systems (USA); ABfrontier (Korea); Sekisui Medical CO (Japan); eBioscience (Austria); and Cayman Chemical (USA).

Statistical analysis was performed using STATISTICA 10 software (StatSoft Inc., США). Nominal data were described with absolute values and percentages. Quantitative data with normal distribution were combined into variation series, where the mean arithmetic values (*M*) and standard deviations (*SD*) were calculated. If the distribution was not normal, quantitative data were presented as median and quartiles (25–75% of the interquartile range). The Kolmogorov–Smirnov test was used to check the distribution for normality. When comparing the mean values in normally distributed variables in quantitative data analysis, the Student's *t*-test was used. Mann–Whitney *U*-test was used to compare two independent groups when the distribution of variables was not normal. Wilcoxon *W*-criterion was used to assess the significance of differences in quantitative variables for

подострой стадии геморрагического инсульта и стадии раннего восстановительного периода ишемического инсульта (22 суток — 3 мес.). Количественную оценку содержания молекулярных маркеров ЦНС в сыворотке крови пациентов с ишемическим и геморрагическим инсультом осуществляли методом иммуноферментного анализа. Определяли нейротрофический фактор головного мозга (BDNF), нейронспецифическую енолазу (NCE), белок S-100 общий ( $\alpha\beta$ - $\beta\beta$ ), глиальный нейротрофический фактор (GDNF), рецептор-1 фактора роста эндотелия (VEGFR-1). Молекулярные маркеры ЦНС выявляли с помощью автоматического микропланшетного иммуноферментного анализатора Immunomat TM.

Использовали реактивы фирм: CanAg NSE EIA «FUJIREBIO» (Швеция); «R&D systems» (США); «ABfrontier» (Корея); «Sekisui Medical CO» (Япония); «eBio-science» (Австрия); «Саuman chemical» (США).

Статистический анализ проводили с использованием программы STATISTICA 10 (разработчик — StatSoft.Inc). Номинальные данные описывали с указанием абсолютных значений и процентных долей. Количественные показатели, имеющие нормальное распределение, объединяли в вариационные ряды, в которых проводили расчет средних арифметических величин ( $M$ ) и стандартных отклонений ( $SD$ ). В случае отсутствия нормальности распределения количественные данные представляли в виде медианы и квартилей (25–75% границы интерквартильного отрезка). Для проверки характера распределения использовали тест Колмогорова–Смирнова. При сравнении средних величин в нормально распределенных совокупностях количественных данных рассчитывали  $t$ -критерий Стьюдента. Для сравнения двух независимых групп в случаях отсутствия признаков нормального распределения данных использовали  $U$ -критерий Манна–Уитни. Для анализа статистической значимости различий количественных признаков для двух зависимых выборок применялся  $W$ -критерий Уилкоксона. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

Статистически значимых различий между группами не выявили (табл. 1).

**BDNF.** Содержание мозгового нейротрофического фактора в крови добровольцев контрольной группы составило 574,5 [455,5; 615] pg/ml. В остром периоде ишемического инсульта содержание мозгового нейротрофического фактора незначительно снижалось до 524 [430; 676] pg/ml, а геморрагического инсульта возрастало до 674 [560; 749] pg/ml, что статистически значимо отличалось от результатов в контрольной группе ( $p=0,003$ ). В раннем восстановительном периоде ишемического инсульта содержание BDNF возросло до 547 [448; 667] pg/ml, а в подо-

two dependent samples. Differences were considered significant at  $P < 0.05$ .

No significant differences were found between the groups in baseline characteristics (Table 1).

**BDNF.** The level of brain-derived neurotrophic factor in the blood of control volunteers was 574.5 [455.5; 615] pg/ml. In the acute period of ischemic stroke, cerebral neurotrophic factor level slightly decreased to 524 [430; 676] pg/ml, and in hemorrhagic stroke increased to 674 [560; 749] pg/ml, which was significantly different from results in the control group ( $P=0.003$ ). In the early recovery period of ischemic stroke, BDNF level increased to 547 [448; 667] pg/ml, and in the subacute period of hemorrhagic stroke, to 664 [616; 762] pg/ml.

**NSE.** The serum level of neuron-specific enolase in volunteers of the control group was 4.15 [3.53; 4.8] ng/ml. In the acute period of ischemic stroke, neuron-specific enolase level increased to 5.4 [4.4; 6.4] ng/ml ( $P < 0.001$ ) and in acute period of hemorrhagic stroke to 5.1 [4.4; 6.4] ng/ml. In the early recovery period of ischemic stroke and the subacute period of hemorrhagic stroke, the values were 5.4 [4.4; 6.4] ng/ml ( $P < 0.014$ ) and 5.8 [4.5; 6.3] ng/ml ( $P < 0.003$ ), respectively.

**S-100 protein.** The serum S-100 protein level in volunteers was 4.5 [3.8; 5.4] ng/ml. In the acute period of ischemic stroke, S-100 protein level was 4.1 [3.4; 4.6] ng/ml ( $P=0.031$ ) and in that of hemorrhagic stroke it was 4.9 [4.6; 5.7] ng/ml ( $P > 0.05$ ). In the early recovery period of ischemic stroke, S-100 protein level was 3.9 [3.0; 4.6] ng/ml ( $P < 0.014$ ), and in the subacute period of hemorrhagic stroke, 4.7 [4.1; 6.2] ng/ml ( $P > 0.05$ ).

**GDNF.** The serum level of glial cell-derived neurotrophic factor in the control volunteers was 1.98 [1.64; 2.1] ng/ml. In the acute period of ischemic stroke, this parameter was 1.8 [1.6; 2.1] ng/ml ( $P > 0.05$ ), while in that of hemorrhagic stroke it was 2.4 [2.0; 2.5] ng/ml. In the early recovery period of ischemic stroke, the parameter was 1.9 [1.6; 1.9] ng/ml ( $P > 0.05$ ), and in the subacute period of hemorrhagic stroke, it reached 2.4 [2.3; 2.6] ng/ml ( $P < 0.001$ ).

**VEGFR-1.** The serum level of endothelial growth factor receptor-1 in control volunteers was 903.5 [626; 1115] pg/ml. In the acute period, these values were: for ischemic stroke, 1045 [505; 1440] pg/ml ( $P > 0.05$ ) and for hemorrhagic stroke, 772 [418; 1130] pg/ml ( $P > 0.05$ ). In the early recovery period of ischemic stroke, VEGFR-1 level was 987 [523; 1440] pg/ml, and while in the subacute stage of hemorrhagic stroke, it was 485 [211; 945] pg/ml ( $P < 0.006$ ).

The results of the tests are presented in Table 2.

## Results and Discussion

**BDNF.** The brain-derived neurotrophic factor plays an important role in the protection of neu-

Таблица 1. Характеристика пациентов по возрасту и полу.

Table 1. Patients' sex and age characteristics.

| Patient group            | Sex, n (%)   |         | Age       |
|--------------------------|--|---------|-----------|
|                          | male   | female  |           |
| Control, n=20            | 10 (50)  | 10 (50) | 58.4±5.9  |
| Ischemic stroke, n=39    | 19 (49)  | 20 (51) | 58.9±12.9 |
| Hemorrhagic stroke, n=20 | 10 (50)  | 10 (50) | 53.4±9.7  |
| Page                     | $P$ Ischemic vs control $> 0.05$ ; $P$ hemorrhagic vs control $> 0.05$ |         |           |

**Примечание.** Patient group — группа пациентов; sex — пол; male — мужской; female — женский; age — возраст. Для табл. 1, 2: Ischemic/hemorrhagic stroke — ишемический/геморагический инсульт.

стром периоде геморрагического инсульта — до 664 [616; 762] pg/ml.

**NSE.** Содержание нейронспецифической енолазы в сыворотке крови добровольцев контрольной группы составило 4,15 [3,53; 4,8] ng/ml. В остром периоде ишемического инсульта содержание нейронспецифической енолазы возросло до 5,4 [4,4; 6,4] ng/ml ( $p < 0,001$ , а геморрагического инсульта — 5,1 [4,4; 6,4]. В раннем восстановительном периоде ишемического инсульта и подостром периоде геморрагического инсульта показатели соответственно были равны 5,4 [4,4; 6,4] ng/ml ( $p < 0,014$ ) и 5,8 [4,5; 6,3] ng/ml ( $p < 0,003$ ).

**Белок S-100.** Содержание белка S-100 в сыворотке крови добровольцев составило 4,5 [3,8; 5,4] ng/ml. В остром периоде ишемического инсульта содержание белка S-100 составляло 4,1 [3,4; 4,6] ng/ml ( $p = 0,031$ ), а при геморрагическом инсульте — 4,9 [4,6; 5,7] ng/ml ( $p > 0,05$ ). В раннем восстановительном периоде ишемического инсульта содержание белка S-100 составило 3,9 [3,0; 4,6] ng/ml ( $p < 0,014$ ), а в подостром периоде геморрагического инсульта — 4,7 [4,1; 6,2] ng/ml ( $p > 0,05$ ).

**GDNF.** Содержание глиального нейротрофического фактора в сыворотке крови добровольцев контрольной группы равнялось 1,98 [1,64; 2,1] ng/ml. В остром периоде ишемического инсульта этот показатель составил 1,8 [1,6; 2,1] ng/ml ( $p > 0,05$ ), а геморрагического инсульта — 2,4 [2,0; 2,5] ng/ml. В раннем восстановительном периоде ишемического инсульта показатель равен 1,9 [1,6; 1,9] ng/ml ( $p > 0,05$ ), а в подостром периоде геморрагического инсульта — 2,4 [2,3; 2,6] ng/ml ( $p < 0,001$ ).

**VEGFR-1.** Содержание в сыворотке крови добровольцев контрольной группы рецептора-1 фактора роста эндотелия было равным 903,5 [626; 1115] pg/ml. В остром периоде эти показатели составляли: для ишемического инсульта — 1045 [505; 1440] pg/ml ( $p > 0,05$ ) и для геморрагического инсульта — 772 [418; 1130] pg/ml ( $p > 0,05$ ). В раннем восстановительном периоде ишемического инсульта содержание фактора роста эндотелия составляло 987 [523; 1440] pg/ml, а в подострой стадии геморрагического инсульта — 485 [211; 945] pg/ml ( $p < 0,006$ ).

Результаты исследований представили в табл. 2.

## Результаты и обсуждение

**BDNF.** Мозговой нейротрофический фактор играет важную роль в защите нейронов при воздействии повреждающих факторов. Данные литературы свидетельствуют о важности его исследования при острых нарушениях мозгового кровообращения. В частности, исследована взаимосвязь между уровнем BDNF в сыворотке крови, фракционной анизотропией (ФА) и функциональным результатом во время реабилитации после острого инсульта. Результаты исследования показывают, что уровень BDNF в сыворотке может коррелировать с ФА [11].

В проспективном исследовании, в которое было включено 208 пациентов с первым инсультом в возрасте от 18 до 75 лет, изучали влияние факторов риска на содержание BDNF. Оно значительно снижается при остром инсульте.

rons exposed to damaging factors. Published evidence demonstrates the importance of its measurement in acute cerebrovascular accidents. In particular, the relationship between serum BDNF level, fractional anisotropy (FA) and functional outcome during rehabilitation after acute stroke was investigated. The results of the study show that serum BDNF level can correlate with FA [11].

A prospective study of 208 patients with a first stroke between 18 and 75 years of age examined the effect of risk factors on BDNF level. It decreases significantly in acute stroke. The risk factors negatively affect BDNF levels (diabetes mellitus,  $P = 0.001$ ; alcoholism,  $P = 0.003$ ; hypertension,  $P = 0.002$ ; smoking,  $P = 0.001$ ) [12].

A study to elucidate the role of BDNF during early recovery after ischemic stroke using motor training was carried out. Fifty ischemic stroke patients were included in the study. The serum BDNF was measured in 50 healthy subjects who served the control group. BDNF levels were found to increase significantly during the motor rehabilitation phase. Untreated patients had significantly lower BDNF levels at the endpoint [13].

According to recent studies, BDNF is an important predictor of improved mobility after stroke. The aim of this prospective study was to evaluate the BDNF blood level during day 1 of the first ischemic stroke and to find a potential relationship between BDNF concentration and neurological status in the acute period, as well as between BDNF and functional status in the subacute phase of stroke. The prospective study involved 87 patients aged 39–99 years (42 women, 45 men) with a first-ever ischemic stroke. In all subjects the following assessments were done: blood BDNF level and neurological status according to NIHSS on day 1 of stroke, comorbidities, etiological type of ischemic stroke by ASCOD, and functional status on days 14 and 90 after onset using the modified Rankin (mRankin) scale for neurologic disability. Neurological status and BDNF level on day 1 of ischemic stroke were found to be independent prognostic factors at mid-term follow-up. Decreased BDNF level in the acute phase of stroke is a poor prognostic factor with respect to the functional status of patients on day 90 from the onset of the disease [14].

In our study we found significant differences in the level of brain-derived neurotrophic factor in blood serum between the control group and patients in acute and subacute periods of hemorrhagic stroke.

**NSE and S-100 protein.** A meta-analysis examining the clinical value of serum neuron-specific enolase (NSE) and soluble human-100 $\beta$  protein (S-100 $\beta$ ) in patients with acute cerebral infarction (ACI) included 13 case-control studies involving 911 patients with ACI and 686 healthy controls. Results of the meta-analysis showed that NSE and S-100 $\beta$  lev-

**Таблица 2. Содержание молекулярных маркеров в сыворотке крови пациентов с ишемическим и геморрагическим инсультом.****Table 2. The levels of molecular markers in the serum of patients with ischemic and hemorrhagic stroke.**

| Molecular marker     | Groups                        |  |  |  |  | P value  |
|----------------------|-------------------------------|--|--|--|--|--|
|                      | <sup>1</sup> Controls<br>n=20 | Ischemic stroke, n=39                    |  | Hemorrhagic stroke, n=20                 |  |  |
|                      |                               | <sup>2</sup> Acute period<br>(days 4–21) | <sup>3</sup> Early recovery<br>period (day 22 —<br>6 months) | <sup>4</sup> Acute period<br>(days 2–21) | <sup>5</sup> Subacute period<br>(day 22 —<br>3 months) |  |
| BDNF, pg/ml          | 574.5 [455.5; 615]            | 524 [430; 676]                           | 547 [448; 667]   | 674 [560; 749]                           | 664 [616; 762]   | $P_{1-2}>0.05$<br>$P_{1-3}>0.05$<br>$P_{1-4}=0.003$<br>$P_{1-5}=0.0001$  |
| NSE, ng/ml           | 4.15 [3.53; 4.8]              | 5.4 [4.4; 6.4]                           | 5.4 [4.4; 6.4]   | 5.1 [4.4; 6.4]                           | 5.8 [4.5; 6.3]   | $P_{1-2}<0.001$<br>$P_{1-3}<0.001$<br>$P_{1-4}=0.014$<br>$P_{1-5}=0.003$ |
| S-100 protein, ng/ml | 4.5 [3.8; 5.4]                | 4.1 [3.4; 4.6]                           | 3.9 [3; 4.6]   | 4.9 [4.6; 5.7]                           | 4.7 [4.1; 6.2]   | $P_{1-2}=0.031$<br>$P_{1-3}=0.014$<br>$P_{1-4}>0.05$<br>$P_{1-5}>0.05$   |
| GDNF, ng/ml          | 1.98 [1.64; 2.1]              | 1.8 [1.6; 2.1]                           | 1.9 [1.6; 1.9]   | 2.4 [2; 2.5]                             | 2.4 [2.3; 2.6]   | $P_{1-2}>0.05$<br>$P_{1-3}>0.05$<br>$P_{1-4}=0.002$<br>$P_{1-5}<0.001$   |
| VEGFR-1, pg/ml       | 903.5 [626; 1115]             | 1045 [505; 1440]                         | 987 [523; 1440]  | 772 [418; 1130]*                         | 485 [211; 945]*  | $P_{1-2}>0.05$<br>$P_{1-3}>0.05$<br>$P_{1-4}>0.05$<br>$P_{1-5}<0.006$    |

**Note.** \* — significant intergroup difference,  $P<0.05$ .

**Примечание.** Acute — острый; early recovery — раннего восстановления; subacute — подострый; BDNF — мозговой нейротрофический фактор; NSE — нейронспецифическая енолаза; GDNF — глиальный нейротрофический фактор; VEGFR-1 — рецептор-1 фактора роста эндотелия. \* — при межгрупповом сравнении имеет место значимое различие значений за аналогичный период,  $p<0,05$ .

Факторы риска отрицательно влияют на уровень BDNF (диабет,  $p=0,001$ ; алкоголизм,  $p=0,003$ ; гипертония,  $p=0,002$ ; курение,  $p=0,001$ ) [12].

Проведено исследование, направленное на выяснение роли BDNF во время раннего восстановления после ишемического инсульта с помощью двигательной тренировки. В исследовании были включены 50 пациентов, перенесших ишемический инсульт. Для сравнения сывороточный BDNF был измерен у 50 здоровых людей. Было обнаружено, что уровни BDNF значительно увеличиваются во время фазы двигательной реабилитации. У не леченых пациентов в конечной точке уровень BDNF был значительно ниже [13].

Согласно недавним исследованиям, нейротрофический фактор головного мозга (BDNF) имеет большое значение для прогноза улучшения подвижности после инсульта. Целью этого проспективного исследования было оценить концентрацию BDNF в крови в течение 1-го дня первого ишемического инсульта и найти потенциальную связь между концентрацией BDNF и неврологическим статусом в остром периоде, а также между BDNF и функциональным статусом в подострой фазе инсульта. В проспективном исследовании участвовали 87 пациентов в возрасте 39–99 лет (42 женщины, 45 мужчин) с первым в жизни ише-

els were significantly higher in patients with ACI than in controls. Subgroup analysis based on ethnicity showed that serum concentrations of NSE and S-100 $\beta$  were significantly higher in patients with ACI than in controls in the Asian population. In the European population, the serum NSE level in the case group was significantly higher than in the control group, but there were no significant differences between patients with ACI and controls. Based on these results, the serum NSE and S-100 $\beta$  levels strongly correlated with ACI in the Asian population and could be important clinical markers for the diagnosis and treatment of ACI [15].

The diagnostic value of total tau protein (T-tau), calcium-binding protein S100B and neuron-specific enolase (NSE) as blood biomarkers in acute ischemic stroke (AIS) and transient ischemic attack (TIA) was analyzed to identify correlation with symptoms and signs, brain infarction size, etiology and outcome. 102 patients with stroke and 35 with TIA were analyzed. T-tau was found to be higher in patients with stroke. S100B levels were also increased in stroke patients compared with TIA patients. However, when the results were adjusted for distorting factors, their significance was lost. T-tau and S100B levels significantly correlated with cerebral infarct volume. The mRS scores after three months of follow-up correlated with T-tau and S100B levels [16].

мическим инсультом. У всех испытуемых был проведен следующий анализ: концентрация BDNF в крови и неврологический статус по NIHSS в 1-й день инсульта, сопутствующие заболевания, этиологический тип ишемического инсульта по ASCOD и функциональный статус на 14-й и 90-й день после начала по шкале mRankin. Установлено, что неврологический статус и содержание BDNF в 1-й день ишемического инсульта являются независимыми прогностическими факторами при среднесрочном наблюдении. Снижение концентрации BDNF в острой фазе инсульта является фактором плохого прогноза с точки зрения функционального статуса пациентов на 90-е сутки от начала заболевания [14].

В наших наблюдениях установлены статистически значимые различия содержания мозгового нейротрофического фактора в сыворотки крови между группой контроля и возрастом его содержания в остром и подостром периодах геморрагического инсульта.

**NSE и Белок S-100.** Мета-анализ по исследованию клинической ценности содержания в сыворотке нейрон-специфической энлазы (NSE) и растворимого белка человека-100β (S-100β) у пациентов с острым инфарктом головного мозга (АСИ) включал 13 исследований случай-контроль, в которых участвовали 911 пациентов с ОКИ и 686 здоровых людей из контрольной группы. Результаты метаанализа показали, что концентрация NSE и S-100β у пациентов с ОКИ была значительно выше, чем в контрольной группе. Анализ подгрупп, основанный на этнической принадлежности, показал, что сывороточная концентрация NSE и S-100β у пациентов с ОКИ была значительно выше, чем в контрольной группе в азиатской популяции. В европейской популяции сывороточная концентрация NSE в группе случаев была значительно выше, чем в контрольной группе, но не наблюдалось значительных различий между пациентами с АСИ и контрольной группой. Основываясь на полученных результатах, сделано заключение, что концентрации NSE и S-100β в сыворотке сильно коррелируют с АСИ в азиатской популяции и могут быть важными клиническими маркерами для диагностики и лечения АСИ [15].

Проведен анализ диагностической ценности общего тау-белка (T-tau), кальций-связывающего белка S100B и нейрон-специфической энлазы (NSE) в качестве биомаркеров крови при остром ишемическом инсульте (АИС) и транзиторной ишемической атаке (ТИА) с целью выявления корреляции с симптомами, размером инфаркта мозга, этиологией и исходом. Проанализировано 102 пациента с инсультом и 35 с ТИА. Результаты: T-тау был выше у

In order to predict the short-term outcome of acute ischemic stroke, somatosensory evoked potentials (SEP) and biochemical parameters [neuron-specific enolase (NSE) and S100 protein] were analyzed in a prospective study. In 31 patients with first middle cerebral artery infarction, serum NSE and S100 protein were measured daily between 1 and 6 days after stroke. The N20 and N70 components of SEP (SEP20 and SEP70) were determined on days 1 and 6. SEP and biochemical markers in stroke patients were compared with those in controls. Specificity and positive predictive value were high at day 1 for SEP (SEP20: 100% for both; SEP70: 93 and 88%, respectively) compared with lower values for NSE (67 and 50%) and S100 (23 and 57%). In contrast, S100 showed the highest sensitivity on day 1 with 77% versus the relatively low sensitivity of NSE (31%) and SEP (35% for SEP20 and 47% for SEP70). Biochemical markers showed improved sensitivity over time with better values (>90%) between days 3 and 4. SEP analysis can distinguish a positive outcome from an unfavorable one early in the course of disease and reliably predict a poor outcome. Since biochemical markers and SEP complement each other in stroke prognosis, the combined use of these markers is promising [17]

Our findings showed significant differences in neuron-specific enolase level between the control group and patients with the acute stages of ischemic and hemorrhagic stroke, as well as the early recovery stage of ischemic stroke and the subacute period of hemorrhagic stroke. The level of S-100 protein significantly decreased in the acute and early recovery period of ischemic stroke.

**GDNF.** The glial cell-derived neurotrophic factor (GDNF) has a strong neuroprotective effect in various diseases of the nervous system, including ischemic brain damage and neurodegenerative diseases. The effect of GDNF on the ultrastructure and functional activity of neuron-glia networks during acute hypoxia was studied. Hypoxia simulation was performed on day 14 of cultivation of primary hippocampal cells derived from mouse embryos (E18). GDNF (1 ng/ml) was added to the culture medium 20 min before oxygen deprivation. Irreversible changes in the ultrastructure of neurons and astrocytes caused by acute hypoxia resulted in loss of functional Ca<sup>2+</sup> activity and disruption of the neuronal network. Destructive changes in mitochondria and their functional activity, characterized by an increase in basal oxygen consumption rate and complex II respiratory chain activity with a decrease in stimulated respiration intensity, were observed 24 hours after hypoxic injury. At a concentration of 1 ng/ml, GDNF maintained the functional activity of the metabolic network in primary hippocampal cultures and preserved the structure of the synaptic apparatus and the number of mature chemical synapses, confirming its neu-

пациентов с инсультом. Концентрации S100B также были увеличены у пациентов с инсультом по сравнению с пациентами с ТИА. Однако, когда результаты были скорректированы с учетом искажающих факторов, их значение было потеряно. Концентрации T-tau и S100B статистически значимо коррелировали с объемом инфаркта головного мозга. Показатели mRS через три месяца наблюдения коррелировали с T-tau и концентрацией S100B [16].

В целях прогнозирования краткосрочного исхода острого ишемического инсульта проведен анализ соматосенсорных вызванных потенциалов (SEP) и биохимических параметров [нейрон-специфическая енолаза (NSE) и белок S100] в проспективном исследовании. У 31 пациента с 1-м инфарктом средней мозговой артерии сывороточный NSE и белок S100 измеряли ежедневно между 1- и 6-м днями после инсульта. Компоненты N20 и N70 SEP (SEP20 и SEP70) определяли в дни 1 и 6. SEP и биохимические маркеры у пациентов с инсультом сравнивали с таковыми в контрольной группе. Специфичность и положительная прогностическая ценность были высокими в день 1 для SEP (SEP20: 100% для обоих; SEP70: 93 и 88% соответственно) по сравнению с более низкими значениями для NSE (67 и 50%) и S100 (23 и 57%). Напротив, S100 показал наивысшую чувствительность в день 1 с 77% по сравнению с относительно низкой чувствительностью NSE (31%) и SEP (SEP20: 35%, SEP70: 47%). Биохимические маркеры показали улучшение чувствительности с течением времени с лучшими значениями (>90%) между 3-м и 4-м днями. Анализ SEP может на раннем этапе отличить позитивный результат от неблагоприятного и надежно предсказать плохой результат. Поскольку биохимические маркеры и SEP дополняют друг друга в прогнозе инсульта, комбинированное применение этих маркеров является перспективным [17].

Данные наших исследований свидетельствуют о статистически значимых различиях содержания нейрон-специфической енолазы между группой контроля и возрастанием ее содержания в острых стадиях ишемического и геморрагического инсультов, а также стадией раннего восстановления при ишемическом инсульте и подострым периодом геморрагического инсульта. Содержание белка S-100 статистически значимо снижалось в остром и периоде раннего восстановления при ишемическом инсульте.

**GDNF.** Нейротрофический фактор, полученный из глиальных клеток (GDNF), оказывает выраженное нейропротекторное действие при различных заболеваниях нервной системы, включая ишемическое повреждение мозга и нейродегенеративные заболевания. Изучено

roprotective effect and supporting the normal structure of mitochondria. Analysis of the possible mechanism of GDNF action revealed that the RET kinase, a component of the receptor complex, and the PI3K/Akt pathway are crucial for the neuroprotective effect of GDNF. The present study also revealed the role of GDNF in the regulation of HIF-1 $\alpha$  transcription factor expression under hypoxia [18].

Astrocytes, oligodendrocytes and microglia play an important role in regulating processes in the physiological state and in diseases of CNS. After discovering that the addition of conditioned medium from astrocyte cultures can support the survival of primary neurons in vitro, a potent glial cell-derived neurotrophic factor (GDNF) was identified. The relationship between neurotrophic factor and glia is crucial for both the developing and adult brain. BDNF and GDNF have been found to be important for glia-mediated synapse formation [19].

**VEGFR-1.** The vascular endothelial growth factor receptor -1 plays an essential role in the regulation of VEGF function. Vascular endothelial growth factor (VEGF) is involved in various mechanisms of brain damage and repair in cerebrovascular accidents. Patients with acute ischemic stroke with higher serum VEGF levels and larger brain infarct volume were found to be more likely to develop post stroke cognitive impairment (PSCI) 3 months after the stroke. [20].

Excessive VEGF disrupts intracellular barriers, increases vascular plexus endothelial permeability, causes edema, and contributes to hydrocephalus and subarachnoid hemorrhage. [21]. The inhibitory functions of miR-145 on angiogenesis through a direct effect on VEGF-A were revealed for the first time [22]. The spatial organization of vascular endothelial growth factor (VEGF) signaling is a key factor in vascular pattern formation during tissue development and repair. The importance of astrocytes in controlling VEGF functions to influence angiogenesis processes was emphasized [23]. Although plasma VEGF level increases after stroke onset, its importance for functional outcome may differ depending on stroke subtypes [24]. The VEGF/VEGFR signaling system, originally found in the vascular system and acting specifically there, is critical for neural development, neural homeostasis, and recovery from neuronal damage [25].

In recent years, several diagnostic panels have been proposed to diagnose stroke and predict its outcome [26, 27].

A panel of 5 protein markers selected from more than 50 proteins [S100B, B-type neurotrophic growth factor (BNGF), von Willebrand factor (vWF), MMP-9, monocyte chemoattractant protein-1] was evaluated in 223 patients with acute stroke (82 ischemic, 103 hemorrhagic) and 214 healthy subjects. Plasma samples were examined within 6 hours after stroke onset. In this study a biomarker

влияние GDNF на ультраструктуру и функциональную активность нейронно-глиальных сетей во время острого гипоксического воздействия. Моделирование гипоксии выполняли на 14-й день культивирования первичных клеток гиппокампа полученных из эмбрионов мыши (E18). GDNF (1 нг/мл) добавляли в культуральную среду за 20 мин до кислородного голодания. Необратимые изменения ультраструктуры нейронов и астроцитов, вызванные острой гипоксией, приводили к потере функциональной активности  $Ca^{2+}$  и нарушению работы нейронной сети. Деструктивные изменения митохондриального аппарата и его функциональной активности, характеризующиеся увеличением базальной скорости потребления кислорода и активности комплекса II дыхательной цепи при снижении интенсивности стимулированного дыхания, наблюдались через 24 часа после гипоксического повреждения. В концентрации 1 нг/мл GDNF поддерживал функциональную активность метаболической сети в первичных культурах гиппокампа, и сохранял структуру синаптического аппарата и количество зрелых химических синапсов, подтверждая его нейротропный эффект, поддерживал нормальную структуру митохондрий. Анализ возможного механизма GDNF показал, что киназа RET, компонент рецепторного комплекса, и путь PI3K/Akt имеют решающее значение для нейротропного эффекта GDNF. Настоящее исследование также выявило роль GDNF в регуляции экспрессии фактора транскрипции HIF-1 $\alpha$  в условиях гипоксии [18].

Астроциты, олигодендроциты и микроглия играют важную роль в регулировании процессов в физиологическом состоянии и при заболеваниях ЦНС. После того, как было обнаружено, что добавление кондиционированной среды из культур астроцитов может поддерживать выживание первичных нейронов *in vitro*, был обнаружен мощный нейротрофический фактор глиальных клеток (GDNF). Отношения между NTF и глией имеют решающее значение как для развивающегося, так и для взрослого мозга. Установлено, что BDNF и GDNF важны для опосредованного глией образования синапсов [19].

**VEGFR-1.** Рецептор-1 фактора роста эндотелия сосудов играет важную роль в регуляции функционирования VEGF. Фактор роста эндотелия сосудов (VEGF) участвует в различных механизмах повреждения и восстановления мозга при острых нарушениях мозгового кровообращения. Установлено, что у пациентов с острым ишемическим инсультом с более высоким уровнем сывороточного VEGF и большим объемом инфаркта мозга с большей веро-

панель distinguished patients with stroke from healthy control with a sensitivity of 92% and a specificity of 93% [28].

Principles of personalized medicine should be considered when studying molecular biomarkers in stroke. Various aspects such as stage of disease, age, lifestyle factors, and stroke subtypes could be important in the context of identifying stroke biomarkers. With the advent of omics, neuroimaging, big data and precision medicine, well-designed trials of stroke biomarkers will greatly improve the treatment of the disease, which affects millions of people worldwide each year [29].

## Conclusion

Our study revealed different levels of molecular markers in the acute period of ischemic and hemorrhagic stroke, the early recovery period of ischemic stroke and the subacute period of hemorrhagic stroke. In the acute period, the early recovery period of ischemic stroke, and the subacute period of hemorrhagic stroke there is an increase in the serum level of specific neuron enolase. The serum level of cerebral neurotrophic factor rises significantly in the acute and subacute periods of hemorrhagic stroke. In acute and early recovery period of ischemic stroke the level of S-100 protein decreases. The level of glial cell-derived neurotrophic factor increases in the acute and subacute periods of hemorrhagic stroke. The concentration of endothelial growth factor receptor-1 decreases significantly in the subacute period of hemorrhagic stroke, and its value significantly differs from that in the early recovery period of ischemic stroke.

ятностью развиваются когнитивные нарушения (PSCI) через 3 месяца после инсульта. [20].

Чрезмерное содержание VEGF нарушает внутриклеточные барьеры, увеличивает проницаемость эндотелия сосудистого сплетения, вызывает отек, способствует развитию гидроцефалии и субарахноидальных кровоизлияний [21]. Впервые выявлены ингибирующие функции miR-145 на ангиогенез посредством прямого влияния на VEGF-A [22]. Пространственная организация передачи сигналов фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) является ключевым фактором формирования паттерна сосудов во время развития и восстановления тканей. Подчеркивается важность астроцитов в управлении функциями VEGF для влияния на процессы ангиогенеза [23]. Несмотря на то, что содержание VEGF в плазме увеличивается после начала инсульта, его значение для функционального результата может быть различным для подтипов инсульта [24]. Система передачи сигналов VEGF/VEGFR, первоначально

обнаруженная в сосудистой системе и действующая конкретно в сосудистой системе, играет важную роль в нервном развитии, нервном гомеостазе и восстановлении после повреждения нейронов [25].

В последние годы предложен ряд диагностических панелей для диагностики и прогнозирования исхода инсульта [26, 27].

Проведена оценка панели из 5 белковых маркеров, отобранных более чем из 50 белков (S100B, фактор нейротрофного роста В-типа (BNGF), фактор фон Виллебранда (vWF), MMP-9, хемотаксический белок моноцитов-1) у 223 пациентов с острым инсультом (82 ишемических, 103 геморрагический) и 214 здоровых людей. Образцы плазмы исследовали в течение 6 часов после начала инсульта. Инсульт отличался от контроля с чувствительностью 92% и специфичностью 93% [28].

В исследовании молекулярных биомаркеров при инсульте необходимо учитывать принципы персонализированной медицины. Обсуждаются условия в определении биомаркеров инсульта, включая этапы развития заболевания, с учетом возраста, факторов образа жизни и подтипов инсульта. С появлением «-омических» исследований, нейровизуализации, больших данных и точной медицины хорошо спланированные испытания биомаркеров инсульта значительно улучшат лечение болезни, от кото-

рой ежегодно страдают миллионы людей во всем мире [29].

## Заключение

Проведенные исследования свидетельствуют о различиях в содержании молекулярных маркеров при ишемическом и геморрагическом инсульте в остром периоде, периоде раннего восстановления при ишемическом инсульте и подостром периоде геморрагического инсульта. В остром периоде, периоде раннего восстановления при ишемическом инсульте, подостром периоде геморрагического инсульта отмечается возрастание содержания в сыворотке крови белка нейрон-специфической енолазы. Содержание мозгового нейротрофического фактора в сыворотке крови достоверно возрастает в остром и подостром периодах геморрагического инсульта. В остром и периоде раннего восстановления при ишемическом инсульте снижается содержание белка S-100. Возрастает содержание глиально-нейротрофического фактора в остром и подостром периодах геморрагического инсульта. Статистически значимо в подостром периоде геморрагического инсульта снижается содержание рецептора-1 фактора роста эндотелия. Причем, его значение статистически значимо отличается от значений периода раннего восстановления ишемического инсульта.

## Литература

- Hall E. W., Vaughan A. S., Ritchey M. D., Schieb L., Casper M. Stagnating National Declines in Stroke Mortality Mask Widespread County-Level Increases, 2010-2016. *Stroke*. 2019; 50 (12): 3355–3359. DOI: 10.1161/STRKEAHA.119.026695
- Morris S., Ramsay A., Boaden R.J., Hunter R.M., McKeivitt C., Paley L., Perry C., Rudd A.G., Turner S.J., Tyrrell P.J., Wolfe C., Fulop N.J. Impact and sustainability of centralising acute stroke services in English metropolitan areas: retrospective analysis of hospital episode statistics and stroke national audit data. *BMJ (Clinical research ed.)*. 2019; 364: ll. DOI: 10.1136/bmj.ll
- Lekander L., Willers C., Ekstrand E., von Euler M., Fagervall-Ytting B., Henricson L., Kostulas K., Lilja M., Sunnerhagen K.S., Teichert J., Peshah-Rasmussen H. Hospital comparison of stroke care in Sweden: a register-based study. *BMJ open*. 2017; 7 (9): e015244. DOI: 10.1136/bmjopen-2016-015244
- Li L., Scott C.A., Rothwell P.M., Oxford Vascular Study. Trends in Stroke Incidence in High-Income Countries in the 21<sup>st</sup> Century: Population-Based Study and Systematic Review. *Stroke*. 2020; 51 (5): 1372–1380. DOI: 10.1161/STROKEAHA.119.028484
- Kim J.Y., Kang K., Kang J., Koo J., Kim D.H., Kim B.J., Kim W.J., Kim E.G., Kim J.G., Kim J.M., Kim J.T., Kim C., Nah H.W., Park K.Y., Park M.S., Park J.M., Park J.H., Park T.H., Park H.K., Seo W.K., Bae H.J. Executive Summary of Stroke Statistics in Korea 2018: A Report from the Epidemiology Research Council of the Korean Stroke Society. *Journal of stroke*. 2019; 21 (1): 42–59. DOI: 10.5853/jos.2018.03125
- Glushakova O.Y., Glushakov A.V., Miller E.R., Valadka A.B., Hayes R.L. Biomarkers for acute diagnosis and management of stroke in neurointensive care units. *Brain circulation*. 2016; 2 (1): 28–47. DOI: 10.4103/2394-8108.178546
- Eng L.F., Ghirnikar R.S., Lee Y.L. Glial fibrillary acidic protein: GFAP-thirty-one years (1969-2000). *Neurochemical research*. 2000; 25 (9–10): 1439–1451. DOI: 10.1023/a:1007677003387
- Missler U., Wiesmann M., Wittmann G., Magerkurth O., Hagenström H. Measurement of glial fibrillary acidic protein in human blood: analytical method and preliminary clinical results. *Clinical chemistry*. 1999; 45 (1): 138–141.
- Brunkhorst R., Pfeilschifter W., Foerch C. Astroglial proteins as diagnostic markers of acute intracerebral hemorrhage-pathophysiological background and clinical findings. *Translational stroke research*. 2010; 1 (4): 246–251. DOI: 10.1007/s12975-010-0040-6

## References

- Hall E. W., Vaughan A. S., Ritchey M. D., Schieb L., Casper M. Stagnating National Declines in Stroke Mortality Mask Widespread County-Level Increases, 2010-2016. *Stroke*. 2019; 50 (12): 3355–3359. DOI: 10.1161/STRKEAHA.119.026695
- Morris S., Ramsay A., Boaden R.J., Hunter R.M., McKeivitt C., Paley L., Perry C., Rudd A.G., Turner S.J., Tyrrell P.J., Wolfe C., Fulop N.J. Impact and sustainability of centralising acute stroke services in English metropolitan areas: retrospective analysis of hospital episode statistics and stroke national audit data. *BMJ (Clinical research ed.)*. 2019; 364: ll. DOI: 10.1136/bmj.ll
- Lekander L., Willers C., Ekstrand E., von Euler M., Fagervall-Ytting B., Henricson L., Kostulas K., Lilja M., Sunnerhagen K.S., Teichert J., Peshah-Rasmussen H. Hospital comparison of stroke care in Sweden: a register-based study. *BMJ open*. 2017; 7 (9): e015244. DOI: 10.1136/bmjopen-2016-015244
- Li L., Scott C.A., Rothwell P.M., Oxford Vascular Study. Trends in Stroke Incidence in High-Income Countries in the 21<sup>st</sup> Century: Population-Based Study and Systematic Review. *Stroke*. 2020; 51 (5): 1372–1380. DOI: 10.1161/STROKEAHA.119.028484
- Kim J.Y., Kang K., Kang J., Koo J., Kim D.H., Kim B.J., Kim W.J., Kim E.G., Kim J.G., Kim J.M., Kim J.T., Kim C., Nah H.W., Park K.Y., Park M.S., Park J.M., Park J.H., Park T.H., Park H.K., Seo W.K., Bae H.J. Executive Summary of Stroke Statistics in Korea 2018: A Report from the Epidemiology Research Council of the Korean Stroke Society. *Journal of stroke*. 2019; 21 (1): 42–59. DOI: 10.5853/jos.2018.03125
- Glushakova O.Y., Glushakov A.V., Miller E.R., Valadka A.B., Hayes R.L. Biomarkers for acute diagnosis and management of stroke in neurointensive care units. *Brain circulation*. 2016; 2 (1): 28–47. DOI: 10.4103/2394-8108.178546
- Eng L.F., Ghirnikar R.S., Lee Y.L. Glial fibrillary acidic protein: GFAP-thirty-one years (1969-2000). *Neurochemical research*. 2000; 25 (9–10): 1439–1451. DOI: 10.1023/a:1007677003387
- Missler U., Wiesmann M., Wittmann G., Magerkurth O., Hagenström H. Measurement of glial fibrillary acidic protein in human blood: analytical method and preliminary clinical results. *Clinical chemistry*. 1999; 45 (1): 138–141.
- Brunkhorst R., Pfeilschifter W., Foerch C. Astroglial proteins as diagnostic markers of acute intracerebral hemorrhage-pathophysiological background and clinical findings. *Translational stroke research*. 2010; 1 (4): 246–251. DOI: 10.1007/s12975-010-0040-6

10. Kamtchum-Tatuene J., Jickling G.C. Blood Biomarkers for Stroke Diagnosis and Management. *Neuromolecular medicine*. 2019; 21 (4): 344–368. DOI: 10.1007/s12017-019-08530-0
11. Luo W., Liu T., Li S., Wen H., Zhou F., Zafonte R., Luo X., Xu M., Black-Schaffer R., Wood L.J., Wang Y., Wang Q.M. The Serum BDNF Level Offers Minimum Predictive Value for Motor Function Recovery After Stroke. *Translational stroke research*. 2019; 10 (4): 342–351. DOI: 10.1007/s12975-018-0648-5
12. Chaturvedi P., Singh A.K., Tiwari V., Thacker A.K. Brain-derived neurotrophic factor levels in acute stroke and its clinical implications. *Brain circulation*. 2020; 6 (3): 185–190. DOI: 10.4103/bc.bc\_23\_20
13. Koroleva E.S., Tolmachev I.V., Alifirova V.M., Boiko A.S., Levchuk L.A., Loonen A., Ivanova S.A. Serum BDNF's Role as a Biomarker for Motor Training in the Context of AR-Based Rehabilitation after Ischemic Stroke. *Brain sciences*. 2020; 10 (9): 623. DOI: 10.3390/brainsci10090623
14. Lasek-Bal A., Jędrzejowska-Szypulka H., Różycka J., Bal W., Holeccki M., Dulawa J., Lewin-Kowalik J. Low Concentration of BDNF in the Acute Phase of Ischemic Stroke as a Factor in Poor Prognosis in Terms of Functional Status of Patients. *Medical science monitor: international journal of experimental and clinical research*. 2015; 21: 3900–3905. DOI: 10.12659/msm.895358
15. Li K., Jia J., Wang Z., Zhang S. Elevated Serum Levels of NSE and S-100 $\beta$  Correlate with Increased Risk of Acute Cerebral Infarction in Asian Populations. *Medical science monitor: international journal of experimental and clinical research*. 2015; 21: 1879–1888. DOI: 10.12659/msm.893615
16. Onatsu J., Vanninen R., Jäkälä P., Mustonen P., Pulkki K., Korhonen M., Hedman M., Höglund K., Blennow K., Zetterberg H., Herukka S.K., Taina M. Tau, S100B and NSE as Blood Biomarkers in Acute Cerebrovascular Events. *In vivo (Athens, Greece)*: 2020; 34 (5): 2577–2586. DOI: 10.21873/invivo.12075
17. Haupt W.F., Chopan G., Sobesky J., Liu W.C., Dohmen C. Prognostic value of somatosensory evoked potentials, neuron-specific enolase, and S100 for short-term outcome in ischemic stroke. *Journal of neurophysiology*. 2016; 115 (3): 1273–1278. DOI: 10.1152/jn.01012.2015
18. Mitroshina E.V., Mishchenko T.A., Shirokova O.M., Astrakhanova T.A., Loginova M.M., Epifanova E.A., Babaev A.A., Tarabykin V.S., Vedunova M.V. Intracellular Neuroprotective Mechanisms in Neuron-Glial Networks Mediated by Glial Cell Line-Derived Neurotrophic Factor. *Oxidative medicine and cellular longevity*. 2019; 2019: 1036907. DOI: 10.1155/2019/1036907
19. Pöyhönen S., Er S., Domanskyi A., Airavaara M. Effects of Neurotrophic Factors in Glial Cells in the Central Nervous System: Expression and Properties in Neurodegeneration and Injury. *Frontiers in physiology*. 2019; 10: 486. DOI: 10.3389/fphys.2019.00486
20. Prodjohardjono A., Vidyanti A.N., Susianti N.A., Sudarmanta-Sutarni S., Setyopranoto I. Higher level of acute serum VEGF and larger infarct volume are more frequently associated with post-stroke cognitive impairment. *PloS one*. 2020; 15 (10): e0239370. DOI: 10.1371/journal.pone.0239370
21. Shim J.W., Madsen J.R. VEGF Signaling in Neurological Disorders. *International journal of molecular sciences*. 2018; 19 (1): 275. DOI: 10.3390/ijms19010275
22. Ren L., Wei C., Li K., Lu Z. LncRNA MALAT1 up-regulates VEGF-A and ANGPT2 to promote angiogenesis in brain microvascular endothelial cells against oxygen-glucose deprivation via targeting miR-145. *Bio-science reports*. 2019; 39 (3): BSR20180226. DOI: 10.1042/BSR20180226 (Retraction published Biosci Rep. 2020 Jul 31; 40 (7)).
23. Egervari K., Potter G., Guzman-Hernandez M.L., Salmon P., Soto-Ribeiro M., Kastberger B., Balla T., Wehrle-Haller B., Kiss J.Z. Astrocytes spatially restrict VEGF signaling by polarized secretion and incorporation of VEGF into the actively assembling extracellular matrix. *Glia*. 2016; 64 (3): 440–456. DOI: 10.1002/glia.22939
24. Matsuo R., Ago T., Kamouchi M., Kuroda J., Kuwashiro T., Hata J., Sugimori H., Fukuda K., Gotoh S., Makihara N., Fukuhara M., Awano H., Isomura T., Suzuki K., Yasaka M., Okada Y., Kiyohara Y., Kitazono T. Clinical significance of plasma VEGF value in ischemic stroke — research for biomarkers in ischemic stroke (REBIOS) study. *BMC neurology*. 2013; 13: 32. DOI: 10.1186/1471-2377-13-32
25. Wittko-Schneider I.M., Schneider F.T., Plate K.H. Brain homeostasis: VEGF receptor 1 and 2 — two unequal brothers in mind. *Cell Mol Life Sci*. 2013; 70 (10): 1705–1725. DOI: 10.1007/s00018-013-1279-3. PMID: PMC3632714
26. Marginean I.C., Stanca D.M., Vacaras V., Soritau O., Margiean M., Muresanu D.F. Plasmatic markers in hemorrhagic stroke. *Journal of medicine and life*. 2011; 4 (2): 148–150.
27. Miao Y., Liao J.K. Potential serum biomarkers in the pathophysiological processes of stroke. *Expert review of neurotherapeutics*. 2014; 14 (2): 173–185. DOI: 10.1586/14737175.2014.875471
28. Jickling G.C., Sharp F.R. Biomarker panels in ischemic stroke. *Stroke*. 2015; 46 (3): 915–920. DOI: 10.1161/STROKEAHA.114.005604
29. Simpkins A.N., Janowski M., Oz H.S., Roberts J., Bix G., Doré S., Stowe A.M. Biomarker Application for Precision Medicine in Stroke. *Translational stroke research*. 2020; 11 (4): 615–627. DOI: 10.1007/s12975-019-00762-3
10. Kamtchum-Tatuene J., Jickling G.C. Blood Biomarkers for Stroke Diagnosis and Management. *Neuromolecular medicine*. 2019; 21 (4): 344–368. DOI: 10.1007/s12017-019-08530-0
11. Luo W., Liu T., Li S., Wen H., Zhou F., Zafonte R., Luo X., Xu M., Black-Schaffer R., Wood L.J., Wang Y., Wang Q.M. The Serum BDNF Level Offers Minimum Predictive Value for Motor Function Recovery After Stroke. *Translational stroke research*. 2019; 10 (4): 342–351. DOI: 10.1007/s12975-018-0648-5
12. Chaturvedi P., Singh A.K., Tiwari V., Thacker A.K. Brain-derived neurotrophic factor levels in acute stroke and its clinical implications. *Brain circulation*. 2020; 6 (3): 185–190. DOI: 10.4103/bc.bc\_23\_20
13. Koroleva E.S., Tolmachev I.V., Alifirova V.M., Boiko A.S., Levchuk L.A., Loonen A., Ivanova S.A. Serum BDNF's Role as a Biomarker for Motor Training in the Context of AR-Based Rehabilitation after Ischemic Stroke. *Brain sciences*. 2020; 10 (9): 623. DOI: 10.3390/brainsci10090623
14. Lasek-Bal A., Jędrzejowska-Szypulka H., Różycka J., Bal W., Holeccki M., Dulawa J., Lewin-Kowalik J. Low Concentration of BDNF in the Acute Phase of Ischemic Stroke as a Factor in Poor Prognosis in Terms of Functional Status of Patients. *Medical science monitor: international journal of experimental and clinical research*. 2015; 21: 3900–3905. DOI: 10.12659/msm.895358
15. Li K., Jia J., Wang Z., Zhang S. Elevated Serum Levels of NSE and S-100 $\beta$  Correlate with Increased Risk of Acute Cerebral Infarction in Asian Populations. *Medical science monitor: international journal of experimental and clinical research*. 2015; 21: 1879–1888. DOI: 10.12659/msm.893615
16. Onatsu J., Vanninen R., Jäkälä P., Mustonen P., Pulkki K., Korhonen M., Hedman M., Höglund K., Blennow K., Zetterberg H., Herukka S.K., Taina M. Tau, S100B and NSE as Blood Biomarkers in Acute Cerebrovascular Events. *In vivo (Athens, Greece)*: 2020; 34 (5): 2577–2586. DOI: 10.21873/invivo.12075
17. Haupt W.F., Chopan G., Sobesky J., Liu W.C., Dohmen C. Prognostic value of somatosensory evoked potentials, neuron-specific enolase, and S100 for short-term outcome in ischemic stroke. *Journal of neurophysiology*. 2016; 115 (3): 1273–1278. DOI: 10.1152/jn.01012.2015
18. Mitroshina E.V., Mishchenko T.A., Shirokova O.M., Astrakhanova T.A., Loginova M.M., Epifanova E.A., Babaev A.A., Tarabykin V.S., Vedunova M.V. Intracellular Neuroprotective Mechanisms in Neuron-Glial Networks Mediated by Glial Cell Line-Derived Neurotrophic Factor. *Oxidative medicine and cellular longevity*. 2019; 2019: 1036907. DOI: 10.1155/2019/1036907
19. Pöyhönen S., Er S., Domanskyi A., Airavaara M. Effects of Neurotrophic Factors in Glial Cells in the Central Nervous System: Expression and Properties in Neurodegeneration and Injury. *Frontiers in physiology*. 2019; 10: 486. DOI: 10.3389/fphys.2019.00486
20. Prodjohardjono A., Vidyanti A.N., Susianti N.A., Sudarmanta-Sutarni S., Setyopranoto I. Higher level of acute serum VEGF and larger infarct volume are more frequently associated with post-stroke cognitive impairment. *PloS one*. 2020; 15 (10): e0239370. DOI: 10.1371/journal.pone.0239370
21. Shim J.W., Madsen J.R. VEGF Signaling in Neurological Disorders. *International journal of molecular sciences*. 2018; 19 (1): 275. DOI: 10.3390/ijms19010275
22. Ren L., Wei C., Li K., Lu Z. LncRNA MALAT1 up-regulates VEGF-A and ANGPT2 to promote angiogenesis in brain microvascular endothelial cells against oxygen-glucose deprivation via targeting miR-145. *Bio-science reports*. 2019; 39 (3): BSR20180226. DOI: 10.1042/BSR20180226 (Retraction published Biosci Rep. 2020 Jul 31; 40 (7)).
23. Egervari K., Potter G., Guzman-Hernandez M.L., Salmon P., Soto-Ribeiro M., Kastberger B., Balla T., Wehrle-Haller B., Kiss J.Z. Astrocytes spatially restrict VEGF signaling by polarized secretion and incorporation of VEGF into the actively assembling extracellular matrix. *Glia*. 2016; 64 (3): 440–456. DOI: 10.1002/glia.22939
24. Matsuo R., Ago T., Kamouchi M., Kuroda J., Kuwashiro T., Hata J., Sugimori H., Fukuda K., Gotoh S., Makihara N., Fukuhara M., Awano H., Isomura T., Suzuki K., Yasaka M., Okada Y., Kiyohara Y., Kitazono T. Clinical significance of plasma VEGF value in ischemic stroke — research for biomarkers in ischemic stroke (REBIOS) study. *BMC neurology*. 2013; 13: 32. DOI: 10.1186/1471-2377-13-32
25. Wittko-Schneider I.M., Schneider F.T., Plate K.H. Brain homeostasis: VEGF receptor 1 and 2 — two unequal brothers in mind. *Cell Mol Life Sci*. 2013; 70 (10): 1705–1725. DOI: 10.1007/s00018-013-1279-3. PMID: PMC3632714
26. Marginean I.C., Stanca D.M., Vacaras V., Soritau O., Margiean M., Muresanu D.F. Plasmatic markers in hemorrhagic stroke. *Journal of medicine and life*. 2011; 4 (2): 148–150.
27. Miao Y., Liao J.K. Potential serum biomarkers in the pathophysiological processes of stroke. *Expert review of neurotherapeutics*. 2014; 14 (2): 173–185. DOI: 10.1586/14737175.2014.875471
28. Jickling G.C., Sharp F.R. Biomarker panels in ischemic stroke. *Stroke*. 2015; 46 (3): 915–920. DOI: 10.1161/STROKEAHA.114.005604
29. Simpkins A.N., Janowski M., Oz H.S., Roberts J., Bix G., Doré S., Stowe A.M. Biomarker Application for Precision Medicine in Stroke. *Translational stroke research*. 2020; 11 (4): 615–627. DOI: 10.1007/s12975-019-00762-3

Поступила 2021.05.21

Received 2021.05.21

## Вклад полиморфизма промоторной области гена *AGTR1* в течение и исход сепсиса у пациентов с различной коморбидностью

А. Г. Чумаченко, Е. К. Григорьев, В. М. Писарев\*

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

## Contribution of *AGTR1* Promoter Region Polymorphism to the Progression and Outcome of Sepsis in Patients with Various Comorbidities

Anastasia G. Chumachenko, Evgeniy K. Grigoriev, Vladimir M. Pisarev\*

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

**Для цитирования:** А. Г. Чумаченко, Е. К. Григорьев, В. М. Писарев. Вклад полиморфизма промоторной области гена *AGTR1* в течение и исход сепсиса у пациентов с различной коморбидностью. *Общая реаниматология*. 2021; 17 (5): 35–51. <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2021-5-35-51> [На русск. и англ.]

**For citation:** Anastasia G. Chumachenko, Evgeniy K. Grigoriev, Vladimir M. Pisarev. Contribution of *AGTR1* promoter region polymorphism to the progression and outcome of sepsis in patients with various comorbidities. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2021; 17 (5): 35–51. <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2021-5-35-51> [In Russ. and Engl.]

### Резюме

Значительный вклад в течение сепсиса и особенно септического шока вносят дисрегуляция артериального давления и развитие циркуляторной недостаточности. Одним из генов, влияющих на состояние эндотелия сосудистой стенки и тонуса артериол, является ген рецептора 1 к ангиотензину II (*AGTR1*). Однонуклеотидный полиморфизм *AGTR1* rs275651 ассоциирован с развитием стенокардии, отека легких в условиях высокогорья, гипертензии. Значение полиморфизма *AGTR1* rs275651 при сепсисе, в том числе — в группах пациентов в сочетании с выраженной коморбидностью, ранее исследовано не было.

**Цель исследования** — определение вклада функционального полиморфизма *AGTR1* в исход сепсиса у пациентов с различной коморбидностью, включая сердечно-сосудистые заболевания и сахарный диабет второго типа.

**Материалы и методы.** В проспективное исследование включили 144 пациента ОРИТ двух клинических больниц г. Москвы в возрасте 18–75 лет с клиническими признаками сепсиса (СЕПСИС-3, 2016).

**Результаты.** В группе пациентов с сердечно-сосудистой патологией носители генотипа ТТ *AGTR1* rs275651 характеризовались меньшим уровнем летальности по сравнению с носителями аллеля А (25 летальных исходов из 33 против 16 из 16, соответственно,  $p=0,041$ , ТМФ;  $p=0,0019$ , log rank тест). В группе пациентов с сахарным диабетом ( $n=62$ ), также обнаружили значимые различия в исходе сепсиса — в зависимости от варианта генотипа *AGTR1* rs275651. В подгруппе носителей генотипа ТТ *AGTR1* rs275651 выявили значимо меньшую летальность по сравнению с носителями генотипов ТА, АА (27 летальных исхода из 41 и 20 из 21 соответственно,  $p=0,012$ , ТМФ; OR=10,37; 95% CI: 1,26–85,5;  $p<0,0001$ , log rank тест).

**Заключение.** Выявили связь функционального полиморфизма *AGTR1* -777 Т>А (rs275651) с исходом сепсиса у пациентов ОРИТ с высоким уровнем исходной коморбидности: у носителей более распространенного генотипа ТТ летальность ниже по сравнению с носителями минорной аллели А.

**Ключевые слова:** сепсис; септический шок; генетический полиморфизм; *AGTR1*; ген рецептора ангиотензина II; сахарный диабет; коморбидность

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### Summary

Blood pressure dysregulation and circulatory failure are major contributors to the progression of sepsis and especially septic shock. One of the genes affecting the vascular endothelium and arteriolar tone is the an-

Адрес для корреспонденции:

\*Владимир Митрофанович Писарев  
E-mail: [vpisarev@gmail.com](mailto:vpisarev@gmail.com)

Correspondence to:

\*Vladimir M. Pisarev  
E-mail: [vpisarev@gmail.com](mailto:vpisarev@gmail.com)

giotensin II receptor 1 gene (*AGTR1*). The *AGTR1* rs275651 single-nucleotide polymorphism is associated with the development of angina, high altitude pulmonary edema, and hypertension. The significance of the *AGTR1* rs275651 polymorphism in sepsis, particularly in patients with significant comorbidity, has not been studied previously.

**The aim of the study** was to determine the impact of *AGTR1* functional polymorphism on sepsis outcome in patients with various comorbidities, including cardiovascular disease and type 2 diabetes mellitus.

**Material and methods.** A prospective study included 144 ICU patients of two clinical hospitals in Moscow, aged 18-75 years with clinical signs of sepsis (Sepsis-3, 2016).

**Results.** In the group of patients with cardiovascular diseases, carriers of the TT *AGTR1* rs275651 genotype had a lower mortality rate compared with carriers of the A allele (25 deaths out of 33 versus 16 out of 16, respectively,  $P=0.041$ , Fisher's exact test;  $P=0.0019$ , log-rank test). In the group of patients with diabetes mellitus ( $n=62$ ), we also found significant differences in sepsis outcome based on the *AGTR1* rs275651 genotype variant. The subgroup of TT *AGTR1* rs275651 genotype carriers demonstrated significantly lower mortality compared with TA, AA genotypes carriers (27 deaths out of 41 and 20 out of 21, respectively,  $P=0.012$ , Fisher's exact test; OR=10.37; 95% CI: 1.26 to 85.5;  $P<0.0001$ , log-rank test).

**Conclusion.** We found an association of the functional polymorphism *AGTR1* -777 T>A (rs275651) with sepsis outcome in ICU patients with high-value baseline comorbidity: carriers of the more common TT genotype had lower mortality compared to carriers of the minor A allele.

**Keywords:** sepsis; septic shock; genetic polymorphism; *AGTR1*; angiotensin II receptor gene; diabetes mellitus; comorbidity

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

DOI:10.15360/1813-9779-2021-5-35-51

## Введение

Сепсис является наиболее распространенной причиной летальности в отделениях реаниматологии и интенсивной терапии (ОРИТ) в любой развитой стране мира. За последние годы были охарактеризованы разнообразные клеточные и молекулярные механизмы сепсиса [1], обоснована целесообразность подходов к персонализированной медицине критических состояний [2], в том числе при сепсисе — с учетом генетической вариабельности пациентов [2–5]. Значительный вклад в течение сепсиса (СЕПСИС-3, 2016) и особенно септического шока (СШ) вносят нарушения эндотелия сосудов и дисрегуляция артериального давления с последующим развитием циркуляторной недостаточности (ЦН) и нарушением перфузии тканей. ЦН является одним из главных симптомов шока и приводит к повреждению органов с образованием полиорганной недостаточности. Развитие ЦН происходит вследствие несоответствия между объемом циркулирующей крови и емкостью сосудистого русла. При сепсисе под воздействием бактериальных эндотоксинов, провоспалительных эндогенных медиаторов и продуктов активированных гранулоцитов, адгезирующихся на поверхности эндотелия, происходит расширение стенок мелких сосудов, развитие гипотензии и снижение тканевого перфузионного давления, вследствие чего кровоснабжение тканей становится недостаточным, развиваются гипоксия тканей и органная недостаточность. Этому способствуют снижение сократительной способ-

## Introduction

Sepsis is the most common cause of mortality in intensive care units (ICUs) in any developed country of the world. In recent years, a variety of cellular and molecular mechanisms of sepsis have been characterized [1] and the feasibility of approaches to personalized critical care medicine [2] based on genetic variability in sepsis was shown [2–5]. Endothelial dysfunction and blood pressure dysregulation with resulting circulatory failure (CF) and impaired tissue perfusion contribute significantly to the progression of sepsis (Sepsis-3, 2016) and especially septic shock. Circulatory failure is one of the main presentations of shock and leads to organ damage with the development of multiple organ failure. Circulatory failure results from a mismatch between the volume of circulating blood and vascular bed capacity. In sepsis, bacterial endotoxins, proinflammatory endogenous mediators and products of activated granulocytes adhering to the endothelial surface cause dilatation of small vascular walls, hypotension and low tissue perfusion pressure, which leads to inadequate blood supply to tissues, tissue hypoxia and organ failure. This is promoted by reduced myocardial contractility and volumetric blood flow rate in the microcirculatory system during shock development [6].

Sepsis development also depends on the polymorphism of genes controlling the processes that are pathogenetically significant for critical conditions [2–7]. Vascular damage in chronic diseases and conditions (diabetes mellitus, hypertension, increased body weight, metabolic syndrome) significantly impairs the compensatory reactions of the body. This can reduce the effectiveness of treatment, slow down the recovery, and lead to the

ности миокарда и объемной скорости кровотока в микроциркуляторном русле при развитии шока [6].

Развитие сепсиса зависит и от полиморфизма генов, контролирующих процессы, патогенетически значимые для критических состояний [2–7]. Поражение сосудов при хронических заболеваниях и патологических состояниях (сахарный диабет, гипертензии, увеличенная масса тела, метаболический синдром) обуславливает значительное снижение компенсаторных реакций организма. Это может снижать эффективность лечения, замедлять процесс выздоровления, приводить к переходу острого критического состояния в хроническое. Исследование генетических факторов, ассоциированных с поражением сосудов при критических состояниях, остается привлекательной, но еще недостаточно исследованной областью генетики критических состояний.

Одним из генов, влияющих на состояние сосудистой стенки, эндотелий и тонус артериол, является ген рецептора 1 ангиотензина II (*AGTR1*). Полиморфизм этого гена вносит значительный вклад в структуру заболеваемости гипертонией и хронической болезнью почек [8, 9]. Повышенная экспрессия *AGTR1* связана с гипертрофией сердца и атеросклерозом [10]. Однонуклеотидный полиморфизм *AGTR1* rs275651 ассоциирован с развитием стенокардии, отека легких в условиях высокогорья, гипертонии [11–13]. Наиболее распространенный гаплотип I TTAA в промоторной части гена — T (rs275651) — T (rs275652) — A(rs422858) — A (rs275653) — ассоциирован в европеоидной популяции с увеличением активности промотора гена и развитием гипертонии [14]. Исследования с использованием трансгенных мышей показали, что для гаплотипа I характерна увеличенная способность промоторной области гена связывать транскрипционный фактор USF2 [15]. Показано, что именно USF2 обеспечивает изменение активности промотора *AGTR1* с последующим увеличением окислительного стресса и повышением периферического давления [15]. Эксперименты с использованием крыс продемонстрировали, что при сепсисе экспрессия *AGTR1* снижается во всех органах, приводя к уменьшению реакции сердечно-сосудистой системы на ангиотензин II и способствуя тем самым развитию септического шока [16]. Однако клинических исследований, посвященных связи функционального полиморфизма *AGTR1*, сепсиса и нарушений со стороны сердечно-сосудистой системы, не проводили.

transformation of an acute critical illness into a chronic one. The study of genetic factors associated with vascular damage in critical conditions remains an attractive, but underexplored area of genetics of critical illness.

One of the genes affecting the vascular wall, endothelium and arteriolar tone is the angiotensin II receptor 1 gene (*AGTR1*). The polymorphism of this gene contributes significantly to the development of hypertension and chronic kidney disease [8, 9]. Increased *AGTR1* expression is associated with cardiac hypertrophy and atherosclerosis [10]. *AGTR1* rs275651 single-nucleotide polymorphism associates with the development of angina, high altitude pulmonary edema, and hypertension [11–13]. The most common haplotype I TTAA in the promoter region of the gene, T (rs275651) — T (rs275652) — A(rs422858) — A (rs275653), is linked to increased gene promoter activity and development of hypertension in the Caucasian population [14]. Studies using transgenic mice showed that haplotype I is characterized by an increased ability of the promoter region of the gene to bind the USF2 transcription factor [15]. USF2 has been shown to promote a change in *AGTR1* promoter activity followed by an increase in oxidative stress and peripheral pressure [15]. Experiments using rats have demonstrated that in sepsis *AGTR1* expression is reduced in all organs, leading to a blunted cardiovascular response to angiotensin II and thus contributing to septic shock [16]. However, there have been no clinical studies on the association of functional polymorphism of *AGTR1*, sepsis and cardiovascular disorders.

The interest of researchers has also been attracted to the 3'-region, the opposite one of the *AGTR1* gene. *AGTR1* A1166C (rs5186) single-nucleotide polymorphism, located in the 3'-region of the gene, has been known to contribute to the development of diabetic nephropathy [17, 18]. The C allele of *AGTR1* A1166C rs5186 has been shown to protect against adverse outcome in nosocomial pneumonia [19]. There is a linkage disequilibrium between this allele and two other alleles as part of the GCC haplotype constituted by the G rs1492078, C rs5186, and C rs380400 alleles [20]. Interestingly, the alternative A allele of *AGTR1* rs5186 determines the high risk of mortality for type 2 diabetic patients on dialysis [21]. However, the association of diabetes, mortality, and the 3'-region or 5'-region polymorphism of the *AGTR1* gene in sepsis has not been investigated. The aim of our study was to determine the contribution of the functional polymorphism *AGTR1* rs275651 within the haplotype 5'-region of the *AGTR1* gene to the progression and outcome of sepsis in patients with multiple comorbidities, including cardiovascular disease and type 2 diabetes mellitus.

Таблица 1. Демографические показатели, заболеваемость и коморбидность пациентов ОРТ.

| Параметры  | ОРТ 1, n (%) | ОРТ 2, n (%) | $P_{1-2}^{**}$ | Все пациенты, n (%) |
|--|--------------|--------------|----------------|---------------------|
| Мужчины, n (%)   | 28 (49%)     | 54 (62%)     | 0,173          | 82 (57%)            |
| Женщины, n (%)   | 29 (51%)     | 33 (38%)     |                | 62 (43%)            |
| Возраст, M (IQR)   | 50,6 (45–69) | 56,8 (51–68) | 0,746          | 54,3 (50–68)        |
| Оценка по шкале SOFA при поступлении, M (IQR)  | 6,3 (5–7)    | 6,0 (3–9)    | 0,982          | 6,1 (4–8)           |
| Перитонит, n (%)   | 3 (5%)       | 10 (11%)     | 0,328          | 13 (9%)             |
| Внебольничная пневмония, n (%)   | —            | 19 (23%)     | <0,001         | 19 (14%)            |
| Сердечно-сосудистые заболевания, n (%)   | 15 (26%)     | 18 (21%)     | 0,560          | 33 (23%)            |
| Панкреатит, панкреонекроз, n (%)   | 3 (5%)       | 6 (7%)       | 0,965          | 9 (6%)              |
| Почечная недостаточность, пиелонефрит, почечно-каменная болезнь, атипичный гемолитико-уремический синдром, n (%) | 23 (41%)     | 10 (11%)     | <0,001         | 33 (23%)            |
| Травмы, n (%)  | 2 (4%)       | 10 (11%)     | 0,165          | 12 (9%)             |
| Флегмона, n (%)  | 3 (5%)       | 5 (6%)       | 0,804          | 8 (5%)              |
| Абсцесс, n (%)   | 4 (7%)       | 5 (6%)       | 0,965          | 9 (6%)              |
| Опухоли, n (%)   | 1 (2%)       | 2 (2%)       | 0,709          | 3 (2%)              |
| Эндокардит, n (%)  | 3 (5%)       | —            | 0,117          | 3 (2%)              |
| Другое*, n (%)   | —            | 2 (2%)       | 0,671          | 2 (1%)              |
| Оперированные, n (%)   | 34 (60%)     | 51 (59%)     | 0,960          | 85 (59%)            |
| Сахарный диабет, n (%)   | 26 (46%)     | 36 (41%)     | 0,742          | 62 (43%)            |
| Септической шок, n (%)   | 37 (65%)     | 59 (68%)     | 0,857          | 96 (67%)            |
| Значение индекса коморбидности Charlson, M (IQR)   | 5,9 (5–8)    | 5,7 (3–8)    | 0,460          | 5,8 (3–8)           |
| Оценка по шкале Cirs, M (IQR)  | 21,3 (18–26) | 20,1 (15–26) | 0,326          | 20,7 (16–26)        |
| Оценка по шкале Cirs сердце, M (IQR)   | 2,1 (1–3)    | 1,9 (1–3)    | 0,174          | 2,0 (1–3)           |
| Оценка по шкале Cirs сосуды, M (IQR)   | 2,0 (2–3)    | 1,7 (1–2)    | 0,115          | 1,8 (1–3)           |
| Оценка по шкале Cirs кровь, M (IQR)  | 1,6 (1–2)    | 1,1 (0–2)    | 0,002          | 1,3 (0–2)           |
| Оценка по шкале Cirs легкие, M (IQR)   | 1,2 (0–2)    | 1,3 (0–2)    | 0,811          | 1,3 (0–2)           |
| Оценка по шкале Cirs органы чувств, M (IQR)  | 1,0 (0–2)    | 1,1 (0–2)    | 0,423          | 1,0 (0–2)           |
| Оценка по шкале Cirs желудочно-кишечный тракт до тощей кишки, M (IQR)  | 1,3 (1–2)    | 1,4 (1–2)    | 0,499          | 1,4 (1–2)           |
| Оценка по шкале Cirs желудочно-кишечный от тощей кишки, M (IQR)  | 0,9 (0–2)    | 0,9 (0–1)    | 0,827          | 0,9 (0–2)           |
| Оценка по шкале Cirs печень, M (IQR)   | 1,1 (0–2)    | 1,2 (0–2)    | 0,417          | 1,2 (0–2)           |
| Оценка по шкале Cirs, почки, M (IQR)   | 2,7 (2–4)    | 2,0 (1–3)    | 0,003          | 2,3 (1–3)           |
| Оценка по шкале Cirs, мочеполовая система, M (IQR)   | 1,6 (1–2)    | 1,4 (0–2)    | 0,520          | 1,5 (1–2)           |
| Оценка по шкале Cirs, опорно-двигательный аппарат и кожа, M (IQR)  | 1,6 (0–3)    | 1,3 (0–2)    | 0,370          | 1,4 (0–3)           |
| Оценка по шкале Cirs, нервная система, M (IQR)   | 1,3 (0–2)    | 1,5 (1–2)    | 0,212          | 1,4 (0–2)           |
| Оценка по шкале Cirs, эндокринная система, M (IQR)   | 2,2 (1–4)    | 2,1 (0–4)    | 0,677          | 2,1 (1–4)           |
| Оценка по шкале, Cirs психика, M (IQR)   | 0,8 (0–2)    | 1,2 (0–2)    | 0,139          | 1,1 (0–2)           |
| Всего, n   | 57           | 87           |                | 144                 |

**Примечание.** \* — синдром Иценко–Кушинга, язва желудка. Для табл. 1, 2: n — число пациентов; M — медианное значение; IQR — межквартильный размах; \*\* — значения  $p$ , рассчитанные по критерию Манна–Уитни.

Внимание исследователей было привлечено и к другой — противоположной — области гена *AGTR1* — 3'-области. Известны данные о вкладе однонуклеотидной замены *AGTR1* A1166C (rs5186), расположенной в 3'-области гена, в развитии диабетической нефропатии [17, 18]. Показано, что аллель *C AGTR1* A1166C rs5186 защищает от неблагоприятного исхода при нозокомиальной пневмонии [19]. Данный аллель неравновесно сцеплен с двумя другими аллелями, входя в гаплотип GCC, который образуют аллели G rs1492078, C rs5186 и C rs380400 [20]. Интересно, что альтернативный аллель A *AGTR1* rs5186 определяет высокий риск летального исхода для пациентов с диабетом второго типа, находящихся на диализе [21]. Однако, связь диабета, летальности и полиморфизма 3'-области или 5'-области гена *AGTR1* при сепсисе не исследовали. Цель работы — определение вклада функционального поли-

## Materials and Methods

An uncontrolled noncomparative sampling study was conducted. Mortality was the primary endpoint; the incidence of septic shock and SOFA scores were the secondary endpoints.

According to preliminary data, the mortality rate in sepsis in the cohort of patients with multiple comorbidities was about 90 percent which served as the basis for calculating the sample size. According to the formula for sample size calculation  $n=(t^2 \cdot P \cdot Q) / \Delta^2$  [22, 23], where  $t$  is the critical value of Student test (at 0.05 significance level it equals 1.96),  $\Delta$  is the marginal error (5%),  $P$  is the proportion of cases in which the studied parameter occurred (90),  $Q$  is the proportion of cases in which the studied parameter did not occur (10), the total number of patients ( $n$ ) was 138. The study included ICU patients ( $n=144$ ) from two clinical hospitals in Moscow aged 18–75 years with clinical signs of sepsis (Sepsis-3, 2016, Table 1).

As shown in the table 1, median scores on the Charlson and CIRS comorbidity scales were 5.8 and

**Table 1. Demographic parameters, morbidity and comorbidity of ICU patients.**

| Parameter  | ICU 1, n (%) | ICU 2, n (%) | $P_{1-2}$ value** | All patients, n (%) |
|--|--------------|--------------|-------------------|---------------------|
| Men, n (%)   | 28 (49%)     | 54 (62 %)    | 0.173             | 82 (57%)            |
| Women, n (%)   | 29 (51%)     | 33 (38 %)    |                   | 62 (43 %)           |
| Age, M (IQR)   | 50.6 (45–69) | 56.8 (51–68) | 0.746             | 54.3 (50–68)        |
| SOFA score on admission, M (IQR)   | 6.3 (5–7)    | 6.0 (3–9)    | 0.982             | 6.1 (4–8)           |
| Peritonitis, n (%)   | 3 (5%)       | 10 (11%)     | 0.328             | 13 (9%)             |
| Nosocomial pneumonia, n (%)  | —            | 19 (23%)     | <0.001            | 19 (14%)            |
| Cardiovascular disease, n (%)  | 15 (26%)     | 18 (21%)     | 0.560             | 33 (23%)            |
| Pancreatitis, pancreatic necrosis, n (%)   | 3 (5%)       | 6 (7%)       | 0.965             | 9 (6%)              |
| Renal failure, pyelonephritis, renal stones, atypical hemolytic uremic syndrome, n (%) | 23 (41%)     | 10 (11%)     | <0.001            | 33 (23%)            |
| Trauma, n (%)  | 2 (4%)       | 10 (11%)     | 0.165             | 12 (9%)             |
| Cellulitis, n (%)  | 3 (5%)       | 5 (6%)       | 0.804             | 8 (5%)              |
| Abscess, n (%)   | 4 (7%)       | 5 (6%)       | 0.965             | 9(6%)               |
| Neoplastic disease, n (%)  | 1 (2%)       | 2 (2%)       | 0.709             | 3 (2%)              |
| Endocarditis, n (%)  | 3 (5%)       | —            | 0.117             | 3 (2%)              |
| Other*, n (%)  | —            | 2 (2%)       | 0.671             | 2 (1%)              |
| Underwent surgery, n (%)   | 34 (60%)     | 51 (59%)     | 0.960             | 85 (59%)            |
| Diabetes mellitus, n (%)   | 26 (46%)     | 36 (41%)     | 0.742             | 62 (43%)            |
| Septic shock, n (%)  | 37 (65%)     | 59 (68%)     | 0.857             | 96 (67%)            |
| Charlson comorbidity index, M (IQR)  | 5.9 (5–8)    | 5.7 (3–8)    | 0.460             | 5.8 (3–8)           |
| CIRS score, M (IQR)  | 21.3 (18–26) | 20.1 (15–26) | 0.326             | 20.7 (16–26)        |
| CIRS Heart score, M (IQR)  | 2.1 (1–3)    | 1.9 (1–3)    | 0.174             | 2.0 (1–3)           |
| CIRS Vascular score, M (IQR)   | 2.0 (2–3)    | 1.7 (1–2)    | 0.115             | 1.8 (1–3)           |
| CIRS Hematopoietic score, M (IQR)  | 1.6 (1–2)    | 1.1 (0–2)    | 0.002             | 1.3 (0–2)           |
| CIRS Respiratory score, M (IQR)  | 1.2 (0–2)    | 1.3 (0–2)    | 0.811             | 1.3 (0–2)           |
| CIRS Eyes, ears, nose, throat, and larynx score, M (IQR)                               | 1.0 (0–2)    | 1.1 (0–2)    | 0.423             | 1.0 (0–2)           |
| CIRS Upper GI score, M (IQR)   | 1.3 (1–2)    | 1.4 (1–2)    | 0.499             | 1.4 (1–2)           |
| CIRS Lower GI score, M (IQR)   | 0.9 (0–2)    | 0.9 (0–1)    | 0.827             | 0.9 (0–2)           |
| CIRS Liver, pancreas, and biliary score, M (IQR)                                       | 1.1 (0–2)    | 1.2 (0–2)    | 0.417             | 1.2 (0–2)           |
| CIRS Renal score, M (IQR)  | 2.7 (2–4)    | 2.0 (1–3)    | 0.003             | 2.3 (1–3)           |
| CIRS Genitourinary, M (IQR)  | 1.6 (1–2)    | 1.4 (0–2)    | 0.520             | 1.5 (1–2)           |
| CIRS Musculoskeletal and skin, M (IQR)   | 1.6 (0–3)    | 1.3 (0–2)    | 0.370             | 1.4 (0–3)           |
| CIRS Neurologic score, M (IQR)   | 1.3 (0–2)    | 1.5 (1–2)    | 0.212             | 1.4 (0–2)           |
| CIRS Endocrine and breast score, M (IQR)   | 2.2 (1–4)    | 2.1 (0–4)    | 0.677             | 2.1 (1–4)           |
| CIRS Psychiatric illness score, M (IQR)  | 0.8 (0–2)    | 1.2 (0–2)    | 0.139             | 1.1 (0–2)           |
| Total, n   | 57           | 87           |                   | 144                 |

**Note.** \* — Cushing syndrome, gastric peptic ulcer. For Table 1, 2:  $n$  — the number of patients; M — median; IQR — interquartile range; GI — Gastrointestinal tract; \*\* —  $P$  values calculated using the Mann–Whitney test.

морфизма *AGTR1* rs275651 в составе гаплотипа 5'-области гена *AGTR1* в течение и исход сепсиса у пациентов с высокой коморбидностью, включая сердечно-сосудистые заболевания и сахарный диабет второго типа.

## Материал и методы

Провели закрытое неконтролируемое несравнительное выборочное исследование. Первичной конечной точкой являлась летальность, вторичными конечными точками были частота развития септического шока, оценки по шкале SOFA.

По предварительным данным летальность при сепсисе в когорте больных с высокой коморбидностью составила примерно 90 процентов, на основании этого был рассчитан размер выборки. По формуле для расчета размера выборки  $n = (t^2 * P * Q) / \Delta^2$  [22, 23], где  $t$  — критическое значения критерия Стьюдента (при уровне значимости 0,05 составляет 1,96),  $\Delta$  — предельно допустимая ошибка (5%),  $P$  — доля случая, в которых встречался изучаемый признак (90),  $Q$  — доля случаев, в которых не встречался изучаемый признак (10), общее количество пациентов ( $n$ ) составило 138. В исследование включили пациентов ОРИТ ( $n=144$ ) двух кли-

20.7, respectively, indicating multiple comorbidities in the entire cohort studied. Patients from the two ICUs did not differ on most parameters. Some differences in the CIRS Hematopoietic and CIRS Renal scores were due to the higher number of patients with impaired renal function in the ICU 1 due to the presence of a nephrology tertiary care center in the hospital where the ICU 1 was based.

On admission, 49 patients had cardiovascular disorders scored 3 or 4 on the CIRS scale, and 62 patients were diagnosed with type 2 diabetes mellitus (Table 2). The groups of patients with diabetes and cardiovascular disease predictably differed from patients without these comorbidities in age, Charlson scores and CIRS Heart, Vascular, Respiratory, Eyes, ears, nose, throat, and larynx, Renal, Musculoskeletal and skin, Neurologic, and Endocrine and breast scores. However, SOFA scores did not differ between these patient groups on admission.

The *AGTR1* rs275651 allelic variants were determined by tetraprimer polymerase chain reaction followed by electrophoretic separation and identification of stained products in a gel. The following primers were selected and synthesized at Eurogen LLC using the Primer-BLAST software (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/>):

**Таблица 2. Демографические показатели и коморбидность пациентов ОРИТ с диабетом, тяжелой сердечно-сосудистой патологией, и без диабета и сердечно-сосудистой патологии.**

| Параметры   | Пациенты       |   |                                      | <i>p</i>                           |
|---|----------------|---|--------------------------------------|------------------------------------|
|   | с диабетом (1) | без диабета и сердечно-сосудистой патологии (2) | с сердечно-сосудистой патологией (3) |                                    |
| Мужчины, <i>n</i>                                     | 29 (48%)       | 35 (59%)  | 31 (63%)                             | $p_{1-2}=0,230$                    |
| Женщины, <i>n</i>                                     | 33 (52%)       | 24 (41%)  | 18 (37%)                             | $p_{2-3}=0,826$                    |
| Возраст, М (IQR)                                      | 62,8 (59–70)   | 50,8 (40–63)                                    | 60,5 (56–70)                         | $p_{1-2}<0,001$<br>$p_{2-3}<0,001$ |
| Оценка по шкале SOFA при поступлении, М (IQR)         | 6,7 (5–8)      | 6,1 (3–8)                                       | 6,9 (5–8)                            | $p_{1-2}=0,153$<br>$p_{2-3}=0,081$ |
| Индекс коморбидности Charlson, М (IQR)                | 8,0 (7–9)      | 3,4 (1–5)                                       | 7,6 (7–9)                            | $p_{1-2}<0,001$<br>$p_{2-3}<0,001$ |
| Cirs, М (IQR)   | 25,8 (23–30)   | 14,3 (7–22)                                     | 24,7 (22–28)                         | $p_{1-2}<0,001$<br>$p_{2-3}<0,001$ |
| Cirs сердце, М (IQR)                                  | 2,4 (2–3)      | 1,1 (0–2)                                       | 3,1 (3–3)                            | $p_{1-2}<0,001$<br>$p_{2-3}<0,001$ |
| Cirs сосуды, М (IQR)                                  | 2,3 (2–3)      | 1,2 (0–2)                                       | 2,4 (2–3)                            | $p_{1-2}<0,001$<br>$p_{2-3}<0,001$ |
| Cirs кровь, М (IQR)                                   | 1,7 (1–2)      | 0,9 (0–2)                                       | 1,6 (0–2)                            | $p_{1-2}<0,001$<br>$p_{2-3}=0,100$ |
| Cirs легкие, М (IQR)                                  | 1,5 (1–2)      | 0,9 (0–2)                                       | 1,4 (1–2)                            | $p_{1-2}=0,003$<br>$p_{2-3}=0,011$ |
| Cirs органы чувств, М (IQR)                           | 1,4 (1–2)      | 0,7 (0–1)                                       | 1,6 (1–2)                            | $p_{1-2}<0,001$<br>$p_{2-3}<0,001$ |
| Cirs желудочно-кишечный тракт до тощей кишки, М (IQR) | 1,4 (1–2)      | 1,3 (0–2)                                       | 1,8 (1–2)                            | $p_{1-2}=0,392$<br>$p_{2-3}=0,103$ |
| Cirs желудочно-кишечный от тощей кишки, М (IQR)       | 0,7 (0–1)      | 0,9 (0–2)                                       | 0,9 (0–2)                            | $p_{1-2}=0,957$<br>$p_{2-3}=0,603$ |
| Cirs печень, М (IQR)                                  | 1,3 (0–2)      | 0,9 (0–2)                                       | 1,7 (1–2)                            | $p_{1-2}=0,103$<br>$p_{2-3}=0,027$ |
| Cirs почки, М (IQR)                                   | 2,8 (2–4)      | 1,6 (1–2)                                       | 2,7 (2–3)                            | $p_{1-2}<0,001$<br>$p_{2-3}<0,001$ |
| Cirs мочеполовая система, М (IQR)                     | 1,7 (1–2)      | 1,2 (0–2)                                       | 1,7 (1–2)                            | $p_{1-2}=0,006$<br>$p_{2-3}=0,013$ |
| Cirs опорно-двигательный аппарат и кожа, М (IQR)      | 1,7 (1–2)      | 0,9 (0–2)                                       | 1,9 (1–2)                            | $p_{1-2}<0,001$<br>$p_{2-3}<0,001$ |
| Cirs нервная система, М (IQR)                         | 1,9 (1–3)      | 0,9 (0–2)                                       | 1,9 (1–2)                            | $p_{1-2}<0,001$<br>$p_{2-3}<0,001$ |
| Cirs эндокринная система, М (IQR)                     | 3,5 (3–4)      | 1,0 (0–2)                                       | 2,3 (2–3)                            | $p_{1-2}<0,001$<br>$p_{2-3}<0,001$ |
| Cirs психика, М (IQR)                                 | 1,4 (1–2)      | 0,8 (0–2)                                       | 1,2 (0–2)                            | $p_{1-2}=0,001$<br>$p_{2-3}=0,013$ |

нических больниц г. Москвы в возрасте 18–75 лет с клиническими признаками сепсиса (СЕПСИС-3, 2016, табл. 1).

Как видно из табл. 1, медианные значения оценки пациентов по шкалам коморбидности Charlson и Cirs составили 5,8 и 20,7 соответственно, что указывает на высокую коморбидность пациентов всей исследованной когорты. Пациенты из двух ОРИТ не различались по большинству параметров. Некоторые различия оценок по шкалам Cirs кровь и Cirs почки обусловлены большим поступлением пациентов с нарушением функций почек в ОРИТ 1 вследствие наличия нефрологического центра в ГКБ с ОРИТ 1.

При поступлении у 49 пациентов выявили нарушения сердечно-сосудистой системы, оцененные на 3 или 4 балла по шкале CIRS, у 62 пациентов диагностировали сахарный диабет второго типа (табл. 2). Группы пациентов с диабетом и сердечно-сосудистой патологией ожидаемо отличались от пациентов без данных коморбидностей по возрасту, индексу

1for 5`-GGACATGCTACCCAAGTTGC-3`  
2for 5`-CCAAAAATCAATTAATGTTA-3`  
1rev 5`-GCAATTGGCATATCCATCAC-3`  
2rev 5`-GTCACCCTACTCACCTATCA-3`.

Significance of differences between the groups was assessed using  $\chi^2$  test with Yates correction for sample continuity and Fisher's exact test (FET). Odds ratios (OR, odds ratios) and 95% confidence intervals (95% CI) were calculated to assess risks of sepsis mortality in patients with various genotypes. Normality of distribution was determined using the Kolmogorov–Smirnov test. Qualitative parameters were presented as absolute numbers with the percentages indicated. In non-normal distribution, Mann–Whitney *U*-test was used to evaluate differences between groups by calculating medians and interquartile range (IQR). The Kaplan–Meier procedure and log-rank test were used to identify differences in survival rate. Predictors of outcome were determined by logistic regression. Differences at  $P<0.05$  were considered significant. Statistical analysis was performed using MedCalc version 11.6 and SigmaStat version 3.5.

**Table 2. Demographic parameters and comorbidity of ICU patients with diabetes mellitus, severe cardiovascular disease, and without diabetes mellitus and cardiovascular disease.**

| Parameter  | Patients                   |  |                                 | P value                            |
|--|----------------------------|--|---------------------------------|------------------------------------|
|  | with diabetes mellitus (1) | without diabetes mellitus and cardiovascular disease (2) | with cardiovascular disease (3) |                                    |
| Men, <i>n</i>  | 29 (48%)                   | 35 (59%)   | 31 (63%)                        | $P_{1-2}=0.230$                    |
| Women, <i>n</i>  | 33 (52%)                   | 24 (41%)   | 18 (37%)                        | $P_{2-3}=0.826$                    |
| Age, M (IQR)   | 62.8 (59–70)               | 50.8 (40–63)   | 60.5 (56–70)                    | $P_{1-2}<0.001$<br>$P_{2-3}<0.001$ |
| SOFA score on admission, M (IQR)                         | 6.7 (5–8)                  | 6.1 (3–8)  | 6.9 (5–8)                       | $P_{1-2}=0.153$<br>$P_{2-3}=0.081$ |
| Charlson comorbidity index, M (IQR)                      | 8.0 (7–9)                  | 3.4 (1–5)  | 7.6 (7–9)                       | $P_{1-2}<0.001$<br>$P_{2-3}<0.001$ |
| CIRS score, M (IQR)                                      | 25.8 (23–30)               | 14.3 (7–22)  | 24.7 (22–28)                    | $P_{1-2}<0.001$<br>$P_{2-3}<0.001$ |
| CIRS Heart score, M (IQR)                                | 2.4 (2–3)                  | 1.1 (0–2)  | 3.1 (3–3)                       | $P_{1-2}<0.001$<br>$P_{2-3}<0.001$ |
| CIRS Vascular score, M (IQR)                             | 2.3 (2–3)                  | 1.2 (0–2)  | 2.4 (2–3)                       | $P_{1-2}<0.001$<br>$P_{2-3}<0.001$ |
| CIRS Hematopoietic score, M (IQR)                        | 1.7 (1–2)                  | 0.9 (0–2)  | 1.6 (0–2)                       | $P_{1-2}<0.001$<br>$P_{2-3}=0.100$ |
| CIRS Respiratory score, M (IQR)                          | 1.5 (1–2)                  | 0.9 (0–2)  | 1.4 (1–2)                       | $P_{1-2}=0.003$<br>$P_{2-3}=0.011$ |
| CIRS Eyes, ears, nose, throat, and larynx score, M (IQR) | 1.4 (1–2)                  | 0.7 (0–1)  | 1.6 (1–2)                       | $P_{1-2}<0.001$<br>$P_{2-3}<0.001$ |
| CIRS Upper GI score, M (IQR)                             | 1.4 (1–2)                  | 1.3 (0–2)  | 1.8 (1–2)                       | $P_{1-2}=0.392$<br>$P_{2-3}=0.103$ |
| CIRS Lower GI score, M (IQR)                             | 0.7 (0–1)                  | 0.9 (0–2)  | 0.9 (0–2)                       | $P_{1-2}=0.957$<br>$P_{2-3}=0.603$ |
| CIRS Liver, Pancreas, and biliary score, M (IQR)         | 1.3 (0–2)                  | 0.9 (0–2)  | 1.7 (1–2)                       | $P_{1-2}=0.103$<br>$P_{2-3}=0.027$ |
| CIRS Renal score, M (IQR)                                | 2.8 (2–4)                  | 1.6 (1–2)  | 2.7 (2–3)                       | $P_{1-2}<0.001$<br>$P_{2-3}<0.001$ |
| CIRS Genitourinary, M (IQR)                              | 1.7 (1–2)                  | 1.2 (0–2)  | 1.7 (1–2)                       | $P_{1-2}=0.006$<br>$P_{2-3}=0.013$ |
| CIRS Musculoskeletal and skin, M (IQR)                   | 1.7 (1–2)                  | 0.9 (0–2)  | 1.9 (1–2)                       | $P_{1-2}<0.001$<br>$P_{2-3}<0.001$ |
| CIRS Neurologic score, M (IQR)                           | 1.9 (1–3)                  | 0.9 (0–2)  | 1.9 (1–2)                       | $P_{1-2}<0.001$<br>$P_{2-3}<0.001$ |
| CIRS Endocrine and breast score, M (IQR)                 | 3.5 (3–4)                  | 1.0 (0–2)  | 2.3 (2–3)                       | $P_{1-2}<0.001$<br>$P_{2-3}<0.001$ |
| CIRS Psychiatric illness score, M (IQR)                  | 1.4 (1–2)                  | 0.8 (0–2)  | 1.2 (0–2)                       | $P_{1-2}=0.001$<br>$P_{2-3}=0.013$ |

Charlson и шкале Cirs, оценкам по шкале Cirs сердца, сосудов, легких, органов чувств, почек, опорно-двигательного аппарата, нервной системы и эндокринной системы. Однако оценки по шкале SOFA между данными группами пациентов при поступлении не различались.

Аллельные варианты *AGTR1* rs275651 определяли с помощью тетрапраймерной полимеразной цепной реакции с последующим электрофоретическим разделением и идентификацией окрашенных продуктов в геле. С помощью программы Primer — BLAST (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/>) были подобраны и синтезированы в ООО «Евроген» следующие праймеры:

1for 5`-GGACATGCTACCCAAGTTGC-3`  
 2for 5`-CCAAAAATCAATTAATGTTA-3`  
 1rev 5`-GCAATGGCATATCCATCAC-3`  
 2rev 5`-GTCACCCTACTCACSTATCA-3`.

Значимость различий между группами оценивали с использованием критерия  $\chi^2$  с поправкой Йейтса на непрерывность выборки и точного ме-

## Results and Discussion

The study found a strong association between increased comorbidity and mortality. Mortality among patients with CIRS comorbidity score of 1–10 ( $n=23$ ) was 26%, and with that of 11–35 ( $n=121$ ) — 72% ( $P=0.001$ ,  $\chi^2$ , Fig. 1, *a*). In the subgroup of patients with Charlson score of 1–4 ( $n=47$ ), 62% survived; in the subgroup with score values 5–15 ( $n=97$ ), 23% survived ( $P=0.001$ ,  $\chi^2$ , Fig. 1, *b*). Thus, in our patient cohort, comorbidity scores significantly predicted outcome.

Logistic regression was used to analyze the relationship between survival rate and CIRS comorbidity score of patients in the first two days of admission to the clinic (Table 3). The table shows that comorbidity contributes significantly to mortality in sepsis. In the studied cohort of severely comorbid patients in our sample, the CIRS comorbidity

**Таблица 3. Логистическая регрессия — анализ предикторов выживаемости при сепсисе.**  
**Table 3. Logistic regression analysis of predictors of survival in sepsis.**

| Parameter      | All patients   |            |        | Diabetes mellitus  |               |        | Without diabetes mellitus |             |       |
|----------------|--|------------|--------|--|---------------|--------|---------------------------|-------------|-------|
|                | OR   | 95% CI     | P      | OR   | 95% CI        | P      | OR                        | 95% CI      | P     |
| Age            | 0.99   | 0.95–1.03  | 0.658  | 0.983  | 0.90–1.06     | 0.585  | 0.99                      | 0.937–1.041 | 0.634 |
| Sex            | 1.10   | 0.48–2.47  | 0.826  | 1.1432   | 0.25–5.18     | 0.862  | 1.516                     | 0.50–4.58   | 0.461 |
| Charlson score | 1.09   | 0.8–1.36   | 0.425  | 1.17   | 0.013–1.100   | 0.452  | 1.15                      | 0.85–1.57   | 0.355 |
| CIRS score     | 1.13   | 1.04–1.23  | 0.005  | 1.23   | 0.98–1.54     | 0.071  | 1.126                     | 1.010–1.26  | 0.032 |
| SOFA score     | 1.04   | 0.91–1.2   | 0.561  | 0.92   | 0.712–1.19    | 0.862  | 1.10                      | 0.92–1.31   | 0.275 |
| Parameter      | Severe cardiovascular conditions                                     |            |        | Without severe cardiovascular conditions                       |               |        |                           |             |       |
|                | OR   | 95% CI     | P      | OR   | 95% CI        | P      |                           |             |       |
| Age            | 1.08   | 0.953–1.23 | 0.2589 | 0.9924   | 0.9398–1.0479 | 0.7831 |                           |             |       |
| Sex            | 0.003  | 0.0–0.82   | 0.0421 | 2.1471   | 0.9320–1.2653 | 0.1181 |                           |             |       |
| Charlson score | 1.2  | 0.68–2.10  | 0.5303 | 1.0148   | 0.7144–1.4415 | 0.9346 |                           |             |       |
| CIRS score     | 1.84   | 1.12–3.02  | 0.016  | 1.119  | 1.01–1.24     | 0.029  |                           |             |       |
| SOFA score     | 0.0  | 0.0–0.0    | 0.99   | 1.09   | 0.93–1.26     | 0.290  |                           |             |       |
| Parameter      | Pooled group: severe cardiovascular conditions and diabetes mellitus |            |        | Without severe cardiovascular conditions and diabetes mellitus |               |        |                           |             |       |
|                | OR   | 95% CI     | P      | OR   | 95% CI        | P      |                           |             |       |
| Age            | 0.97   | 0.91–1.04  | 0.425  | 1.01   | 0.94–1.08     | 0.801  |                           |             |       |
| Sex            | 0.36   | 0.099–1.3  | 0.118  | 3.19   | 0.94–10.81    | 0.062  |                           |             |       |
| Charlson score | 1.21   | 0.85–1.73  | 0.289  | 0.96   | 0.67–1.36     | 0.813  |                           |             |       |
| CIRS score     | 1.18   | 0.98–1.42  | 0.085  | 1.14   | 1.013–1.28    | 0.036  |                           |             |       |
| SOFA score     | 0.88   | 0.72–1.11  | 0.279  | 1.1532   | 0.95–1.4      | 0.145  |                           |             |       |

**Note.** OR — odds ratio; 95% CI — 95% confidence interval.

**Примечание.** All patients — все пациенты; diabetes mellitus — диабет; severe cardiovascular conditions — тяжелая сердечно-сосудистая патология; pooled group — объединенная группа; without — нет; age — возраст; sex — пол; score — баллы; OR — отношение шансов (odds ratio); 95% CI — 95-процентные доверительные интервалы.

тогда Фишера (ТМФ). Для оценки рисков летального исхода сепсиса у пациентов с различными генотипами рассчитывали отношения шансов (OR, odds ratio) и 95-процентные доверительные интервалы (95% CI). Соответствие значений нормальному распределению определяли с помощью критерия Колмогорова–Смирнова. Качественные признаки представляли в абсолютных числах с указанием долей %. В случае распределения значений, которое отличается от нормального, при сравнении различий между группами использовали *U*-критерий Манна–Уитни, рассчитывая медианы и межквартильный размах (IQR). Для выявления различий в выживаемости использовали процедуру Каплана–Меера и логарифмический ранговый критерий (Logrank test). Предикторы исхода выявляли посредством логистической регрессии. Значимыми считали различия при  $p < 0,05$ . Статистический анализ проводили с использованием программ MedCalc версия 11.6 и SigmaStat версия 3.5.

## Результаты и обсуждение

Исследование выявило выраженную ассоциацию между увеличением степени коморбидности и летальностью. Летальность среди пациентов с оценками по шкале коморбидности CIRS 1–10 ( $n=23$ ) составила 26 %, с оценками 11–35 ( $n=121$ ) — 72% ( $P=0,001$ ,  $\chi^2$ , рис. 1, *a*). В подгруппе пациентов с оценками индекса 1–4 по шкале Charlson ( $n=47$ ) выжили 62%, в подгруппе с оценками 5–15 ( $n=97$ ) выжили 23% ( $P=0,001$ ,  $\chi^2$ , рис. 1, *b*). Таким образом, в нашей когорте пациентов шкалы оценки коморбидности значимо прогнозировали исход.

score was highly informative for outcome prognosis. In the group of patients with severe cardiovascular conditions we found differences in survival depending on sex. Women survived more often in this subgroup. There were no differences in the sex distribution of patients with different *AGTR1* rs275651 genotypes.

Approximately half of our sample consisted of patients with type 2 diabetes mellitus (DM). We found that the mortality in patients with DM and sepsis was significantly higher than that of septic patients without diabetes (47 of 62 vs. 46 of 82, respectively,  $P=0.023$ ,  $\chi^2=5.165$ ,  $n=144$ , Fig. 1, *c*). The results confirmed the conclusion of other authors that comorbid diabetes contributes significantly to the adverse outcome of sepsis [24].

The study of the genetic variability of the entire cohort of patients studied revealed the following distribution of *AGTR1* rs275651 genotype frequencies: TT — 101 (70%), TA — 41 (28%), AA — 2 (2%), which corresponded to the Hardy-Weinberg law ( $P=0.338$ ,  $n=144$ ), and did not differ from the distribution in the group of apparently healthy donors in the Moscow population (TT — 76%, TA — 22%, AA — 2%,  $P=0.672$ ,  $n=141$ , Table 4).

Further analysis of a possible link between genotype and comorbidity according to the CIRS and Charlson scales revealed no differences in comorbidity between patients with different *AGTR1* rs275651 genotypes. Patients of various *AGTR1* rs275651 genotypes with sepsis did not differ in mortality as well (Fig. 2, *a*), but there was a trend toward less frequent septic shock development in

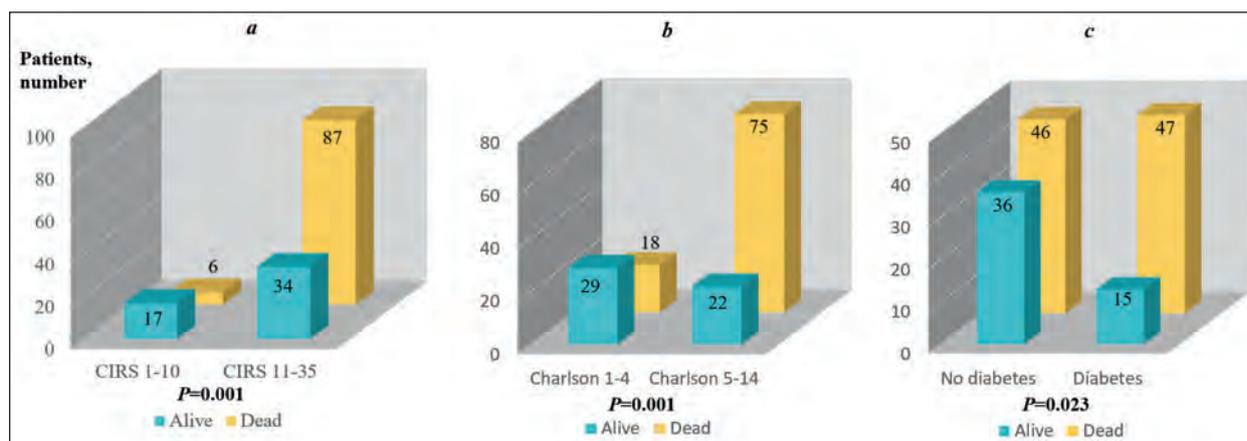


Рис. 1. Выживаемость пациентов ОРИТ с сепсисом и различным уровнем коморбидности.

Fig. 1. Survival rate of ICU patients with sepsis and various comorbidity scores.

Note. a — based on CIRS score,  $n=144$ ,  $P=0.001$ ,  $\chi^2$ . b — based on Charlson comorbidity index,  $P=0.001$ ,  $\chi^2$ . c — based on presence of diabetes mellitus,  $P=0.023$ ,  $\chi^2$ .

Примечание. a — в зависимости от оценки по шкале CIRS,  $n=144$ ,  $p=0,001$ ,  $\chi^2$ . b — в зависимости от оценки по шкале Charlson индекс,  $n=144$ ,  $\chi^2$ . c — в зависимости от наличия сахарного диабета,  $p=0,023$ ,  $\chi^2$ .

С помощью логистической регрессии анализировали связь выживаемости и оценки коморбидности пациентов по шкале Cirs в первые двое суток поступления в клинику (табл. 3). Из таблицы видно, что коморбидность вносит значительный вклад в летальность при сепсисе. В исследованной когорте высококоморбидных пациентов нашей выборки шкала оценки коморбидности Cirs оказалась высокоинформативна для прогноза исхода. В группе пациентов с тяжелой сердечно-сосудистой патологией обнаружили различие в выживаемости в зависимости от пола. В данной подгруппе чаще выживали женщины. Не было различий в распределении по полу пациентов с различными генотипами *AGTR1* rs275651.

Примерно половину нашей выборки составили пациенты с сахарным диабетом второго типа. Обнаружили, что летальность пациентов с диабетом и сепсисом была значимо выше, чем септических пациентов без диабета (47 случаев из 62 vs. 46 из 82, соответственно,  $P=0,023$ ,  $\chi^2=5,165$ ,  $n=144$ , рис. 1, c). Результаты подтвердили вывод других авторов о том, что наличие диабета вносит значительный вклад в неблагоприятный исход сепсиса [24].

Изучение генетической вариабельности всей когорты исследованных пациентов выявило следующее распределение частот генотипов *AGTR1* rs275651: TT — 101 (70%), TA — 41 (28%), AA — 2 (2%), что соответствовало закону Харди-Вайнберга ( $p=0,338$ ,  $n=144$ ), и не отличалось от распределения в группе условно-здоровых доноров московской популяции (TT — 76%, TA — 22%, AA — 2%,  $p=0,672$ ,  $n=141$ , табл. 4).

Дальнейший анализ возможной связи генотипа и коморбидности по шкалам комор-

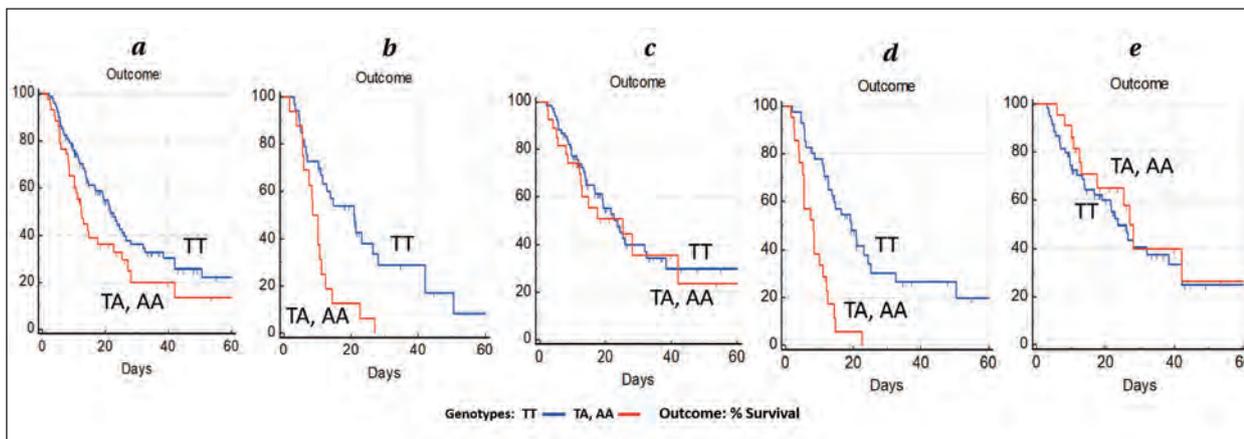
the *AGTR1* rs275651 TT genotype carriers ( $P=0.062$ , FET).

However, a separate analysis of the groups of patients with severe cardiovascular conditions ( $n=49$ ) and with type 2 DM ( $n=62$ ) revealed significant differences in the progression and outcome of sepsis based on the *AGTR1* rs275651 genetic variant. Thus, in the group of patients with cardiovascular disease (predominantly coronary heart disease), carriers of the TT *AGTR1* rs275651 genotype were characterized by a lower mortality rate compared with carriers of the TA, AA genotypes (25 deaths out of 33 and 16 out of 16, respectively,  $n=49$ ,  $P=0.041$ , FET;  $P=0.002$ , log-rank test, Fig. 2, b). Among the carriers of TA, AA variants in this group of patients, a higher incidence of septic shock was also noted (16 cases out of 16 vs. 24 cases out of 33;  $P=0.022$ , FET).

The groups of patients with cardiovascular conditions and DM overlapped significantly: 25 patients (17% of the total sample, half of patients with cardiovascular diseases) had both comorbidities. In the group of patients with type 2 DM ( $n=62$ ) the progression and outcome of sepsis associated with the *AGTR1* rs275651 genotype variant. Thus, differences in mortality and frequency of septic shock were found: carriers of the TT *AGTR1* rs275651 genotype were characterized by lower mortality compared with carriers of the TA, AA genotypes (27 deaths out of 41 and 20 out of 21, respectively,  $P=0.012$ , OR=10.37; 95% CI: 1.26 to 85.5, FET;  $P<0.0001$ , log-rank test, Fig.2d). Carriers of TA, AA variants developed septic shock more frequently (20 of 21 versus 26 of 41;  $P=0.006$ , OR=11.54; 95% CI: 1.40 to 94.84). SOFA scores in diabetic patients also differed depending on the *AGTR1* rs275651 genotype of the patients. While

**Таблица 4. Распределение частот генотипов среди условно-здоровых доноров и пациентов ОРИТ.**  
**Table 4. Distribution of genotype frequencies among apparently healthy donors and ICU patients.**

| Donors and patients       | AGTR1 TT  | AGTR1 TA | AGTR1 AA |
|---------------------------|-----------|----------|----------|
| Apparently healthy donors | 107 (76%) | 31 (22%) | 3 (2%)   |
| ICU patients              | 101 (70%) | 41 (28%) | 2 (2%)   |



**Рис. 2. Выживаемость септических пациентов ОРИТ с различными генотипами AGTR1 rs275651.**

**Fig. 2. Survival rate of ICU sepsis patients with various AGTR1 rs275651 genotypes.**

**Note.** a — all patients,  $n=144$ ,  $P=0.062$ ,  $\chi^2$ ;  $P=0.057$ , log-rank test. b — patients with severe cardiovascular diseases,  $n=49$ ,  $P=0.041$ , Fisher's exact test;  $P=0.002$ , log-rank test. c — patients without severe cardiovascular diseases,  $n=95$ ,  $P>0.05$ , Fisher's exact test;  $P=0.734$ , log-rank test. d — patients with diabetes mellitus,  $n=62$ ,  $P=0.012$ , OR=10.37 95% CI: 1.26–85.50, Fisher's exact test;  $P<0.0001$ , log-rank test. e — patients without diabetes mellitus,  $n=82$ ,  $P>0.05$ , Fisher's exact test;  $P=0.451$ , log-rank test.

**Примечание.** a — все пациенты,  $n=144$ ,  $p=0,062$ ,  $\chi^2$ ;  $p=0,057$ , log rank test. b — пациенты с тяжелой сердечно-сосудистой патологией,  $n=49$ ,  $p=0,041$ , точный метод Фишера;  $p=0,002$ , log rank test. c — пациенты без тяжелой сердечно-сосудистой патологии,  $n=95$ ,  $p>0,05$ , точный метод Фишера;  $p=0,734$ , log rank test. d — пациенты с сахарным диабетом,  $n=62$ ,  $p=0,012$ , OR=10,37 95% CI: 1,26–85,50, точный метод Фишера;  $p<0,0001$ , log rank test. e — пациенты без сахарного диабета,  $n=82$ ,  $p>0,05$ , точный метод Фишера;  $p=0,4508$ , log rank test.

бидности Cirs и Charlson не выявил различий по коморбидности между пациентами различных генотипов AGTR1 rs275651. Пациенты с сепсисом разных генотипов AGTR1 rs275651 не отличались и по летальности (рис.2 а), однако в группе носителей генотипа AGTR1 rs275651 TT отмечали тенденцию к снижению развития септического шока ( $p=0,062$ , ТМФ).

Однако, раздельный анализ групп пациентов с тяжелой сердечно-сосудистой патологией ( $n=49$ ) и с сахарным диабетом второго типа ( $n=62$ ) выявил значимые различия по течению и исходу сепсиса в зависимости от генетического варианта AGTR1 rs275651. Так, в группе пациентов с сердечно-сосудистой патологией (преимущественно с ишемической болезнью сердца) носители генотипа TT AGTR1 rs275651 характеризовались меньшим уровнем летальности по сравнению с носителями генотипов TA, AA (25 летальных исхода из 33 и 16 из 16, соответственно,  $n=49$ ,  $p=0,041$ , ТМФ;  $p=0,002$ , log rank test, рис. 2, b). Среди носителей вариантов TA, AA в этой группе пациентов отмечали и большую частоту развития СШ (16 случаев из 16 vs. 24 из 33;  $p=0,022$ , ТМФ).

Группы пациентов с сердечно-сосудистой патологией и сахарным диабетом значительно перекрывались: 25 пациентов (17% общей

no significant differences in the frequency of multiple organ failure were found on the first day, they were already significant on day 2 of ICU stay ( $P=0.004$ , Mann-Whitney  $U$ -criterion): median SOFA scale values were 9 (IQR 8.0 to 10.8) points for carriers of minor allele A and 7 (IQR 5.0 to 9.0) points for homozygous patients of TT AGTR1 rs275651 genotype. Genotype-specific differences on the SOFA scale were characteristic of patients on the «median» day of ICU stay ( $P=0.001$ , Mann-Whitney  $U$ -criterion) as well as with respect to the maximum multiple organ failure rate during the entire hospitalization period ( $P=0.039$ , Mann-Whitney  $U$ -criterion). At the same time, as seen in Fig. 2, c, e, no differences in the progression and outcome of sepsis were found between the groups of patients of different AGTR1 rs275651 genotypes without cardiovascular conditions ( $n=95$ ) and without diabetes mellitus ( $n=82$ ).

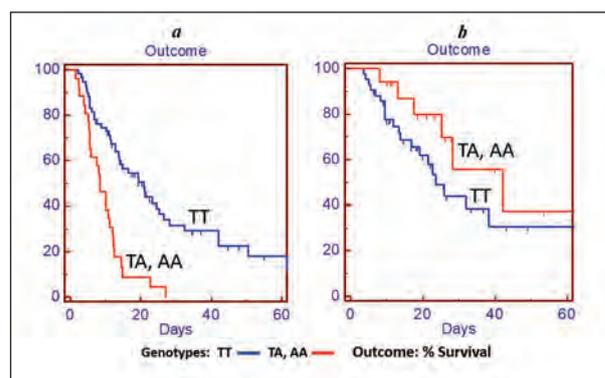
After pooling patients with severe cardiovascular disease and diabetes mellitus into one cohort of highly comorbid patients ( $n=85$ ), survival rate differences remained highly significant in relation to AGTR1 rs275651 genotype (Fig. 3, a). Thus, among carriers of the more common TT genotype, mortality was 69%; among carriers of the minor A allele, it was 96% ( $P=0.005$ , OR=10.97, 95% CI: 1.38 to 87.35, FET;  $P<0.0001$ , log-rank test).

выборки, половина пациентов с сердечно-сосудистой патологией) имели обе коморбидности. В группе пациентов с сахарным диабетом второго типа ( $n=62$ ) течение и исход сепсиса зависел от варианта генотипа *AGTR1* rs275651. Так, выявили различия по уровню летальности и частоте развития септического шока: для носителей генотипа ТТ *AGTR1* rs275651 была характерна меньшая летальность по сравнению с носителями генотипов ТА, АА (27 летальных исхода из 41 и 20 из 21 соответственно,  $p=0,012$ ,  $OR=10,37$ ; 95% CI: 1,26—85,5, ТМФ;  $p<0,0001$ , log rank тест, рис. 2, *d*). У носителей вариантов ТА, АА септический шок развивался чаще (20 случаев из 21 против 26 из 41;  $p=0,006$ ,  $OR=11,54$ ; 95% CI: 1,40–94,84). Оценки по шкале SOFA у пациентов с диабетом тоже различались в зависимости от генотипа *AGTR1* rs275651 пациентов. Если в первый день значимых различий по уровню полиорганной недостаточности не обнаружили, то уже на второй день пребывания в ОРИТ различия оказались значимы ( $p=0,004$ , *U*-критерий Манна–Уитни): медианные значения по шкале SOFA составили 9 (IQR 8,0–10,8) баллов для носителей минорной аллели А и 7 (IQR 5,0–9,0) баллов для гомозиготных пациентов генотипа ТТ *AGTR1* rs275651. Генотип-специфические различия по шкале SOFA были характерны для пациентов в «срединный» день пребывания в ОРИТ ( $p=0,001$ , *U*-критерий Манна–Уитни), а также в отношении максимального значения показателя полиорганной недостаточности за весь период госпитализации ( $p=0,039$ , *U*-критерий Манна–Уитни). При этом, как видно на рис. 2, *c*, *e*, между группами пациентов разных генотипов *AGTR1* rs275651 без сердечно-сосудистой патологии ( $n=95$ ) и без сахарного диабета ( $n=82$ ) различий в течении и исходе сепсиса не выявили.

При объединении пациентов с тяжелой сердечно-сосудистой патологией и сахарным диабетом в одну когорту высококоморбидных пациентов ( $n=85$ ) различия по выживаемости сохраняли высокую значимость в зависимости от генотипа *AGTR1* rs275651 (рис. 3, *a*). Так, среди носителей более распространенного генотипа ТТ летальность составила 69%, у носителей минорной аллели А — 96% ( $p=0,005$ ,  $OR=10,97$  95% CI: 1,38–87,35, ТМФ;  $p<0,0001$ , log rank тест).

Напротив, в когорте пациентов с меньшей коморбидностью — без сахарного диабета и выраженной сердечно-сосудистой патологии различия по выживаемости между группами пациентов, отличающихся по генотипу *AGTR1* rs275651 (ТТ против А+) отсутствовали ( $p>0,05$ ; рис. 3, *b*).

Представленные данные указывают на то, что коморбидность пациентов, обусловленная сахарным диабетом или выраженной патологи-



**Рис. 3. Выживаемость септических пациентов ОРИТ с различными генотипами *AGTR1* rs275651, без и с сопутствующей тяжелой коморбидностью.**

**Fig. 3. Survival rate of ICU sepsis patients with various *AGTR1* rs275651 genotypes, with and without severe comorbidities.**

**Note.** *a* — pooled group that include patients with severe cardiovascular diseases and patients with diabetes mellitus ( $n=85$ ,  $P=0,005$ ,  $OR=10,97$  95% CI: 1,379–87,347, Fisher's exact test;  $P<0,0001$ , log-rank test). *b* — patients without diabetes mellitus and severe cardiovascular diseases ( $n=59$ ,  $P>0,05$ , Fisher's exact test;  $P=0,191$ , log-rank test).

**Примечание.** *a* — когорта, объединяющая пациентов с сердечно-сосудистой патологией и сахарным диабетом ( $n=85$ ,  $p=0,005$ ,  $OR=10,97$  95% CI: 1,38–87,35, ТМФ;  $p<0,0001$ , log rank тест). *b* — пациенты без сахарного диабета и тяжелой сердечно-сосудистой патологии ( $n=59$ ,  $p>0,05$ , ТМФ;  $p=0,1914$ , log rank тест).

In contrast, in the cohort of patients with less comorbidities (without DM and significant cardiovascular conditions) there were no differences in survival between patient groups with different *AGTR1* rs275651 genotypes (ТТ versus А+) ( $P>0,05$ ; Fig. 3, *b*).

Our findings suggest that a comorbidity such as diabetes mellitus or advanced cardiovascular disease may be contributing factor to the *AGTR1*-associated predisposition to the adverse course of sepsis.

Sepsis and especially septic shock are accompanied by dramatic cardiovascular changes caused by abnormal reaction of the immune cells to the infection, involving components of microorganisms and products of activated immune cells (cytokine storm). Vascular damage, hypotension, reduced cardiac output, low perfusion lead to tissue hypoxia and multiple organ failure associated with septic shock.

In sepsis, the renin-angiotensin system is activated, apparently as one of the universal adaptive responses to stress. However, with a prolonged increase in gene expression, there may be exhaustion, resulting in a drop in Ang II level. Insufficient angiotensin production leads to maladaptation and an increased risk of profound hypotension. This has been the basis for attempts to treat patients with septic shock using a recombinant drug [25–27]. Recombinant Ang II administration

ей сердечно-сосудистой системы, может являться фактором, способствующим проявлению *AGTR1*-ассоциированной предрасположенности к неблагоприятному течению сепсиса.

Сепсис, и особенно его тяжелая форма — септический шок, сопровождается выраженными изменениями со стороны сердечно-сосудистой системы, вызванными патологической реакцией клеток иммунной системы на инфекцию, с участием компонентов микроорганизмов и продуктов активированных клеток иммунной системы (цитокиновый шторм). Поражения сосудов, развитие гипотензии, снижение сердечного выброса, гипоперфузия приводят к гипоксии тканей и развитию полиорганной недостаточности, сопровождающей септический шок.

При сепсисе активируется ренин-ангиотензиновая система — видимо, как одна из универсальных адаптивных реакций на стресс. Однако, при длительном увеличении экспрессии гена может происходить ее истощение, в результате которого содержание AngII падает. Развитие недостаточности продукции ангиотензина приводит к дисадаптации и увеличению риска развития глубокой гипотензии. На этом были основаны попытки клинического лечения пациентов с септическим шоком с помощью рекомбинантного препарата [25–27]. Введение рекомбинантного AngII было особенно успешным для быстрого восстановления пациентов с гипотензией и рекомендовано для лечения пациентов с катехоламин-резистентным дистрибутивным шоком [28]. Однако, даже расширенные исследования клинического применения AngII при шоке оставили нерешенными многие вопросы по клинической эффективности его применения. Такие вопросы возникли в связи с обнаруженными неблагоприятными эффектами препарата на легкие, головной мозг, микроциркуляцию, воспалительные реакции и увеличение риска тромбозов [29]. Это обусловило поиск патогенетически значимых биомаркеров для персонализации лечения септического шока AngII. В недавних исследованиях была продемонстрирована повышенная эффективность препарата при лечении пациентов с высоким содержанием ренина, который был определен как биомаркер-кандидат для персонализации применения рекомбинантного AngII [30].

Недостаточность эффективности AngII может иметь причину, связанную с уменьшением экспрессии *AGTR1* при сепсисе, вызванном действием нескольких провоспалительных цитокинов (цитокиновый шторм) и оксида азота (NO) [16]. Пониженные уровни экспрессии генов ренин-ангиотензиновой системы AngII и ACE при сепсисе были ассоциированы

has been particularly successful for the rapid recovery of hypotensive patients and has been recommended for the treatment of patients with catecholamine-resistant distributive shock [28]. However, even extended studies of the clinical use of Ang II in shock have left many unresolved issues regarding its clinical efficacy. These issues emerged when adverse effects of the drug on the lungs, brain, microcirculation, inflammatory reactions, and increased risk of thromboembolism were found [29]. This has prompted a search for pathogenetically relevant biomarkers to personalize the treatment of septic shock with Ang II. Recent studies have demonstrated increased efficacy of the drug in the treatment of patients with high renin levels, which has been identified as a candidate biomarker for the personalization of recombinant Ang II use [30].

Lack of Ang II efficacy may stem from decreased *AGTR1* expression in sepsis induced by several proinflammatory cytokines (cytokine storm) and nitric oxide (NO) [16]. Reduced expression levels of the Ang II and ACE renin-angiotensin system genes in sepsis have been associated with an unfavorable prognosis [31]. At the same time, there is evidence that *AGTR1* expression is reduced in sepsis, leading to impaired cardiovascular response to Ang II and contributing to the development of septic shock [16]. Ang II is a highly effective vasopressor administered in hypotension in patients with sepsis, particularly in septic shock, to stabilize blood pressure and reduce catecholamine demand [32]. Ang II administration in refractory septic shock was effective in increasing blood pressure and reducing norepinephrine demand [33]. One could logically assume that in sepsis (and especially in septic shock) the survival rate of patients with the genotype associated with increased expression of the receptor to Ang II, TT *AGTR1* -777 T>A rs275651, would be higher. We confirmed this hypothesis in the present study: both the incidence of life-threatening septic shock and mortality were significantly lower in patients with the most common TT *AGTR1* -777 T>A (rs275651) genotype. One might speculate that these patients might be genetically predisposed to the highest sensitivity to their own Ang II. However, additional administration of recombinant Ang II could be excessive in these patients and result in well-known complications associated with Ang II use. Further clinical studies will help establish the possible informative value of the *AGTR1* -777 T>A (rs275651) polymorphism appropriate for the personalized use of recombinant Ang II in distributive types of shock, including septic shock.

Sepsis is particularly dangerous for patients with comorbid conditions such as diabetes mellitus and cardiovascular disease. Hereditary predisposition to vascular disorders may increase the risk of lethal outcome. For example, *AGTR1* rs263936 and

с неблагоприятным прогнозом [31]. Вместе с тем, имеются данные о том, что при сепсисе снижается и экспрессия рецептора AngII — *AGTR1*, приводя к ухудшению реакции сердечно-сосудистой системы на AngII и способствуя развитию септического шока [16]. AngII является высокоэффективным вазопрессором, который используют при гипотензии у пациентов с сепсисом, особенно — при септическом шоке для стабилизации давления и снижения потребности в катехоламинах [32]. Введение AngII при рефрактерном септическом шоке позволяло эффективно повысить давление и снизить потребность в норадреналине [33]. Логично было предположить, что при сепсисе (и особенно — при септическом шоке) выживаемость пациентов с генотипом, ассоциированным с увеличенной экспрессией рецептора к AngII — ТТ *AGTR1* -777 Т>А rs275651 — будет выше. Эту гипотезу мы подтвердили в настоящем исследовании: и частота жизнеугрожающего СШ, и летальность были значительно ниже у пациентов наиболее распространенного генотипа ТТ *AGTR1* -777 Т>А (rs275651). Можно полагать, что именно такие пациенты будут генетически предрасположены к наибольшей реакции на собственный AngII. Не исключено, однако, что именно у таких пациентов дополнительное введение рекомбинантного препарата AngII может являться избыточным, и приведет к осложнениям, сопровождающим назначение AngII. Дальнейшие клинические исследования помогут установить, достаточно ли информативно определение полиморфизма *AGTR1* -777 Т>А (rs275651) для персонализированного использования рекомбинантного AngII при дистрибутивном шоке, включая септический шок.

Особенно опасен сепсис для пациентов с такими коморбидными патологиями, как сахарный диабет и сердечно-сосудистые заболевания. При этом наследственная предрасположенность к сосудистым нарушениям может повышать риск летального исхода. Так, однонуклеотидные замены *AGTR1* rs263936 и rs1492099 были ассоциированы с внезапной остановкой сердца [34]. Известно, что аллель С *AGTR1* A1166C rs5186 в 3' — области связана с увеличением риска ишемической болезни сердца и инфаркта миокарда. У носителей С-аллели rs5186 снижалось связывание микро-РНК miR-155 (которые подавляют экспрессию гена) в 3'-области гена, в результате чего возрастает синтез молекул *AGTR1* [35]. Аллель С rs5186 в составе гаплотипа GCC (G rs1492078, C rs5186, C rs380400) был ассоциирован с уменьшением систолического артериального давления при терапии кандесартаном. Альтернативный гаплотип AAC, наоборот, ассоциировался с уменьшением диастолического давления в ответ на такое же лечение [20].

rs1492099 single-nucleotide polymorphism have been associated with sudden cardiac death [34]. The C allele of *AGTR1* A1166C rs5186 in the 3'-region is associated with an increased risk of coronary heart disease and myocardial infarction. Carriers of the rs5186 C allele had reduced binding of miR-155 microRNAs (which suppress gene expression) in the 3'-region of the gene, resulting in increased synthesis of *AGTR1* molecules [35]. The C rs5186 allele within the GCC haplotype (G rs1492078, C rs5186, C rs380400) has been associated with decreased systolic blood pressure during candesartan therapy. In contrast, the alternative haplotype AAC was associated with decreased diastolic blood pressure in response to the same medication [20].

*AGTR1* polymorphism is involved in the development of diabetic nephropathy [17, 18, 36]. The mortality of type 2 diabetic patients on dialysis has been shown to depend on the *AGTR1* rs5186 genetic variability [21]. A synonymous substitution in the *AGTR1* rs5182 coding region participates in the development of hypertension in diabetes: patients with *AGTR1* rs5182 CC genotype had a higher risk of hypertension [37].

The above listed examples indicate the significance of the *AGTR1* genetic polymorphism in the severity of comorbid diseases in patients with sepsis and septic shock in our study. The T rs275651 allele is a part of haplotype I TTAA, which consists of 4 substitutions in the promoter 5'-region of the *AGTR1* gene including T rs275651, T rs275652, A rs422858, A rs275653. Interestingly, the *AGTR1* rs422858 and *AGTR1* rs275653 minor alleles were associated with longevity in the Italian population. In the Japanese population, the GG rs275653 A/G genotype was also associated with the life longevity; in addition, the centenarians with this genotype had lower blood pressure [38]. There is an evidence that the *AGTR1* rs275653 polymorphism is associated with the risk of small vessel stroke [39]. *AGTR1* rs275652 and rs275653 genotypes affected the clinical manifestations of systemic sclerosis in a Mexican population, contributing to vascular damage [40].

Increased frequency of *AGTR1* rs5186 allele C associated with high level of *AGTR1* receptor production is typical for survivors of nosocomial pneumonia [19]. Our research shows a similar pattern, which is however associated with another mutation localized in the 5'-region of the same gene: increased survival in sepsis is characteristic of patients with the *AGTR1* genetic variant associated with a relatively high expression of this gene.

Angiotensin II is known to have strong immunostimulatory and proinflammatory activity [41–43]. Therefore, one may assume that the increased survival in life-threatening infections of carriers of genetically polymorphic variants with

Полиморфизм *AGTR1* играет роль в развитии диабетической нефропатии [17, 18, 36]. Показано, что летальность пациентов с диабетом второго типа на диализе зависит от генетического варианта *AGTR1* rs5186 [21]. Синонимичная замена в кодирующей области *AGTR1* rs5182 играет роль в развитии гипертензии при сахарном диабете: больные генотипа *AGTR1* rs5182 CC обладали большим риском гипертензии [37].

Приведенные примеры указывают на значение генетического полиморфизма *AGTR1* в течении заболеваний, являющихся коморбидными для пациентов с сепсисом и септическим шоком в нашем исследовании. Аллель T rs275651 входит в гаплотип I TТАА, состоящий из 4 замен в промоторной 5'-области гена *AGTR1*: T rs275651, T rs275652, A rs422858, A rs275653. Интересно, что минорные аллели *AGTR1* rs422858 и *AGTR1* rs275653 были ассоциированы с долгожительством в итальянской популяции. В японской популяции с долгожительством оказался связанным и генотип GG rs275653 A/G; кроме того, долгожители с данным генотипом имели более низкое артериальное давление [38]. Имеются данные о связи полиморфизма *AGTR1* rs275653 с риском инсульта мелких сосудов [39]. Генотипы *AGTR1* rs275652 и rs275653 влияли на клинические проявления системного склероза в мексиканской популяции, внося вклад в повреждение сосудов [40].

Повышенная частота встречаемости аллеля С *AGTR1* rs5186, ассоциированного с высоким уровнем продукции рецептора *AGTR1*, характерна для выживших пациентов с нозокомиальной пневмонией [19]. В нашей работе прослеживается аналогичная закономерность, но ассоциированная уже с другой мутацией, локализованной в 5'-области того же гена: повышенная выживаемость при сепсисе характерна для пациентов с тем генетическим вариантом *AGTR1*, который ассоциирован с относительно высоким уровнем экспрессии данного гена.

Обсуждая полученные данные, следует отметить, что AngII обладает выраженной иммуностимулирующей и провоспалительной активностью [41–43]. Поэтому не исключено, что повышенная выживаемость при жизнеугрожающей инфекции носителей генетически полиморфных вариантов с более высокой транскрипционной активностью гена рецептора AngII обусловлена усилением противoinфекционного иммунитета и/или более выраженной стимуляцией иммунорегуляторных механизмов, прежде всего — супрессорных клеток миелоидного происхождения (СКМП), способных снижать чрезмерный уровень воспалительных реакций при сепсисе. О такой возможности свидетельствуют данные об индукции СКМП при введении AngII

higher transcriptional activity of the Ang II receptor gene is due to enhanced anti-infective immunity and/or a more pronounced stimulation of immunoregulatory mechanisms, primarily myeloid-derived suppressor cells (MDSCs) that can reduce the excessive inflammatory response in sepsis. This possibility is evidenced by the data on the induction of MDSCs when injecting Ang II into mice [44] and on the accumulation of MDSCs in patients with sepsis, including septic shock [45, 46].

The involvement of Ang II receptors in a number of processes pathogenetically related to severe vascular and immune system damage in patients with serious comorbidities such as cardiovascular disorders and type 2 diabetes mellitus determines the association of the functional genetic variant *AGTR1* with organ disorders in sepsis and septic shock outcome in the studied cohort of patients, which we have found.

## Conclusion

The *AGTR1* (-777 T>A) rs275651 polymorphism associates with the progression and outcome of sepsis in ICU patients with a baseline comorbidity such as type 2 diabetes mellitus or cardiovascular disease. Carriers of the most common TT genotype demonstrate less severe organ damage (as seen according to the SOFA score), developed septic shock less frequently, and exhibit a significantly higher survival rate as compared to carriers of the minor A allele.

мышам [44] и о накоплении СКМП у пациентов с сепсисом, включая СШ [45, 46].

Не исключено, что вовлеченность рецепторов AngII в целый ряд процессов, патогенетически связанных с выраженностью поражений сосудистой и иммунной систем пациентов с тяжелыми коморбидными состояниями — сердечно-сосудистыми нарушениями и сахарным диабетом второго типа, определяет обнаруженную нами ассоциативную связь функционального генетического варианта *AGTR1* с органными нарушениями при сепсисе и исходом септического шока в исследованной когорте пациентов.

## Заклучение

Обнаружили связь полиморфизма *AGTR1* (-777 T>A) rs275651 с тяжестью течения и исходами сепсиса у пациентов ОРИТ с высоким уровнем исходной коморбидности — наличием сахарного диабета второго типа или сердечно-сосудистой патологии. Для носителей наиболее распространенного генотипа TT были характерны менее выраженные органные нарушения (с оценкой по шкале SOFA), септический шок развивался реже, а выживаемость была значимо выше по сравнению с носителями минорной аллели А.

## Литература

1. 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
2. Мороз В.В., Смелая Т.В., Голубев А.М., Сальникова Л.Е. Генетика и медицина критических состояний: от теории к практике. *Общая реаниматология*. 2012; 8 (4): 5. DOI: 10.15360/1813-9779-2012-4-5
3. Писарев В.М., Чумаченко А.Г., Филев А.Д., Ершова Е.С., Костюк С.В., Вейко Н.Н., Григорьев Е.К., Елисина У.В., Черпаков Р.А., Тутельян А.В. Комбинация молекулярных биомаркеров ДНК в прогнозе исхода критических состояний. *Общая реаниматология*. 2019; 15 (3): 31–47. DOI: 10.15360/1813-9779-2019-3-31-47
4. Писарев В.М., Чумаченко А.Г., Турин И.Н., Черпаков Р.А., Елисина Е.В., Григорьев Е.К., Александров И.А., Тутельян А.В. 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
5. Nakada T.-A., Takahashi W., Nakada E., Shimada T., Russell J.A., Walley K. R. Genetic Polymorphisms in Sepsisrdiovascular Disease: Do Similar Risk Genes Suggest Similar Drug Targets? *Chest*. 2019 Jun; 155 (6): 1260–1271. DOI: 10.1016/j.chest.2019.01.003
6. Bronkhorst M.W.G.A., Patka P., Van Lieshout E.M.M. Effects of Sequence Variations in Innate Immune Response Genes on Infectious Outcome in Trauma Patients: A Comprehensive Review. *Shock*. 2015; 44 (5): 390–396. DOI: 10.1097/SHK.0000000000000450
7. Qian X., Guo D., Zhou H., Qiu J., Wang J., Shen C., Guo Z., Xu Y., Dong C. Interactions Between PPARG and AGTR1 Gene Polymorphisms on the Risk of Hypertension in Chinese Han Population. *Genet Test Mol Biomarkers*. 2018; 22 (2): 90–97. DOI: 10.1089/gtmb.2017.0141
8. Smyth L. J., Cañadas-Garre M., Cappa R.C., Maxwell A.P., McKnight A.J. Genetic associations between genes in the renin-angiotensin-aldosterone system and renal disease: a systematic review and meta-analysis. *BMJ Open*. 2019; 9 (4): e026777. DOI: 10.1136/bmjopen-2018-026777
9. Rivard K., Grandy S. A., Douillette A., Paradis P., Nemer M., Allen B.G., Fiset C. Overexpression of type 1 angiotensin II receptors impairs excitation-contraction coupling in the mouse heart. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2011; 301 (5): H2018–27. DOI: 10.1152/ajpheart.01092.2010
10. Dimitrijevic I., Ekelund U., Edvinsson M.-L., Edvinsson L. Increased expression of endothelin ET (B) and angiotensin AT (1) receptors in peripheral resistance arteries of patients with suspected acute coronary syndrome. *Heart Vessels*. 2009; 24 (6): 393–398. DOI: 10.1007/s00380-008-1136-8
11. Ghafil F.A., Mohammad B.I., Al-Janabi H. S., Hadi N.R., Al-Aubaidy H.A. Genetic Polymorphism of Angiotensin II Type 1 Receptors and Their Effect on the Clinical Outcome of Captopril Treatment in Arab Iraqi Patients with Acute Coronary Syndrome (Mid Euphrates). *Indian J Clin Biochem*. 2021; 36 (1): 81–87. DOI: 10.1007/s12291-019-00860-x
12. Jin T., Ren Y., Zhu X., Li X., Ouyang Y., He X., Zhang Z., Zhang Y. Kang L., Yuan D. Angiotensin II receptor 1 gene variants are associated with high-altitude pulmonary edema risk. *Oncotarget*. 2016; 7 (47): 77117–77123. DOI: 10.18632/oncotarget.12489
13. Martínez-Rodríguez N., Posadas-Romero C., Cardoso G., Perez-Rodríguez J. M., Perez-Hernandez N., Vallejo M., Vargas-Alarcón G. Association of angiotensin II type 1-receptor gene polymorphisms with the risk of developing hypertension in Mexican individuals. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst*. 2012; 13 (1): 133–140. DOI: 10.1177/1470320311419175
14. Mottl A.K., Shoham D.A., North K. E. Angiotensin II type 1 receptor polymorphisms and susceptibility to hypertension: a HuGE review. *Genet Med*. 2008; 10 (8): 560–574. DOI: 10.1097/gim.0b013e3181809613
15. Jain S., Prater A., Pandey V., Rana A., Puri N., Kumar A. A haplotype of Angiotensin receptor type 1 associated with human hypertension increases blood pressure in transgenic mice. *Journal of biological chemistry*. 2013; 288 (52): 37048–37056. DOI: 10.1074/jbc.M113.520023. Epub 2013 Nov 7
16. Bucher M., Ittner K.-P., Hobbhahn J., Taeger K., Kurtz A. Downregulation of angiotensin II type 1 receptors during sepsis. *Hypertension* 2001; 38: 177–182. DOI: 10.1161/01.hyp.38.2.177
17. Zhuang Y., Niu F., Liu D., Sun J., Zhang X., Zhang J., Guom S. Association between AGTR1 A1166C polymorphism and the susceptibility to diabetic nephropathy: Evidence from a meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*. 2018; 97 (41): e07689. DOI: 10.1097/MD.00000000000007689
18. Shah V.N., Cheema B.S., Sharma R., Khullar M., Kohli H. S., Ahluwalia T. S., Mohan V., Bhansali A. ACAC $\beta$  gene (rs2268388) and AGTR1 gene (rs5186) polymorphism and the risk of nephropathy in Asian Indian patients with type 2 diabetes. *Mol Cell Biochem*. 2013; 372 (1–2): 191–198. DOI: 10.1007/s11010-012-1460-2. Epub 2012 Oct 19
19. Смелая Т.В., Кузовлев А.Н., Мороз В.В., Голубев А.М., Белопольская О.Б., Сальникова Л.Е. Молекулярно-генетические маркеры но-

## References

1. Cavaillon Zh. New Approaches to Treat Sepsis: Animal Models «Do Not Work» (Review). *Obshchaya Reanimatologiya=General Reanimatology*. 2018; 14 (3): 46–53 [In Russ.]. DOI: 10.15360/1813-9779-2018-3-46-53
2. Moroz V.V., Smelaya T.V., Golubev A.M., Salnikova L.E. Genetics and Medicine of Critical Conditions: from Theory to Practice. *General Reanimatology*. 2012; 8 (4): 5. [In Russ.]. DOI: 10.15360/1813-9779-2012-4-5
3. Pisarev V.M., Chumachenko A.G., Filev A.D., Ershova E.S., Kostyuk S.V., Veiko N.N., Grigoriev E.K., Elysin A.V., Cherpakov R.A., Tutelyan A.V. Combination of DNA Molecular Biomarkers in the Prediction of Critical Illness Outcome. *Obshchaya Reanimatologiya=General Reanimatology*. 2019; 15 (3): 31–47 [In Russ.]. DOI: 10.15360/1813-9779-2019-3-31-47
4. Pisarev V.M., Chumachenko A.G., Turin I.N., Cherpakov R.A., Elisina E.V., Grigoriev E.K., Aleksandrov I.A., Tutelyan A.V. 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 [In Russ.]. DOI: 10.15360/1813-9779-2020-3-16-33
5. Nakada T.-A., Takahashi W., Nakada E., Shimada T., Russell J.A., Walley K. R. Genetic Polymorphisms in Sepsisrdiovascular Disease: Do Similar Risk Genes Suggest Similar Drug Targets? *Chest*. 2019; 155 (6): 1260–1271. DOI: 10.1016/j.chest.2019.01.003
6. Bronkhorst M.W.G.A., Patka P., Van Lieshout E.M.M. Effects of Sequence Variations in Innate Immune Response Genes on Infectious Outcome in Trauma Patients: A Comprehensive Review. *Shock*. 2015; 44 (5): 390–396. DOI: 10.1097/SHK.0000000000000450
7. Qian X., Guo D., Zhou H., Qiu J., Wang J., Shen C., Guo Z., Xu Y., Dong C. Interactions Between PPARG and AGTR1 Gene Polymorphisms on the Risk of Hypertension in Chinese Han Population. *Genet Test Mol Biomarkers*. 2018; 22 (2): 90–97. DOI: 10.1089/gtmb.2017.0141
8. Smyth L. J., Cañadas-Garre M., Cappa R.C., Maxwell A.P., McKnight A.J. Genetic associations between genes in the renin-angiotensin-aldosterone system and renal disease: a systematic review and meta-analysis. *BMJ Open*. 2019; 9 (4): e026777. DOI: 10.1136/bmjopen-2018-026777
9. Rivard K., Grandy S. A., Douillette A., Paradis P., Nemer M., Allen B.G., Fiset C. Overexpression of type 1 angiotensin II receptors impairs excitation-contraction coupling in the mouse heart. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2011; 301 (5): H2018–27. DOI: 10.1152/ajpheart.01092.2010
10. Dimitrijevic I., Ekelund U., Edvinsson M.-L., Edvinsson L. Increased expression of endothelin ET (B) and angiotensin AT (1) receptors in peripheral resistance arteries of patients with suspected acute coronary syndrome. *Heart Vessels*. 2009; 24 (6): 393–398. DOI: 10.1007/s00380-008-1136-8
11. Ghafil F.A., Mohammad B.I., Al-Janabi H. S., Hadi N.R., Al-Aubaidy H.A. Genetic Polymorphism of Angiotensin II Type 1 Receptors and Their Effect on the Clinical Outcome of Captopril Treatment in Arab Iraqi Patients with Acute Coronary Syndrome (Mid Euphrates). *Indian J Clin Biochem*. 2021; 36 (1): 81–87. DOI: 10.1007/s12291-019-00860-x
12. Jin T., Ren Y., Zhu X., Li X., Ouyang Y., He X., Zhang Z., Zhang Y. Kang L., Yuan D. Angiotensin II receptor 1 gene variants are associated with high-altitude pulmonary edema risk. *Oncotarget*. 2016; 7 (47): 77117–77123. DOI: 10.18632/oncotarget.12489
13. Martínez-Rodríguez N., Posadas-Romero C., Cardoso G., Perez-Rodríguez J. M., Perez-Hernandez N., Vallejo M., Vargas-Alarcón G. Association of angiotensin II type 1-receptor gene polymorphisms with the risk of developing hypertension in Mexican individuals. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst*. 2012; 13 (1): 133–140. DOI: 10.1177/1470320311419175
14. Mottl A.K., Shoham D.A., North K. E. Angiotensin II type 1 receptor polymorphisms and susceptibility to hypertension: a HuGE review. *Genet Med*. 2008; 10 (8): 560–574. DOI: 10.1097/gim.0b013e3181809613
15. Jain S., Prater A., Pandey V., Rana A., Puri N., Kumar A. A haplotype of Angiotensin receptor type 1 associated with human hypertension increases blood pressure in transgenic mice. *Journal of biological chemistry*. 2013; 288 (52): 37048–37056. DOI: 10.1074/jbc.M113.520023. Epub 2013 Nov 7
16. Bucher M., Ittner K.-P., Hobbhahn J., Taeger K., Kurtz A. Downregulation of angiotensin II type 1 receptors during sepsis. *Hypertension* 2001; 38: 177–182. DOI: 10.1161/01.hyp.38.2.177
17. Zhuang Y., Niu F., Liu D., Sun J., Zhang X., Zhang J., Guom S. Association between AGTR1 A1166C polymorphism and the susceptibility to diabetic nephropathy: Evidence from a meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*. 2018; 97 (41): e07689. DOI: 10.1097/MD.00000000000007689
18. Shah V.N., Cheema B.S., Sharma R., Khullar M., Kohli H. S., Ahluwalia T. S., Mohan V., Bhansali A. ACAC $\beta$  gene (rs2268388) and AGTR1 gene (rs5186) polymorphism and the risk of nephropathy in Asian Indian patients with type 2 diabetes. *Mol Cell Biochem*. 2013; 372 (1–2): 191–198. DOI: 10.1007/s11010-012-1460-2. Epub 2012 Oct 19
19. Smelaya T.V., Kuzovlev A.N., Moroz V.V., Golubev A.M., Belopolskaya O.B., Salnikova L.E. Search for Common Molecular Genetic Markers

- зокомпиальной пневмонии острого респираторного дистресс-синдрома. *Общая реаниматология*. 2015; 11 (3): 24–38. DOI: 10.15360/1813-9779-2015-3-24-38
20. Sun Y, Liao Y, Yuan Y, Feng L, Ma S, Wei F, Wang M, Zhu F Influence of autoantibodies against AT1 receptor and AGTR1 polymorphisms on candesartan-based antihypertensive regimen. *Journal of the American Society of Hypertension*, 2014; 8 (1): 21–27. DOI: 10.1016/j.jash.2013.08.002
  21. *Padro-Miquel A., Alía-Ramos P., González-Alvarez M. T., Navarro-Moreno M. A.* Survival in type 2 diabetic patients in dialysis and the number of risk alleles in polymorphisms of the renin-angiotensin system genes. *Clin Biochem*. 2009; 42 (1–2): 5–11. DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2008.10.011.2009 Jan; 42 (1–2): 5–11
  22. Наркевич А.Н., Виноградов К.А. Методы определения минимально необходимого объема выборки в медицинских исследованиях. *Социальные аспекты здоровья населения*. 2019; 65 (6): 10. DOI: 10.21045/2071-5021-2019-65-6-10
  23. Лихванцев В.В., Ядгаров М.Я., Берикашвили Л.Б., Казанцева К.К., Кузовлев А.Н. Определение объема выборки. *Анестезиология и реаниматология*. 2020; 6: 77–87 DOI: 10.17116/anaesthesiology202006177
  24. Tiwari S., Pratyush D.D., Gahlot A., Surya K Singh S.K. Sepsis in diabetes: A bad duo. *Diabetes Metab Syndr*. 2011; 5 (4): 222–227. DOI: 10.1016/j.dsx.2012.02.026. Epub 2012 Apr 4;
  25. Doerschug K.C., Delsing A.S., Schmidt G.A., Ashare A. Renin-angiotensin system activation correlates with microvascular dysfunction in a prospective cohort study of clinical sepsis. *Crit Care* 2010; 14: R24–32. DOI: 10.1186/cc8887
  26. Ganter M.T., Cohen M.J., Brohi K., Chesebro B. B., Staudenmayer K. L., Rahn P, Christiaans S. C., Bir N. D., Pittet J.-F. Angiotensin-2, marker and mediator of endothelial activation with prognostic significance early after trauma? *Ann. Surg.* 2008; 247: 320–326. DOI 10.1097/SLA.0b013e318162d616
  27. Sander C.S., Chang H., Salzmann S., Müller C.S.L., Ekanayake-Mudiyanselage S., Elsner P, Thiele J.J. Photoaging is associated with protein oxidation in human skin in vivo. *J Invest Dermatol*. 2002; 118 (4): 618–625. DOI: 10.1046/j.1523-1747.2002.01708.x
  28. Bissell B.D., Browder K., McKenzie M., Flannery A.H. A Blast From the Past: Revival of Angiotensin II for Vasodilatory Shock. *Ann Pharmacother*. 2018; 52 (9): 920–927. DOI: 10.1177/1060028018767899
  29. Russell J.A. Vasopressor therapy in critically ill patients with shock. *Intensive Care Med*. 2019; 45 (11): 1503–1517. DOI: 10.1007/s00134-019-05801-z
  30. Russell J.A., Gordon A.C., Williams M.D., Boyd J.H., Walley K.R., Kisson N. Vasopressor Therapy in the Intensive Care Unit. *Semin Respir Crit Care Med*. 2021; 42 (1): 59–77. DOI: 10.1055/s-0040-1710320. Epub 2020 Aug 20. PMID: 32820475
  31. Senatore F, Jagadeesh G., Rose M., Pillai V.C., Hariharan S., Liu Q., McDowell T.Y., Sapru M.K., Southworth M.R., Stockbridge N. FDA Approval of Angiotensin II for the Treatment of Hypotension in Adults with Distributive Shock. *Am J Cardiovasc Drugs*. 2019; 19 (1): 11–20. DOI: 10.1007/s40256-018-0297-9
  32. Jadhav A.P, Sadaka F.G. Angiotensin II in septic shock. *Am J Emerg Med*. 2019; 37 (6): 1169–1174. DOI: 10.1016/j.ajem.2019.03.026. Epub 2019 Mar 19
  33. Bellomo R., Forni L.G., Busse L.W., McCurdy M.T., Ham K.R., Boldt D.W., Hästbacka J., Khanna A.K., Albertson T.E., Tumlin J., Storey K., Handisides D., Tidmarsh G.E., Chawla L.S., Ostermann M. Renin and Survival in Patients Given Angiotensin II for Catecholamine-Resistant Vasodilatory Shock. A Clinical Trial. *Am J Respir Crit Care Med*. 2020; 202 (9): 1253–1261. DOI: 10.1164/rccm.201911-2172OC
  34. Schmidt C., Höcherl K., Kurt B., Moritz S., Kurtz A., Bucher M. Blockade of multiple but not single cytokines abrogates downregulation of angiotensin II type-I receptors and anticipates septic shock. *Cytokine*. 2010; 49 (1): 30–38. DOI: 10.1016/j.cyto.2009.10.006
  35. Zhang W, Chen X, Huang L., Zhou L. N., Wu G., Chen Y. Severe sepsis: Low expression of the renin-angiotensin system is associated with poor prognosis. *Exp. Ther. Med*. 2014; 7 (5): 1342–1348. DOI: 10.3892/etm.2014.1566
  36. Antonucci E., Gleeson P.J., Annoni F, Agosta S., Orlando S., Taccone F S., Velissaris D., Scolletta S. Angiotensin II in Refractory Septic Shock. *Shock*. 2017; 47 (5): 560–566. DOI: 10.1097/SHK.0000000000000807
  37. Кочкин А.А., Яворовский А.Г., Берикашвили Л.Б., Лихванцев В.В. Современная вазопрессорная терапия септического шока (обзор). *Общая реаниматология*. 2020; 16 (2): 77–93. DOI: 10.15360/1813-9779-2020-2-77-93
  38. Aouizerat B.E., Vittinghoff E., Musone S.L., Pawlikowska L., Kwok P-Y, Jeffrey E Olginand Tseng Z.H.; GWAS for discovery and replication of genetic loci associated with sudden cardiac arrest in patients with coronary artery disease. *BMC Cardiovasc Disord*. 2011; 11: 29. DOI: 10.1186/1471-2261-11-29
  39. Zhang K., Zhou B., Zhang L. Association study of angiotensin II type 1 receptor: A1166C (rs5186) polymorphism with coronary heart disease using systematic meta-analysis. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst*. 2013; 14 (2): 181–188. DOI: 10.1177/1470320312447652
  - of Nosocomial Pneumonia and Acute Respiratory Distress Syndrome. *Obshchaya Reanimatologiya=General Reanimatology*. 2015; 11 (3): 24–38. [In Russ.]. DOI: 10.15360/1813-9779-2015-3-24-38
  20. Sun Y, Liao Y, Yuan Y, Feng L, Ma S, Wei F, Wang M, Zhu F Influence of autoantibodies against AT1 receptor and AGTR1 polymorphisms on candesartan-based antihypertensive regimen. *Journal of the American Society of Hypertension*, 2014; 8 (1): 21–27. DOI: 10.1016/j.jash.2013.08.002
  21. *Padro-Miquel A., Alía-Ramos P., González-Alvarez M. T., Navarro-Moreno M. A.* Survival in type 2 diabetic patients in dialysis and the number of risk alleles in polymorphisms of the renin-angiotensin system genes. *Clin Biochem*. 2009; 42 (1–2): 5–11. DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2008.10.011.2009 Jan; 42 (1–2): 5–11
  22. Наркевич А.Н., Виноградов К.А. Методы определения минимально необходимого объема выборки в медицинских исследованиях. *Социальные аспекты здоровья населения*. 2019; 65 (6): 10 [In Russ.]. DOI: 10.21045/2071-5021-2019-65-6-10
  23. Likhvantsev V.V., Yadgarov M.Ya., Berikashvili L.B., Kazantseva K.K., Kuzovlev A.N. Determination of the sample size. *Anesthesiol. i reanimatol*. 2020; 6: 77–87 [In Russ.] DOI: 10.17116/anaesthesiology202006177
  24. Tiwari S., Pratyush D.D., Gahlot A., Surya K Singh S.K. Sepsis in diabetes: A bad duo. *Diabetes Metab Syndr*. 2011; 5 (4): 222–227. DOI: 10.1016/j.dsx.2012.02.026. Epub 2012 Apr 4;
  25. Doerschug K.C., Delsing A.S., Schmidt G.A., Ashare A. Renin-angiotensin system activation correlates with microvascular dysfunction in a prospective cohort study of clinical sepsis. *Crit Care*. 2010; 14: R24–32. DOI: 10.1186/cc8887
  26. Ganter M.T., Cohen M.J., Brohi K., Chesebro B. B., Staudenmayer K. L., Rahn P, Christiaans S. C., Bir N. D., Pittet J.-F. Angiotensin-2, marker and mediator of endothelial activation with prognostic significance early after trauma? *Ann. Surg.* 2008; 247: 320–326. DOI 10.1097/SLA.0b013e318162d616
  27. Sander C.S., Chang H., Salzmann S., Müller C.S.L., Ekanayake-Mudiyanselage S., Elsner P, Thiele J.J. Photoaging is associated with protein oxidation in human skin in vivo. *J Invest Dermatol*. 2002; 118 (4): 618–625. DOI: 10.1046/j.1523-1747.2002.01708.x
  28. Bissell B.D., Browder K., McKenzie M., Flannery A.H. A Blast From the Past: Revival of Angiotensin II for Vasodilatory Shock. *Ann Pharmacother*. 2018; 52 (9): 920–927. DOI: 10.1177/1060028018767899
  29. Russell J.A. Vasopressor therapy in critically ill patients with shock. *Intensive Care Med*. 2019; 45 (11): 1503–1517. DOI: 10.1007/s00134-019-05801-z
  30. Russell J.A., Gordon A.C., Williams M.D., Boyd J.H., Walley K.R., Kisson N. Vasopressor Therapy in the Intensive Care Unit. *Semin Respir Crit Care Med*. 2021; 42 (1): 59–77. DOI: 10.1055/s-0040-1710320. Epub 2020 Aug 20. PMID: 32820475
  31. Senatore F, Jagadeesh G., Rose M., Pillai V.C., Hariharan S., Liu Q., McDowell T.Y., Sapru M.K., Southworth M.R., Stockbridge N. FDA Approval of Angiotensin II for the Treatment of Hypotension in Adults with Distributive Shock. *Am J Cardiovasc Drugs*. 2019; 19 (1): 11–20. DOI: 10.1007/s40256-018-0297-9
  32. Jadhav A.P, Sadaka F.G. Angiotensin II in septic shock. *Am J Emerg Med*. 2019; 37 (6): 1169–1174. DOI: 10.1016/j.ajem.2019.03.026. Epub 2019 Mar 19
  33. Bellomo R., Forni L.G., Busse L.W., McCurdy M.T., Ham K.R., Boldt D.W., Hästbacka J., Khanna A.K., Albertson T.E., Tumlin J., Storey K., Handisides D., Tidmarsh G.E., Chawla L.S., Ostermann M. Renin and Survival in Patients Given Angiotensin II for Catecholamine-Resistant Vasodilatory Shock. A Clinical Trial. *Am J Respir Crit Care Med*. 2020; 202 (9): 1253–1261. DOI: 10.1164/rccm.201911-2172OC
  34. Schmidt C., Höcherl K., Kurt B., Moritz S., Kurtz A., Bucher M. Blockade of multiple but not single cytokines abrogates downregulation of angiotensin II type-I receptors and anticipates septic shock. *Cytokine*. 2010; 49 (1): 30–38. DOI: 10.1016/j.cyto.2009.10.006
  35. Zhang W, Chen X, Huang L., Zhou L. N., Wu G., Chen Y. Severe sepsis: Low expression of the renin-angiotensin system is associated with poor prognosis. *Exp. Ther. Med*. 2014; 7 (5): 1342–1348. DOI: 10.3892/etm.2014.1566
  36. Antonucci E., Gleeson P.J., Annoni F, Agosta S., Orlando S., Taccone F S., Velissaris D., Scolletta S. Angiotensin II in Refractory Septic Shock. *Shock*. 2017; 47 (5): 560–566. DOI: 10.1097/SHK.0000000000000807
  37. Кочкин А.А., Яворовский А.Г., Берикашвили Л.Б., Лихванцев В.В. Современная вазопрессорная терапия септического шока (Review). *Obshchaya Reanimatologiya=General Reanimatology*. 2020; 16 (2): 77–93 [In Russ.]. DOI: 10.15360/1813-9779-2020-2-77-93
  38. Aouizerat B.E., Vittinghoff E., Musone S.L., Pawlikowska L., Kwok P-Y, Jeffrey E Olginand Tseng Z.H.; GWAS for discovery and replication of genetic loci associated with sudden cardiac arrest in patients with coronary artery disease. *BMC Cardiovasc Disord*. 2011; 11: 29. DOI: 10.1186/1471-2261-11-29
  39. Zhang K., Zhou B., Zhang L. Association study of angiotensin II type 1 receptor: A1166C (rs5186) polymorphism with coronary heart disease using systematic meta-analysis. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst*. 2013; 14 (2): 181–188. DOI: 10.1177/1470320312447652

40. Martin M.M., Buckenberger J.A., Jiang J., Geraldine E. Malana G.E. Nuovo G.J., Chotani M., Feldman D.S., Schmittgen T.D., Elton T.S. The human angiotensin II type 1 receptor +1166 A/C polymorphism attenuates microRNA-155 binding. *Journal of Biological Chemistry*. 2007; 282 (33): 24262–24269. DOI: 10.1074/jbc.M701050200
41. Shah V.N., Cheema B.S., Rajni Sharma, Khullar M., Kohli H.S., Ahluwalia T.S., Mohan V., Bhansali A. ACACb gene (rs2268388) and AGTR1 gene (rs5186) polymorphism and the risk of nephropathy in Asian Indian patients with type 2 diabetes. *Mol Cell Biochem*. 2013; 372 (1–2): 191–198. DOI: 10.1007/s11010-012-1460-2
42. Hou L., Quan X., Li X., Su X. Correlation between gene polymorphism in angiotensin II type 1 receptor and type 2 diabetes mellitus complicated by hypertension in a population of Inner Mongolia. *BMC Med Genet*. 2020; 21 (1): 83. DOI: 10.1186/s12881-020-01021-1
43. Benigni A., Orisio S., Noris M., Iatropoulos P., Castaldi D., Kamide K., Rakugi H., Arai Y., Todeschini M., Giulia Ogliairi, Imai E., Gondo Y., Hirose N., Mari D., Remuzzi G. Variations of the angiotensin II type 1 receptor gene are associated with extreme human longevity. *Age (Dordr)*. 2013; 35 (3): 993–1005. DOI: 10.1007/s11357-012-9408-8. Epub 2012 May 9
44. Li Y., Peng Y., Yao S., Chen L., Li S., Wang M., Chen S., Chen X., Deng F., Hu W., Zhu P., Zhao B., Zhong W., Ma G. Association of miR-155 and Angiotensin Receptor Type 1 Polymorphisms with the Risk of Ischemic Stroke in a Chinese Population. *DNA Cell Biol*. 2020; 39 (1): 92–104. DOI: 10.1089/dna.2019.4948. Epub 2019 Nov 13
45. Rodríguez-Reynan T.S., Núñez-Alvarez C., Cruz-Lagunas A., Posadas-Sánchez R., Pérez-Hernández N., Jiménez-Alvarez L., Ramírez-Martínez G., Granados J., Vargas-Alarcón G., Zúñiga J. Angiotensin II Type 1 receptor (AGTR1) gene polymorphisms are associated with vascular manifestations in patients with systemic sclerosis (SSc). *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst*. 2016; 17 (3): 1470320316659954. DOI: 10.1177/1470320316659954
46. Luft F.C., Dechend R., Müller D.N. Immune mechanisms in angiotensin II-induced target-organ damage. *Ann Med*. 2012 Jun; 44 Suppl 1: S49–54. DOI: 10.3109/07853890.2011.653396.
47. Chang Y., Wei W. Angiotensin II in inflammation, immunity and rheumatoid arthritis. *Clin Exp Immunol*. 2015; 179 (2): 137–145. DOI: 10.1111/cei.12467
48. Biancardi V.C., Bomfim G.F., Reis W.L., Al-Gassimi S., Nunes K.P. The interplay between Angiotensin II, TLR4 and hypertension. *Pharmacol Res*. 2017; 120: 88–96. DOI: 10.1016/j.phrs.2017.03.017.
49. Shah K.H., Shi P., Giani J.F., Janjulia T., Bernstein E.A., Li Y., Zhao T., Harrison D.G., Bernstein K.E., Shen X.Z. Myeloid Suppressor Cells Accumulate and Regulate Blood Pressure in Hypertension. *Circ Res*. 2015; 117 (10): 858–869. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.115.306539
50. Cuenca A.G., Delano M.J., Kelly-Scumpia K.M., Moreno C., Scumpia P.O., Laface D.M., Heyworth P.G., Efron P.A., Moldawer L.L. A paradoxical role for myeloid-derived suppressor cells in sepsis and trauma. *Mol Med*. 2011; 17 (3–4): 281–292. DOI: 10.2119/molmed.2010.00178
51. Schrijver I.T., Théroude C., Roger T. Myeloid-Derived Suppressor Cells in Sepsis. *Front Immunol*. 2019; 10: 327. DOI: 10.3389/fimmu.2019.00327
52. 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
53. 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
40. Martin M.M., Buckenberger J.A., Jiang J., Geraldine E. Malana G.E. Nuovo G.J., Chotani M., Feldman D.S., Schmittgen T.D., Elton T.S. The human angiotensin II type 1 receptor +1166 A/C polymorphism attenuates microRNA-155 binding. *Journal of Biological Chemistry*. 2007; 282 (33): 24262–24269. DOI: 10.1074/jbc.M701050200
41. Shah V.N., Cheema B.S., Rajni Sharma, Khullar M., Kohli H.S., Ahluwalia T.S., Mohan V., Bhansali A. ACACb gene (rs2268388) and AGTR1 gene (rs5186) polymorphism and the risk of nephropathy in Asian Indian patients with type 2 diabetes. *Mol Cell Biochem*. 2013; 372 (1–2): 191–198. DOI: 10.1007/s11010-012-1460-2
42. Hou L., Quan X., Li X., Su X. Correlation between gene polymorphism in angiotensin II type 1 receptor and type 2 diabetes mellitus complicated by hypertension in a population of Inner Mongolia. *BMC Med Genet*. 2020; 21 (1): 83. DOI: 10.1186/s12881-020-01021-1
43. Benigni A., Orisio S., Noris M., Iatropoulos P., Castaldi D., Kamide K., Rakugi H., Arai Y., Todeschini M., Giulia Ogliairi, Imai E., Gondo Y., Hirose N., Mari D., Remuzzi G. Variations of the angiotensin II type 1 receptor gene are associated with extreme human longevity. *Age (Dordr)*. 2013; 35 (3): 993–1005. DOI: 10.1007/s11357-012-9408-8. Epub 2012 May 9
44. Li Y., Peng Y., Yao S., Chen L., Li S., Wang M., Chen S., Chen X., Deng F., Hu W., Zhu P., Zhao B., Zhong W., Ma G. Association of miR-155 and Angiotensin Receptor Type 1 Polymorphisms with the Risk of Ischemic Stroke in a Chinese Population. *DNA Cell Biol*. 2020; 39 (1): 92–104. DOI: 10.1089/dna.2019.4948. Epub 2019 Nov 13
45. Rodríguez-Reynan T.S., Núñez-Alvarez C., Cruz-Lagunas A., Posadas-Sánchez R., Pérez-Hernández N., Jiménez-Alvarez L., Ramírez-Martínez G., Granados J., Vargas-Alarcón G., Zúñiga J. Angiotensin II Type 1 receptor (AGTR1) gene polymorphisms are associated with vascular manifestations in patients with systemic sclerosis (SSc). *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst*. 2016; 17 (3): 1470320316659954. DOI: 10.1177/1470320316659954
46. Luft F.C., Dechend R., Müller D.N. Immune mechanisms in angiotensin II-induced target-organ damage. *Ann Med*. 2012 Jun; 44 Suppl 1: S49–54. DOI: 10.3109/07853890.2011.653396.
47. Chang Y., Wei W. Angiotensin II in inflammation, immunity and rheumatoid arthritis. *Clin Exp Immunol*. 2015; 179 (2): 137–145. DOI: 10.1111/cei.12467
48. Biancardi V.C., Bomfim G.F., Reis W.L., Al-Gassimi S., Nunes K.P. The interplay between Angiotensin II, TLR4 and hypertension. *Pharmacol Res*. 2017; 120: 88–96. DOI: 10.1016/j.phrs.2017.03.017.
49. Shah K.H., Shi P., Giani J.F., Janjulia T., Bernstein E.A., Li Y., Zhao T., Harrison D.G., Bernstein K.E., Shen X.Z. Myeloid Suppressor Cells Accumulate and Regulate Blood Pressure in Hypertension. *Circ Res*. 2015; 117 (10): 858–869. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.115.306539
50. Cuenca A.G., Delano M.J., Kelly-Scumpia K.M., Moreno C., Scumpia P.O., Laface D.M., Heyworth P.G., Efron P.A., Moldawer L.L. A paradoxical role for myeloid-derived suppressor cells in sepsis and trauma. *Mol Med*. 2011; 17 (3–4): 281–292. DOI: 10.2119/molmed.2010.00178
51. Schrijver I.T., Théroude C., Roger T. Myeloid-Derived Suppressor Cells in Sepsis. *Front Immunol*. 2019; 10: 327. DOI: 10.3389/fimmu.2019.00327
52. Gaponov M.A., Khaydukov S.V., Pisarev V.M., Grebenshchikov O.A., Gaponov A.M., Tutelyan A.V. Population heterogeneity of myeloid immunosuppressive cells in patients with septic conditions. *Rossiiskiy immunologicheskiy zhurnal*. 2015; 9 (18): 11–14 [In Russ.]
53. Gaponov M.A., Pisarev V.M., Tutelyan A.V., Likhvantsev V.V., Grebenshchikov O.A. Prognostic value of the content of monocytic myeloid immunosuppressive cells in sepsis. *Infektsionniye bolezni*. 2015; 13 (4): 72–74 [In Russ.]

Received 2021.07.19

Поступила 2021.07.19

## Влияние сердечно-легочной реанимации с поддержкой диспетчером скорой медицинской помощи на восстановление эффективного кровообращения и краткосрочную выживаемость

С. С. Николовски<sup>1\*</sup>, Н. Б. Божич<sup>2</sup>, З. З. Фишер<sup>3</sup>, А. Д. Лазич<sup>4</sup>, Е. З. Тиянич<sup>3</sup>, В. И. Раффэй<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Белградский университет, медицинский факультет, Сербия, 11000, г. Белград, ул. Доктора Суботицы, д.8

<sup>2</sup> Реанимационный совет Сербии, Сербия, 21000, г. Нови Сад, ул. Джорджа Йоановица, д.2

<sup>3</sup> Муниципальный институт неотложной медицины, Сербия, 21107, г. Нови Сад, ул. Патриарха Павла, стр. 26а

<sup>4</sup> Центр неотложной медицины, Клинический центр Воеводины, Сербия, 2100, г. Нови Сад, ул. Гайдук Велькова, д.1

<sup>5</sup> Европейский университет Кипра, медицинский факультет, Кипр, Никозия, 2404 Энгоми, ул. Диогена, д.6

## Dispatcher-Assisted Cardiopulmonary Resuscitation — Influence on Return of Spontaneous Circulation and Short-Term Survival

Srdjan S. Nikolovski<sup>1\*</sup>, Neda B. Bozic<sup>2</sup>, Zoran Z. Fiser<sup>3</sup>, Aleksandra D. Lazic<sup>4</sup>, Jelena Z. Tijanic<sup>3</sup>, Violetta I. Raffay<sup>5</sup>

<sup>1</sup> University of Belgrade School of Medicine, 8 Dr. Subotica Str., 11000 Belgrade, Serbia

<sup>2</sup> Serbian Resuscitation Council, 2 Djordja Joanovica Str., 21000 Novi Sad, Serbia

<sup>3</sup> Municipal Institute for Emergency Medicine, 26a Patrijarha Pavla Blvd, 21107 Novi Sad, Serbia

<sup>4</sup> Emergency Center Clinical center of Vojvodina, 1 Hajduk Veljkova Str., 21000 Novi Sad, Serbia

<sup>5</sup> European University Cyprus Department of Medicine, 6 Diogenous Str., 2404 Engomi, Nicosia, Cyprus

**Для цитирования:** С. С. Николовски, Н. Б. Божич, З. З. Фишер, А. Д. Лазич, Е. З. Тиянич, В. И. Раффэй. Влияние сердечно-легочной реанимации с поддержкой диспетчером скорой медицинской помощи на восстановление эффективного кровообращения и краткосрочную выживаемость. *Общая реаниматология*. 2021; 17 (5): 52–64. <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2021-5-52-64> [На русск. и англ.]

**For citation:** Srdjan S. Nikolovski, Neda B. Bozic, Zoran Z. Fiser, Aleksandra D. Lazic, Jelena Z. Tijanic, Violetta I. Raffay. Dispatcher-assisted cardiopulmonary resuscitation — influence on return of spontaneous circulation and short-term survival. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2021; 17 (5): 52–64. <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2021-5-52-64> [In Russ. and Engl.]

### Резюме

**Цель:** анализ влияния помощи диспетчера во время сердечно-легочной реанимации (СЛР) пациентов с внебольничной остановкой сердца (ВБОС) на восстановление эффективного кровообращения (ВЭК), улучшение выживаемости на месте произошедшей остановки кровообращения, выживаемость до выписки и выживаемость в течение 30 дней.

**Материалы и методы.** Данное исследование включило эпидемиологические данные по ВБОС, собранные в соответствии с протоколом исследования Европейского совета по реанимации EuReCa\_ONE в период с 1 октября 2014 года по 31 декабря 2019 года. Статистический анализ проводили с использованием программных пакетов SPSS Statistics v26 и GraphPad Prism v8.

**Результаты.** В исследование включили 288 пациентов с ВБОС, у которых сердечно-легочная реанимация была проведена случайным очевидцем. СЛР с помощью диспетчера (СЛРПД) была проведена у 56,9% пациентов, а ВЭК было достигнуто в 31,3% случаев. Сорок четыре пациента были госпитализированы, и 16 из них были живы к моменту выписки. Помощь диспетчера не повлияла на ВЭК, хотя и привела к несколько большему риску отсутствия ВЭК (OR=1,063). Более высокую смертность в период до выписки наблюдали в группе СЛРПД ( $p=0,013$ ). Различия между группами СЛРПД и СЛР без ПД по смертности на месте остановки кровообращения и 30-дневной выживаемости были не-

Адрес для корреспонденции:

\*Срджан С. Николовски  
E-mail: srdjannikolovski@gmail.com

Correspondence to:

\*Srdjan S. Nikolovski  
E-mail: srdjannikolovski@gmail.com

значимы. Помощь диспетчера во время базовых реанимационных мероприятий у госпитализированных в последствии пациентов с ВБОС оказалась значимым предиктором смертельного исхода в течении периода госпитализации ( $p=0,017$ , ОШ 5,500).

**Заключение.** Связь между наличием/отсутствием помощи диспетчера и ВЭК или 30-дневной выживаемостью отсутствует. СЛРПД незначимо ассоциируется с более высокими шансами на отсутствие восстановления кровообращения. СЛРПД также была связана с более низкими показателями выживаемости до выписки у госпитализированных пациентов с ВБОС. Результаты исследования являются основанием для внедрения существующих и разработки новых рекомендаций по высококачественной профессиональной подготовке диспетчеров СМП, а также по обучению населения оказанию базовых реанимационных мероприятий.

**Ключевые слова:** внебольничная остановка сердца; сердечно-легочная реанимация; помощь диспетчера; EuReCa; восстановление эффективного кровообращения; посторонний наблюдатель

**Конфликт интересов.** Авторы объявляют об отсутствии конфликта интересов.

## Summary

**The Aim:** analysis of the influence of dispatcher assistance during cardiopulmonary resuscitation (CPR) of patients with out-of-hospital cardiac arrest (OHCA) in achieving return of spontaneous circulation (ROSC), better survival at the scene, survival to discharge, and 30-day survival.

**Materials and methods.** This study includes epidemiological data on OHCA collected by the study protocol of the European Resuscitation Council's EuReCa ONE study during the period October 1, 2014 — December 31, 2019. Statistical analysis was performed using SPSS Statistics v26 and GraphPad Prism v8 software packages.

**Results.** This study included 288 patients with OHCA where CPR was provided by bystander. Dispatcher-assisted CPR (DA-CPR) occurred in 56.9% of those patients and ROSC was achieved in 31.3% of cases. Forty-four patients were hospitalized and 16 of those survived until discharge. There was no influence of dispatcher assistance on ROSC, although it resulted in slightly greater risk of the absence of ROSC (OR=1.063). Higher mortality rate to discharge occurred in DA-CPR group ( $P=0.013$ ). No statistical significance was observed between DA-CPR and non-DA-CPR groups in terms of death at the scene, and 30-day survival. Dispatcher assistance during the initial CPR in hospitalized OHCA patients was a significant predictor of death outcome during hospitalization ( $P=0.017$ , OR=5.500).

**Conclusions.** There is no significant association between the presence/absence of dispatcher assistance and ROSC or 30-day survival rate. In contrast, DA-CPR was non-significantly associated with slightly higher odds for the absence of ROSC. DA-CPR was also associated with lower survival-to-discharge rates in hospitalized OHCA patients. The study findings are the base/ground which highlights the need of implementation of existing and development of new guidelines regarding high-quality professional training of EMS dispatchers as well as basic life support education of general population.

**Keywords:** out-of-hospital cardiac arrest; cardiopulmonary resuscitation; dispatcher assistance; EuReCa; return of spontaneous circulation; bystander

**Conflict of interest.** Authors report no conflicts of interest.

DOI:10.15360/1813-9779-2021-5-52-64

## Введение

Общая выживаемость при внебольничной остановке сердца (ВБОС) остается низкой [1–7], что делает ее важнейшей проблемой общественного здравоохранения во всем мире [8, 9]. Восстановление эффективного кровообращения (ВЭК) как краткосрочный исход и выживание до выписки из больницы как долгосрочный исход ВБОС являются основными прямыми показателями успешной сердечно-легочной реанимации (СЛР) в качестве первичной процедуры, необходимой для пациентов с ВБОС [10–13].

Важность раннего начала базовых реанимационных мероприятий (БРМ) и раннего использования автоматических наружных дефибрилляторов (АНД) случайными прохожими до прибытия подразделений службы

## Introduction

Overall survival rates of out-of-hospital cardiac arrest (OHCA) are still low [1–7], which make it a crucial issue in public health worldwide [8, 9]. Return of spontaneous circulation (ROSC) as a short-term and survival to hospital discharge as a long-term OHCA outcome are the main direct measures of successful cardiopulmonary resuscitation (CPR) as the first procedure required in these patients [10–13].

The importance of the early initiation of basic life support (BLS) measures and early use of automatic external defibrillators (AED) by bystanders before the arrival of the emergency medical service (EMS) units has been extensively explained in the literature, which is also emphasized in the European Resuscitation Council (ERC) guidelines [1–5, 14–20].

скорой медицинской помощи (СМП) была подробно описана в литературе, а также подчеркнута в рекомендациях Европейского совета по реанимации (ЕСР) [1–5, 14–20].

В настоящее время прилагаются большие усилия для повышения качества сердечно-легочной реанимации, выполняемой случайными прохожими, включая, помимо прочего, обучение общественности сердечно-легочной реанимации, обязательное обучение школьников и студентов сердечно-легочной реанимации, а также экстренное оповещение специально обученных лиц, не являющихся медработниками, или служб первого реагирования о случаях остановки сердца вблизи их местонахождения. Такие меры и их взаимосвязь с качеством сердечно-легочной реанимации, оказываемой случайными свидетелями, уже изучались в недавних исследованиях [21]. Кроме того, хорошо известна важность роли диспетчеров в поддержке сторонних лиц в проведении адекватной сердечно-легочной реанимации [22–24].

Хотя некоторые страны и достигли впечатляющих результатов в обучении людей навыкам БРМ для более эффективного выполнения СЛР, в большинстве европейских стран до сих пор наблюдается отставание в области повышения успешности СЛР, выполняемой случайными прохожими [6]. В этих странах диспетчеры СМП также играют важную роль и вносят значительный вклад в улучшение выживаемости и исхода пациентов с внебольничной остановкой сердца (ВБОС), как это происходит во многих развитых странах мира [25–30]. Помимо предоставления инструкций, диспетчеры СМП играют важную роль в стимулировании лиц, не являющихся медработниками, к активным действиям [31]. В связи с этим СЛР с помощью диспетчера (СЛРПД) в значительной степени является альтернативой для улучшения исхода пациентов с ВБОС в развивающихся странах и в процессе обучения населения успешному выполнению СЛР. Тем не менее, во многих диспетчерских центрах экстренных служб нет протоколов СЛРПД, а многие из тех, у кого они есть, часто не предоставляют адекватных инструкций по СЛРПД [32].

В Сербии до сих пор нет полноценного протокола оказания помощи диспетчером скорой помощи. Однако результаты программы EuReCa\_Serbia 2014–2019 гг. показали, что СЛРПД в Сербии действительно ведет к более благоприятным исходам у пациентов с ВБОС [33].

Цель исследования — изучить влияние помощи диспетчера на достижение ВЭК, улучшение выживаемости на месте остановки кровообращения, выживаемости до выписки из

Great efforts are being made in order to improve the quality of CPR performed by bystanders including, but not limited to, public CPR training, mandatory CPR training for students, and messaging trained laypersons or first responders about local cardiac arrest sites. Those interventions and their association with bystander CPR quality have already been examined in recent studies [21]. Also, there is a well known importance of the dispatchers' role to support bystanders in providing CPR adequately [22–24].

Although some countries have achieved imposing results in BLS skills education of people towards better CPR performance, the major part of Europe is still behindhand regarding the overall success in CPR performed by bystanders [6]. In those countries, EMS dispatchers are also important participants with goal to significantly contribute towards better survival and outcome of patients with out-of-hospital cardiac arrest (OHCA), as it is the case in many developed countries in the world [25–30]. Besides providing instructions, EMS dispatchers have an important role to effectively encourage laypersons to act [31]. Therefore, dispatcher-assisted CPR (DA-CPR) is, in large extent, an alternative for better OHCA patients outcome in developing countries on their road towards education of people in successfully performing CPR procedures. However, many emergency-service dispatch centers do not have any DA-CPR protocols available, and many of those who have it frequently fail to provide adequate DACPR instructions [32].

Serbia still does not have fully developed emergency dispatcher assistance protocol. However, findings of the 2014–2019 EuReCa\_Serbia program showed that DA-CPR in Serbia does result in better outcome in patients with OHCA [33].

The aim of present study is to investigate the influence of dispatcher assistance in achieving ROSC, better survival at the scene, survival to discharge, and 30-day survival in patients with OHCA in Serbia.

## Materials and Methods

This study included epidemiological data on OHCA occurred on the territory of the Republic of Serbia. The data is collected through the questionnaire of the European Resuscitation Council's EuReCa\_ONE study. The criterion for admission was OHCA noted by the Emergency Medical Service. The research included data defined by the EuReCa\_ONE study protocol during the period October 1, 2014 — December 31, 2019. After completing the questionnaire, the data was entered into a unique database in each center.

In this study, data on the age of the patients, gender, time of EMS arrival, presence of a bystander, bystander CPR, the occurrence of ROSC, and data regarding subsequent hospitalization were analyzed.

EuReCa\_ONE is an international, prospective, multicenter study of the survival of patients (epidemiology,

стационара и 30-дневную выживаемости у пациентов с ВБОС в Сербии.

## Материал и методы

Данное исследование включило эпидемиологические данные об ВБОС, произошедших на территории Республики Сербия. Данные собрали с помощью анкеты исследования Европейского совета по реанимации EuReCa\_ONE. Критерием для госпитализации была ВБОС, зарегистрированная службой скорой медицинской помощи. В исследование включили данные, определенные протоколом исследования EuReCa\_ONE, за период с 1 октября 2014 г. по 31 декабря 2019 г. После заполнения анкеты данные вносили в отдельную базу данных в каждом центре.

В этом исследовании проанализировали данные о возрасте пациентов, поле, времени прибытия скорой помощи, присутствии случайного очевидца, сердечно-легочной реанимации, проведенной случайным очевидцем, ВЭК, а также — о последующей госпитализации.

EuReCa\_ONE — это международное, проспективное, многоцентровое исследование выживаемости пациентов (эпидемиология, лечение и исходы), перенесших ВБОС в Европе. Исследование зарегистрировали на сайте ClinicalTrials.gov с ID NCT02236819 Европейским советом по реанимации, а также службами скорой медицинской помощи Сербии, которые участвовали в сборе данных.

Статистический анализ данных проводили с использованием программных пакетов SPSS Statistics v26 и GraphPad Prism v8. Нормальность распределения данных проверяли путем расчета асимметрии и эксцесса  $z$ , после чего проводили описательные и аналитические статистические процедуры, включая  $t$ -тест, дисперсионный анализ и анализ ковариации для сравнения средних значений непрерывных переменных, а также тест  $\chi^2$  для категориальных переменных. Эти тесты использовали для определения связи между наличием сердечно-легочной реанимации со стороны случайных очевидцев как независимой переменной и ВЭК и другими переменными, характеризующими исход. Кроме того, для определения предсказательной ценности независимых переменных в отношении исхода использовали бинарную логистическую регрессию.

## Результаты и обсуждение

В рамках настоящего исследования провели статистический анализ данных 288 пациентов, которым была проведена СЛР случайным очевидцем. Эти пациенты входили в сербский регистр EuReCa, включающий 6266 пациентов с ВБОС (доля пациентов с ВБОС, которым была проведена СЛР случайными очевидцами, составила 4,6%). Средний возраст пациентов, получивших СЛР с помощью случайных очевидцев, составил 65 лет (межквартильный интервал 60–74). В эту группу входили шесть несовершеннолетних пациентов (до 18 лет) — два младенца и четыре ребенка школьного

(treatment and outcomes) who experienced OHCA in Europe. The study was registered under «ClinicalTrials.gov» ID NCT02236819 by the European Resuscitation Council, and emergency medical services in Serbia that participated in collecting the data.

Statistical analysis of data was performed using SPSS Statistics v26 and GraphPad Prism v8 software packages. Normality was tested by calculating skewness and kurtosis  $z$  values, which was followed by descriptive and analytic statistical procedures, including  $t$ -test, analysis of variance, and analysis of covariance for comparing continuous variables' means, as well as Chi-square test for categorical variables. Those tests were used to determine an association between the presence of bystander CPR as an independent variable and ROSC and other outcome variables. In addition, binary logistic regression was used to determine the predicting value of independent variables on the outcome.

## Results and Discussion

Statistical analysis of this study was performed on 288 patients receiving bystander CPR who were a part of the Serbian EuReCa registry consisting of 6266 patients with OHCA (the percentage of OHCA patients receiving bystander CPR was 4.6%). Median age of patients receiving CPR by bystander was 65 years (IQR 60–74). That group included six children (up to 18 years of age) — two infants and four school-aged children. Data was collected from 40 municipalities in Serbia consisting 48.7% of the Serbian population. The municipalities were enrolled in the study on a voluntary basis after sending enrollment invitations to the randomly selected sample of municipalities with dispatchers in their local EMS systems. More than three quarters of patients receiving CPR by bystander (75.7%) were 60 years of age or older, most of whom were 60–69 years old (52.3%).

Basic characteristics of patients included in this study with results of comparison between groups are shown in Table.

Dispatcher-assisted CPR performed by bystander occurred in 164 out of 288 cases (56.9%). AED was used in only two patients by bystander while DC shocks were delivered by the EMS in 77 patients. ROSC was achieved in 90 (31.3%) out of 288 patients receiving CPR by bystander.

Forty-four patients (15.3%) were hospitalized. Sixteen of those patients (36.4%) survived until the end of hospitalization. In the group of all 288 patients receiving CPR by bystander, only 17 (5.9%) survived 30 days after the resuscitation event.

Independent samples T test revealed no statistically significant difference in the number of days of hospitalization compared between dispatcher guided and not guided CPR groups. The same result was obtained by using analysis of variance and analysis of covariance.

On the other side, Chi-square test with post-hoc adjusted residual analysis for dispatcher assistance as an independent variable and status of pa-

### Анализ различий между группами участников исследования. Difference analysis between groups of participants.

| Parameters             |                              | Values in groups, n (%) |                      |                          | P value |
|------------------------|------------------------------|-------------------------|----------------------|--------------------------|---------|
|                        |                              | Total<br>288 (100.0)    | DA-CPR<br>164 (57.9) | non-DA-CPR<br>124 (43.1) |         |
| Gender                 | male                         | 181 (62.8)              | 100 (61.0)           | 81 (65.3)                | 0.85    |
|                        | female                       | 107 (37.2)              | 64 (39.0)            | 43 (34.7)                |         |
| Age (years)            | 0–19                         | 6 (2.1)                 | 2 (1.2)              | 4 (3.2)                  | 0.42    |
|                        | 20–39                        | 5 (1.7)                 | 3 (1.8)              | 2 (1.6)                  |         |
|                        | 40–60                        | 59 (20.5)               | 28 (17.1)            | 31 (25.0)                |         |
|                        | >60                          | 218 (75.7)              | 131 (79.9)           | 87 (70.2)                |         |
| Etiology               | cardiac                      | 261 (90.6)              | 149 (90.9)           | 112 (90.3)               | 0.96    |
|                        | trauma                       | 3 (1.1)                 | 2 (1.2)              | 1 (0.8)                  |         |
|                        | respiratory                  | 13 (4.5)                | 4 (2.4)              | 9 (7.3)                  |         |
|                        | other                        | 11 (3.8)                | 9 (5.5)              | 2 (1.6)                  |         |
| Place of OHCA          | residence                    | 194 (67.4)              | 117 (71.3)           | 77 (62.1)                | <0.01   |
|                        | long-term care               | 11 (3.8)                | 7 (4.3)              | 4 (3.2)                  |         |
|                        | work/office                  | 9 (3.1)                 | 5 (3.1)              | 4 (3.2)                  |         |
|                        | street                       | 22 (7.6)                | 15 (9.1)             | 7 (5.7)                  |         |
|                        | public building              | 19 (6.6)                | 10 (6.1)             | 9 (7.3)                  |         |
|                        | sports facility              | 5 (1.7)                 | 4 (2.4)              | 1 (0.8)                  |         |
|                        | ambulance car                | 3 (1.0)                 | 0 (0.0)              | 3 (2.4)                  |         |
|                        | other                        | 25 (8.7)                | 6 (3.7)              | 19 (15.3)                |         |
| Performed CPR elements | undefined                    | 55 (19.1)               | 22 (13.4)            | 33 (26.6)                | <0.01   |
|                        | compressions only            | 127 (44.1)              | 74 (45.1)            | 53 (42.7)                |         |
|                        | compressions and ventilation | 106 (36.8)              | 68 (41.5)            | 38 (30.6)                |         |
| First recorded rhythm  | not recorded                 | 93 (32.3)               | 93 (56.7)            | 0 (0.0)                  | 0.75*   |
|                        | shockable                    | 57 (19.8)               | 18 (11.0)            | 39 (31.5)                |         |
|                        | non-shockable                | 138 (47.9)              | 53 (32.3)            | 85 (68.5)                |         |

**Note.** CPR — cardiopulmonary resuscitation; DA-CPR — dispatcher-assisted cardiopulmonary resuscitation; OHCA — out-of-hospital cardiac arrest. \* — «not recorded» value excluded from the analysis.

**Примечание.** Values in groups — значения в группах; total — всего; DA-CPR — СЛРПД (сердечно-легочная реанимация с помощью диспетчера); non-DA-CPR — СЛР без ПД (сердечно-легочная реанимация без помощи диспетчера); gender, male, female — пол, мужской, женский; age (years) — возраст (лет); etiology — этиология; cardiac — кардиологическая; trauma — травматическая; respiratory — респираторная; другая — other; place of OHCA — место внебольничной остановки сердца; residence — дома; long-term care — лечебное учреждение для хронических больных; work/office — рабочее место; street — улица; public building — общественное здание; sports facility — спортивное учреждение; ambulance car — машина скорой помощи; performed CPR elements — выполненные элементы СЛР; undefined — нет информации; compressions only — только компрессии грудной клетки; compressions and ventilation — компрессии грудной клетки и искусственные вдохи; first recorded rhythm — первый зарегистрированный ритм; not recorded — нет информации; shockable/non-shockable — требующий/не требующий нанесения разряда дефибриллятора. \* — данные, по которым не было информации, исключили из анализа.

возраста. Данные собрали в 40 муниципалитетах Сербии, в которых проживает 48,7% населения Сербии. Муниципалитеты включили в исследование на добровольной основе, после рассылки приглашений к участию в исследовании по муниципалитетам, имеющим диспетчеров в своих местных системах экстренной медицинской помощи, согласно случайно отобранной выборке. Более трех четвертей пациентов, получивших СЛР с помощью очевидцев (75,7%), были в возрасте 60 лет и старше, большинство из них были в возрасте 60–69 лет (52,3%).

Основные характеристики пациентов, включенных в данное исследование, и результаты сравнения между исследуемыми группами представлены в таблице.

СЛР, выполненная случайным очевидцем с помощью диспетчера, имела место в 164 из 288 случаев (56,9%). АНД был использован очевидцами только в 2 случаях, в то время как электрический разряд постоянным током

tient during transport to hospital showed statistical significance in terms of transferring patient with ongoing CPR. Using Bonferroni correction, this test showed statistically higher number of patients being transferred with ongoing CPR in the group of patients who underwent dispatcher not-guided CPR performed by bystander before the EMS arrival compared to the group where CPR was guided by dispatcher ( $P=0.02$ , Fig. 1). In other circumstances, post-hoc adjusted residual test was not necessary due to the dichotomy of variables, and the results of Chi-square test showed statistically significant difference between the group of patients where CPR was guided by dispatcher and the group where it was not only in terms of survival to discharge, where higher mortality rate to discharge occurred in the group where CPR was dispatcher-assisted ( $P=0.013$ , Fig. 2). No statistical significance was observed between those two groups in terms of ROSC, death at the scene, and 30-day survival, although higher number of patients died at the scene when

был применен сотрудниками скорой помощи в 77 случаях. ВЭК было достигнуто у 90 (31,3%) из 288 пациентов, получивших сердечно-легочную реанимацию, выполненную случайными очевидцами.

Сорок четыре пациента (15,3%) были госпитализированы. Шестнадцать из этих пациентов (36,4%) выжили к моменту выписки. В группе из 288 пациентов, получивших СЛР от случайного очевидца, только 17 (5,9%) выжили через 30 дней после реанимационных мероприятий.

По результатам *t*-теста с независимой выборкой не выявили статистически значимой разницы в количестве дней госпитализации при сравнении между группами пациентов, которым проводилась СЛР при помощи диспетчера и без нее. Такой же результат получили при использовании дисперсионного анализа и анализа ковариации.

С другой стороны, тест  $\chi^2$  с *post-hoc* скорректированным остаточным анализом в отношении помощи диспетчера в качестве независимой переменной и статуса пациента во время транспортировки в больницу показал статистическую значимость в отношении перевозки пациента с продолжающейся сердечно-легочной реанимацией. При использовании поправки Бонферрони этот тест показал значимо большее число пациентов, перевезенных с продолжающейся сердечно-легочной реанимацией, в группе пациентов, которым проводилась сердечно-легочная реанимация, выполненная случайным прохожим до прибытия скорой помощи без помощи диспетчера, по сравнению с группой, где сердечно-легочная реанимация проводилась под руководством диспетчера ( $p=0,02$ , рис. 1). В других обстоятельствах проведение *post-hoc* скорректированного остаточного теста не потребовалось бы вследствие дихотомического характера переменных, а результаты простого теста  $\chi^2$  показали статистически значимую разницу между группой пациентов, где СЛР проводилась под руководством диспетчера, и группой, где она проводилась без участия диспетчера, только в плане выживаемости до выписки. При этом, как ни странно, более высокая смертность до выписки имела место в группе, где СЛР проводилась под руководством диспетчера ( $p=0,013$ , рис. 2).

Статистической значимости различий между этими двумя группами в отношении ВЭК, смерти на месте останова кровообращения и 30-дневной выживаемости не наблюдали, хотя большее число пациентов умерло на месте останова кровообращения, если СЛР проводилась при помощи диспетчера по сравнению с группой, где этого не было (66 по сравнению с 52,

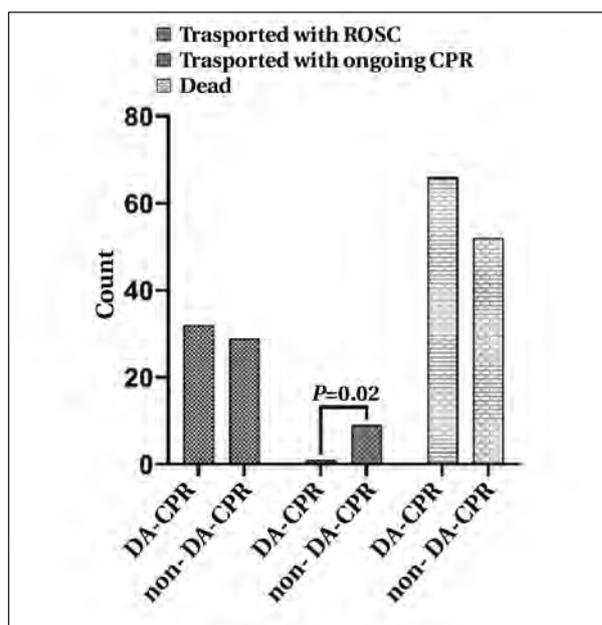


Рис. 1. Взаимосвязь между сердечно-легочной реанимацией с помощью диспетчера СМП и состоянием пациента во время его транспортировки

Fig. 1. Association between the presence of dispatcher-assisted cardiopulmonary resuscitation and patient status during transport

Note. CPR — cardiopulmonary resuscitation; DA-CPR — dispatcher-assisted cardiopulmonary resuscitation; ROSC — return of spontaneous circulation.

Примечание. Для рис. 1–3: count — количество; DA-CPR — СЛРПД (сердечно-легочная реанимация с помощью диспетчера); non-DA-CPR — СЛР без ПД (сердечно-легочная реанимация без помощи диспетчера); transported with ROSC — транспортировка с ВЭК (восстановление эффективного кровообращения); transported with ongoing CPR — транспортировка с продолжающейся СЛР (сердечно-легочная реанимация); dead — смерть.

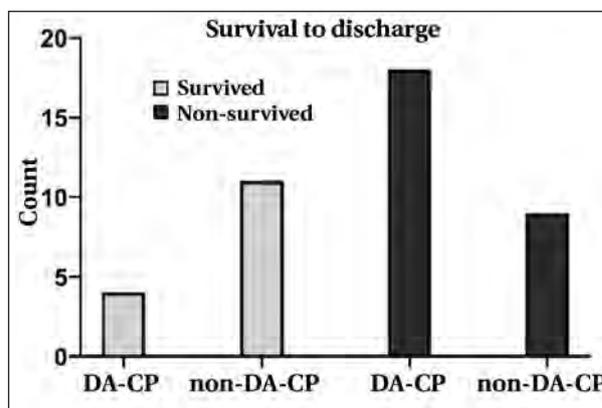


Рис. 2. Взаимосвязь между сердечно-легочной реанимацией с помощью диспетчера СМП и выживаемостью пациентов в период до выписки из стационара

Fig. 2. Association between the presence of dispatcher-assisted cardiopulmonary resuscitation and patient survival to discharge

Note. DA-CPR — dispatcher-assisted cardiopulmonary resuscitation.

Примечание. Survival to discharge — выживаемость до выписки из стационара; survived — выжили; not survived — не выжили.

соответственно;  $p=0,208$ ). Также не наблюдали значимой разницы между этими группами пациентов в количестве проведенных в больнице дней ( $p=0,080$ ) (рис. 3).

Логистическая регрессия не выявила влияния переменных, связанных с фактором помощи диспетчера, на ВЭК, даже когда в анализ были включены другие кофакторы. Однако важно подчеркнуть, что в изученной группе пациентов помощь диспетчера привела к несколько большему риску отсутствия ВЭК с отношением рисков, составившим 1,063.

В группе пациентов, доставленных в ближайшую больницу с ВЭК или продолжающейся СЛР и госпитализированных, влияние помощи диспетчера во время начальной СЛР на выживаемость до выписки продемонстрировали результатами логистического регрессионного анализа, согласно которым участие диспетчера стало значимым предиктором летального исхода во время госпитализации ( $p=0,017$ , ОШ 5,500, 95%ДИ 0,685–1,913).

В связи с тем, что в Европе ежегодно от ВБОС страдает около 700–800 000 человек, а их выживаемость в большинстве случаев составляет менее 10%, сердечно-легочная реанимация силами случайных очевидцев должна проводиться как можно более адекватно, поскольку она является одним из наиболее значимых предикторов выживаемости после ВБОС [1–5, 33–35].

Хотя частота начала сердечно-легочной реанимации у пациентов с ВБОС случайными очевидцами в Сербии все еще очень низкая [10], были предприняты большие усилия по совершенствованию системы СМП, особенно диспетчерской службы, которая, несомненно, требует дальнейшего совершенствования.

В 2020 году были опубликованы результаты исследования, проведенного для оценки влияния помощи диспетчера скорой помощи при выполнении СЛР случайными свидетелями на ВЭК у пациентов с ВБОС и показавшего не значимое отношение шансов для ВЭК, равное 1,2, в случаях, когда диспетчер участвовал в проведении СЛР [10]. Наше исследование, проведенное с аналогичной целью, тоже не выявило какого-либо положительного влияния помощи диспетчера. Фактически, настоящее исследование выявило всего лишь небольшое (на 6,3%), но не значимое, увеличение шансов на ВЭК в случаях, когда диспетчер не помогал случайному очевидцу в проведении сердечно-легочной реанимации.

Исследований, сравнивающих долгосрочные показатели выживаемости у пациентов, получивших СЛР от случайных свидетелей до вызова скорой помощи, и пациентов, которым очевидцы проводили СЛР под руководством

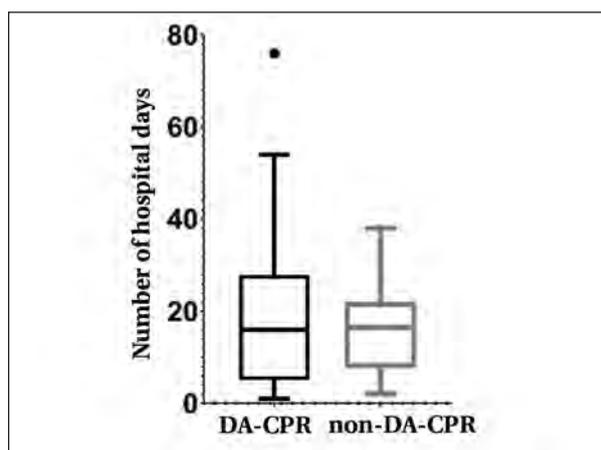


Рис. 3. Диаграмма размаха, иллюстрирующая связь между сердечно-легочной реанимацией с помощью диспетчера СМП и типичным количеством дней, проведенных в стационаре после внебольничной остановки сердца.

Fig. 3. Box-plot graph presenting the association between the presence of dispatcher-assisted cardiopulmonary resuscitation and representative values of number of hospital days of patients after out-of-hospital cardiac arrest.

Note. DA-CPR — dispatcher-assisted cardiopulmonary resuscitation.

Примечание. Number of hospital days — койко-день.

CPR was dispatcher assisted compared to the group when it was not the case (66 compared to 52, respectively;  $P=0.208$ ). Also, significant difference regarding the number of hospital days between those two groups of patients was not observed ( $P=0.080$ ) (Fig. 3).

Logistic regression showed no influence of variables connected with dispatcher assistance on ROSC occurrence, even when other cofactors were included in the analysis. However, it is important to emphasize that in our group of participants, assistance of dispatcher actually resulted in slightly greater risk of the absence of ROSC with odds ratio value of 1.063.

In the group of patients transported to the nearest hospital with ROSC or ongoing CPR and hospitalized, the influence of dispatcher assistance during the initial CPR on their survival until discharge was presented by logistic regression analysis as significant predictor of death outcome during hospitalization ( $P=0,017$ , OR 5,500, 95%CI=0,685–1,913).

As one of the most significant predictors of survival after OHCA, bystander CPR should be performed as adequately as possible, since approximately 700,000–800,000 people suffer from OHCA in Europe every year, with a survival rate below 10% in most cases [1–5, 33–35]

Although the frequency of CPR initiation in OHCA patients by bystanders is still very low in Serbia [10], great efforts have been made enhancing the EMS system, particularly the dispatcher service, which undoubtedly requires development.

диспетчера скорой помощи, пока недостаточно. В одной из последних работ, посвященных этой теме, выдвинута гипотеза о том, что проведение сердечно-легочной реанимации случайным очевидцем до вызова скорой помощи обеспечивает увеличение выживаемости пациентов с ВБОС. Однако, в этом исследовании никакой связи между наличием или отсутствием помощи диспетчера скорой помощи при проведении сердечно-легочной реанимации и ВЭК или выживаемостью в течение 30 дней выявлено не было [36]. Наше исследование также не обнаружило связи между помощью диспетчера во время СЛР и более длительным выживанием или укорочением срока пребывания в больнице у пациентов с ВБОС. Однако более низкая выживаемость пациентов с ВБОС, госпитализированных после ВЭК на фоне СЛР под руководством диспетчеров скорой помощи, предположительно, имеет те же причины, что и несколько более низкая частота ВЭК у этих пациентов.

Хотя помощь диспетчера может привести к повышению вероятности транспортировки пациента с ВБОС с продолжающейся сердечно-легочной реанимацией в приемное отделение ближайшего стационара, это, конечно, не является гарантией того, что ВЭК произойдет при оказании помощи специализированной бригадой в больнице. Более того, настоящее исследование не выявило разницы в частоте ВЭК между пациентами, получавшими СЛР под руководством диспетчера, и теми, кто получал СЛР от случайных очевидцев без помощи диспетчера. Кроме того, для группы пациентов, получавших СЛР под руководством диспетчера, характерна более высокая смертность.

Подобные необычные результаты могут иметь самые разные причины. Прежде всего, следует помнить о важности совершенствования всех компонентов СМП во всем мире. Как уже упоминалось, протоколы диспетчерской службы СМП в Сербии все еще далеки от совершенства, и причины более неблагоприятных исходов у пациентов с ВБОС при СЛРПД берут свое начало в кадровых проблемах и неполной компетентности диспетчеров в вопросах правильной диагностики остановки сердца, недостаточном стимулировании к активным действиям случайных прохожих, отсутствии координации работы отделов службы СМП, а главным фактором в данной ситуации является неадекватная прямая вербальная помощь в выполнении основных элементов «цепочки выживания».

Качественное образование сотрудников СМП подразумевает не только получение медицинских знаний с упором на неотложные состояния, но и общую готовность и правильную реакцию в условиях дефицита времени и

Compared to the study published in 2020 with a similar goal to measure the impact of EMS dispatcher assistance in bystander CPR performance on ROSC in OHCA patients, showing the non-significant odds ratio for ROSC of 1.2 in cases when dispatcher was involved in providing CPR measures [10], our study did not find any positive influence of dispatcher assistance. As a matter of fact, the present study revealed 6.3% greater chance for ROSC in cases where dispatchers did not assist bystanders in performing CPR. The finding, however, was also non-significant.

Regarding long-term results, there is a lack of research comparing long-term survival rates between patients receiving bystander CPR before the emergency call and patients who received bystander CPR during the emergency call following instructions provided by dispatchers. One of the recent studies investigating the latter topic hypothesized that initiation of bystander CPR prior to the EMS call associated with an increase in survival rates of OHCA patients. However, no association related to the presence or absence of EMS dispatcher assistance at a bystander CPR and ROSC or 30-day survival was observed [36]. Our study also showed no connection between dispatcher assistance during CPR and longer survival or shorter hospital stay in OHCA patients. Lower survival of OHCA patients hospitalized after establishing ROSC when CPR was guided by EMS dispatchers should suggest to have the same origins as the finding of slightly lower ROSC in these patients.

Although dispatcher assistance could lead to the higher probability of transporting OHCA patients with ongoing CPR to the nearest emergency unit, this is certainly not guarantee that ROSC will be achieved by professional teams in the hospital. Moreover, the present study showed no difference in terms of ROSC occurring between patients receiving CPR guided by dispatcher and those who received bystander CPR without dispatcher assistance. Besides, a higher mortality rate has been observed in those patients receiving DA-CPR.

These unusual findings could have many origins. Also, it should especially emphasize the importance of improvement of each EMS component worldwide. As already mentioned, the EMS dispatcher service protocol has not yet been completely developed in Serbia, and the reasons for poorer outcomes in OHCA patients with DA-CPR have its origin from the staffing process and the full competence of dispatchers to the proper recognition of cardiac arrest, encouragement of bystanders, coordination of EMS service departments, as well as the main aspect — direct verbal assistance in performing basic chain of survival elements.

High-quality education of EMS officers includes not, only medical knowledge with a focus on emergency conditions, but also overall preparedness

пространства, что, безусловно, является сильным стрессом. Преодоление стресса и устойчивость к стрессу почти в равной степени важны и для диспетчеров в промежутке между вызовом СМП, и прибытием бригады скорой помощи. Из этого следует, что обучение диспетчеров должно включать не только строгое знание порядка выполнения всех звеньев «цепи выживания» в соответствии с последними рекомендациями, но и правильное распознавание остановки сердца, оценку всех показаний для выполнения каждого отдельного этапа процедуры СЛР, а также — всестороннюю оценку места происшествия и разумное использование всех имеющихся ресурсов, включая человеческие и временные. Раннее распознавание остановки сердца случайными очевидцами и/или медицинскими диспетчерами как самый первый шаг, необходимый для принятия решения о проведении СЛР, может сыграть существенную роль в выживании пациентов с ВБОС, и это хорошо известно. В таких ситуациях важна каждая секунда, поэтому диспетчеры должны не только уметь справляться со своим стрессом, но и уменьшать стресс у очевидцев, помогать им устранять барьеры при начале СЛР или восстановлении уже имеющихся знаний о методике СЛР, а также способствовать правильному проведению компрессии грудной клетки и вентиляции легких, чтобы можно было сделать все возможное для спасения жизни пациентов.

Обучение диспетчеров СМП само по себе недостаточно, так как достаточное их количество также является важным фактором правильной работы телефонной службы СМП, а также — предотвращения синдрома выгорания. Диспетчеры скорой помощи испытывают значительный стресс (37), который является существенным источником синдрома выгорания, в связи с чем необходимо создать благоприятные условия работы с более частой сменой работников в центрах СМП, чтобы общая готовность диспетчеров СМП при оказании помощи на каждом этапе СЛР была доведена до максимально возможного уровня. Концентрация внимания на этих моментах было бы отличным вкладом в спасение человеческих жизней и в ослабление давления на больницы и систему здравоохранения в целом. Лицам, принимающим решения, важно знать эффективность и приоритетность стратегий, необходимых для повышения качества СЛР, выполняемой случайными очевидцами, а также роль диспетчеров СМП в обществе.

Диспетчеры и мобильные бригады СМП должны быть всегда на связи, а диспетчеры должны обеспечивать прочную связь между случайными очевидцами и мобильными брига-

and proper reaction in time and space-limiting conditions which are certainly highly stressful. Coping stress and resilience are almost equally important for dispatchers as well in those minutes between EMS call and the arrival of paramedics. This should implicate that the education of dispatchers must not include only strict knowledge of orderly performing all links of the chain of survival according to the latest recommendations, but also proper recognition of cardiac arrest, evaluation of all indications for performing every single step in CPR procedure, as well as comprehensive evaluation of scene and wise utilization of all available resources, including human and time resources. Early recognition of cardiac arrest by bystanders and/or medical dispatchers as the very first step necessary in CPR decision-making process, may play an essential role in survival of OHCA patients, and it is very well recognized. It is known that every single second in these situations is essential, and it is of paramount importance for dispatchers not only to have capabilities to cope with their own stress, but also to reduce stress in bystanders, help them remove barriers, initiate CPR or recall existing CPR procedure knowledge, and promote proper chest compressions and ventilations so that it can be performed whatever is possible to save the life of patients whose heart and lungs stopped functioning.

The education of EMS dispatchers itself is not sufficient since the satisfactory number of dispatchers is also a significant factor in proper operations of EMS telephone service, as well as the prevention of dispatchers' burnout syndrome. Emergency dispatchers suffer considerable stress [37], which is a substantial source of burnout syndrome and benefited work conditions should be instituted with higher frequency of changing shifts in EMS centers, so that overall preparedness of EMS dispatchers in assisting every step during the bystander CPR process could be brought to the highest possible level. Focusing on these points would be an excellent investment in saving people's lives and releasing pressure on hospitals and the healthcare system in general. It is important for decision-makers to know the effect and the prioritization of strategies needed to improve bystander CPR and the role of EMS dispatchers in the community.

EMS dispatchers and mobile EMS teams should always be connected, and dispatchers must be strong connection between bystanders and mobile teams before their arrival on the scene. Also, EMS dispatchers and bystanders should not operate separately, but as a team. Still, the vast majority of general population fears providing CPR measures due to the absence of adequate knowledge and other reasons. Therefore, the cooperation between bystanders and EMS dispatchers are essential so that DA-CPR process can be performed successfully. Identification of bystanders' potential

дами до их прибытия на место остановки кровообращения. Кроме того, диспетчеры СМП и случайные очевидцы должны действовать не по отдельности, а как единая команда. Тем не менее, подавляющая часть населения боится проводить сердечно-легочную реанимацию из-за отсутствия достаточных знаний и по другим причинам. Поэтому сотрудничество между случайными прохожими и диспетчерами скорой помощи необходимо для успешного проведения СЛРПД. Выявление потенциальных опасений очевидцев также является важной частью работы диспетчера, и эти опасения могут быть преодолены с помощью комплексной образовательной кампании среди населения. Выявление поводов для таких опасений перед проведением СЛР, а также причин некоторого негативного влияния помощи диспетчера в случаях СЛР с участием случайных очевидцев, несомненно, повысит качество протоколов СЛРПД, улучшит взаимодействие со случайными очевидцами и результаты СЛР без дополнительной профессиональной помощи.

Вышеупомянутые взаимоотношения между диспетчерами скорой помощи и случайными прохожими позволяют затронуть еще одну тему — уровень образования населения. Исходя из слабого развития этой области в Сербии, безусловно, можно предположить негативное влияние данного фактора на результаты, полученные в настоящем исследовании. Даже в том случае, если диспетчеры СМП имеют соответствующее образование и подготовку, не менее важным фактором является просвещение всех граждан для более глубокого понимания основных принципов реаниматологии, а значит и получения качественных результатов при проведении СЛРПД. Диспетчеры скорой помощи всегда должны уметь дистанционно и правильно объяснить постороннему человеку каждый шаг методики сердечно-легочной реанимации. Однако без элементарного обучения населения мерам СЛР время успешного внедрения этих мер значительно затянется, что в совокупности негативно скажется на результатах СЛРПД. Все перечисленные факторы могли оказать влияние на полученные результаты. Кроме того, в данном исследовании не анализировали состав случайных очевидцев, выполняющих СЛР и уровень их подготовки в ее проведении, что также могло оказать свое влияние. Хотя эти данные не являлись первичной конечной точкой или целью данного исследования, анализ вышеупомянутых аспектов заслуживает внимания в будущих исследованиях.

В связи с тем, что главной целью исследования было представление основных эпидемиологических данных, в частности — результатов СЛРПД в Сербии, и тот факт, что мы использовали только локальные данные, полученные

fears is also an important part of dispatcher's job and some comprehensive educational campaign in general population could overcome those fears. Identification of the causes of bystanders' fear of performing CPR as well as reasons for the somewhat negative influence of dispatcher assistance in bystander CPR cases will undoubtedly improve DA-CPR protocols, increase bystander cooperation, and improve results of bystander CPR without any additional professional help.

Above mentioned relation between EMS dispatchers and bystanders opens another topic of general population education. Taking into consideration the poor development of this area in Serbia, there is certainly a space for the negative influence of this factor on results presented in this study. Even in the case where EMS dispatchers are properly educated and trained, an almost equally important factor is the education of all citizens, in order to achieve better understanding of basic principles of resuscitation medicine, and by that high-quality results of performing DA-CPR. There is always the need for EMS dispatchers' capability to remotely properly explain every single step of CPR technique to a bystander-layperson. But without elementary education of the general population in providing CPR measures time for successful implementation of those measures will prolong significantly and this cumulative factor will consequently have a negative influence on DA-CPR outcomes. All these suggested factors could affect the presented results. Besides, this study did not analyze the structure of bystanders performing CPR measures, and their training in providing CPR, which could also be an influencing factor. Although these topics were not a primary endpoint nor the goal of this study, analysis of above-mentioned aspects should be the area to focus on in future investigations.

Due to the fact that the main aim of this study was to present the basic epidemiological and specifically DA-CPR results in Serbia, and that we used the data collected within the territory of that country, the results presented can be applied solely on Serbia and can not be generalized and applied for any other country or region. Therefore, the main purpose of these results is to concentrate more focus on improvement of general population education, bystander inclusion, and professional development of emergency dispatchers throughout the world. Further analyses are needed in separate geographical regions in order to detect individual strengths and shortcomings of this area.

These topics imply several limitations of our study. First, the main limitation is the observational design of the study; as a result, we have been capable only reporting the relations between variables and not specific causality. Furthermore, the number of OHCA patients that was defibrillated by AED was negligible in our population ( $n=2$ ), so no valid

результаты могут быть применены исключительно к Сербии и не могут быть распространены на любые другие страны и регионы. Основное значение полученных результатов — в необходимости сосредоточить больше внимания на улучшении общего образования населения, привлечении сторонних наблюдателей и профессиональном развитии диспетчеров по чрезвычайным ситуациям во всем мире. Понадобится дальнейший анализ в разных географических регионах, чтобы выявить конкретные сильные и слабые стороны в этой области.

Из этого вытекают многие ограничения проведенного исследования. Во-первых, основным ограничением является обсервационный дизайн исследования; в результате мы можем сообщить только о наличии определенной зависимости между разными параметрами, но не о конкретной причинно-следственной связи. Кроме того, количество пациентов с ВБОС, которым была проведена дефибриляция с помощью АНД, в изученной популяции было незначительным ( $n=2$ ), в связи с чем мы не смогли получить каких-либо убедительных результатов (вследствие малого размера группы). В-третьих, относительно небольшое количество пациентов, получивших сердечно-легочную реанимацию с помощью случайных очевидцев и включенных в данное исследование (по сравнению с общим количеством пациентов с остановкой сердца в регистре), потенциально изменяет значимость данных о связи между влиянием помощи диспетчера на выживаемость и исход у пациентов с ВБОС, так как СЛР, выполненная случайными очевидцами, все же оказывает большее воздействие на эти переменные в силу своего непосредственного эффекта. Поскольку в нашем исследовании участвовали только пациенты, получавшие СЛР от лиц, не являющихся медицинскими работниками, и не были включены те, кто вообще не получал СЛР вплоть до прибытия скорой помощи, основное внимание должно уделяться всестороннему обучению всех граждан, а эффективность принимаемых мер должна быть еще больше повышена за счет привлечения диспетчеров скорой помощи.

СЛР с помощью диспетчера проводилась у 57,9% пациентов с ВБОС, включенных в данное исследование. Сравнивая эту группу с группой пациентов с ВБОС, получавших СЛР без помощи диспетчера скорой помощи, мы не обнаружили существенной связи между наличием/отсутствием помощи диспетчера и ВЭК или 30-дневной выживаемостью. Наблюдали незначимую связь между СЛРПД и несколько более высокой вероятностью отсутствия ВЭК. Хотя помощь диспетчера привела к увеличению числа пациентов с продолжающейся сердечно-легочной реанимацией, доставленных в

результаты могут быть получены из-за малой популяции АЭД-леченных пациентов. Третье, относительно малое количество пациентов, получивших СЛР от случайных очевидцев в этом исследовании (по сравнению с общим количеством пациентов с остановкой сердца в регистре) могло потенциально повлиять на мощность для определения эффекта помощи диспетчера на выживаемость и исход у пациентов с ОНКА, поскольку процедуры, выполняемые случайными очевидцами, все же оказывают большее воздействие на эти переменные из-за их более прямого эффекта по сравнению с помощью диспетчера. Конечно, поскольку наше исследование включало только пациентов, получивших СЛР от случайных очевидцев и не включало тех, кто не получал СЛР до прибытия скорой помощи, это должно подсказать, что ключевым фокусом на самом деле должно быть всестороннее образование всех граждан, и их производительность должна быть еще больше продвинута с помощью диспетчеров.

Помощь диспетчера при СЛР была замечена у 57,9% пациентов с ОНКА, включенных в это исследование. Сравнивая эту группу с группой пациентов с ОНКА, получивших СЛР от случайных очевидцев без помощи диспетчера, мы не обнаружили значимой связи между наличием/отсутствием помощи диспетчера и РОС, или 30-дневной выживаемостью. СЛРПД была фактически незначительно ассоциирована с несколько более высокими шансами на отсутствие РОС. Хотя помощь диспетчера привела к значимо большему количеству пациентов, доставленных в ближайшую больницу с СЛР, она также была связана с незначительно более высокими показателями смертности на месте остановки кровообращения. СЛРПД также не оказала благоприятного эффекта на выживаемость до сроков выписки из стационара и была связана с даже более низкими показателями выживаемости.

## Conclusion

The study findings are the base/ground which highlights the need of implementation of existing and development of new guidelines regarding high-quality professional training of EMS dispatchers as well as BLS education of general population.

ближайшую больницу, она также была связана с незначительно более высокими показателями смертности на месте остановки кровообращения. СЛРПД также не оказала благоприятного эффекта на выживаемость до сроков выписки из стационара и была связана с даже более низкими показателями выживаемости.

## Заклучение

Результаты исследования являются основанием для внедрения существующих и разработки новых рекомендаций по высококачественной профессиональной подготовке диспетчеров СМП, а также по обучению населения оказанию базовых реанимационных мероприятий.

## Литература/References

- Tran A., Fernando S.M., Rochweg B., Vaillancourt C., Inaba K., Kyeremanteng K., Nolan J.P., McCredie V.A., Petrosioniak A., Hicks C., Haut E.R., Perry J.J. Pre-arrest and intra-arrest prognostic factors associated with survival following traumatic out-of-hospital cardiac arrest — A systematic review and meta-analysis. *Resuscitation*. 2020; 153: 119–135. DOI: 10.1016/j.resuscitation.2020.05.052. Epub 2020 Jun 9. PMID: 32531405.
- Alqudah Z., Nehme Z., Alrauwashdeh A., Williams B., Oteir A., Smith K. Paediatric traumatic out-of-hospital cardiac arrest: A systematic review and meta-analysis. *Resuscitation*. 2020; 149: 65–73. DOI: 10.1016/j.resuscitation.2020.01.037. Epub 2020 Feb 15. PMID: 32070780.
- Paiva E.F., Paxton J.H., O'Neil B.J. The use of end-tidal carbon dioxide (ETCO<sub>2</sub>) measurement to guide management of cardiac arrest: A systematic review. *Resuscitation*. 2018; 123: 1–7. DOI: 10.1016/j.resuscitation.2017.12.003. Epub 2017 Dec 5. PMID: 29217394.
- Zhang Q., Qi Z., Liu B., Li C. Predictors of survival and favorable neurological outcome in patients treated with targeted temperature management after cardiac arrest: A systematic review and meta-analysis. *Heart Lung*. 2018; 47 (6): 602–609. DOI: 10.1016/j.hrtlng.2018.07.005. Epub 2018 Aug 16. PMID: 30119843.
- van de Glind E.M., van Munster B.C., van de Wetering F.T., van Delden J.J., Scholten R.J., Hoof L. Pre-arrest predictors of survival after resuscitation from out-of-hospital cardiac arrest in the elderly: a systematic review. *BMC Geriatr*. 2013; 13: 68. DOI: 10.1186/1471-2318-13-68. PMID: 23819760; PMCID: PMC3711933.
- Gräsner J.T., Wnent J., Herlitz J., Perkins G.D., Lefering R., Tjelmeland I., Koster R.W., Masterson S., Rossell-Ortiz F., Maurer H., Böttiger B.W., Moertl M., Mols P., Alihodžić H., Hadžibegović I., Ioannides M., Truhlář A., Wissenberg M., Salo A., Escutnaire J., Nikolaou N., Nagy E., Jonsson B.S., Wright P., Semeraro E., Clarens C., Beesems S., Cebula G., Correia V.H., Cimpoesu D., Raffay V., Trenkler S., Markota A., Strömsöe A., Burkhardt R., Booth S., Bossaert L. Survival after out-of-hospital cardiac arrest in Europe — Results of the EuReCa TWO study. *Resuscitation*. 2020; 148: 218–226. DOI: 10.1016/j.resuscitation.2019.12.042. Epub 2020 Feb 3. PMID: 32027980.
- Budimski M., Jaksic-Horvat K., Momirovic-Stojkovic M., Fiser Z. EuReCa Serbia 2015–2016: Two-year analysis. *Journal Resuscitatio Balcanica*, 2017; 3 (7): 18–21. DOI: 10.5937/jrb1706018b.
- Hawkes C., Booth S., Ji C., Brace-McDonnell S.J., Whittington A., Mapstone J., Cooke M.W., Deakin C.D., Gale C.P., Fothergill R., Nolan J.P., Rees N., Soar J., Siriwardena A.N., Brown T.P., Perkins G.D.; OHCAO collaborators. Epidemiology and outcomes from out-of-hospital cardiac arrests in England. *Resuscitation*. 2017; 110: 133–140. DOI: 10.1016/j.resuscitation.2016.10.030. Epub 2016 Nov 17. PMID: 27865775.
- Schnaubelt S., Monsieurs K.G., Semeraro F., Schlieber J., Cheng A., Bigham B.L., Garg R., Finn J.C., Greif R.; International Liaison Committee on Resuscitation Education, Implementation, Teams Task Force. Clinical outcomes from out-of-hospital cardiac arrest in low-resource settings — A scoping review. *Resuscitation*. 2020; 156: 137–145. DOI: 10.1016/j.resuscitation.2020.08.126. Epub 2020 Sep 10. PMID: 32920113.
- Lazić A., Milić S., Fišer Z. Dispatcher-assisted resuscitation: EuReCa Serbia 2014–2019. *Journal Resuscitatio Balcanica*. 2020; 6 (15): 233–236. DOI: 10.5937/jrb5-27194.
- Tzeng C.F., Lu C.H., Lin C.H. Community Socioeconomic Status and Dispatcher-Assisted Cardiopulmonary Resuscitation for Patients with Out-of-Hospital Cardiac Arrest. *Int J Environ Res Public Health*. 2021 Jan 29; 18 (3): 1207. DOI: 10.3390/ijerph18031207. PMID: 33572872; PMCID: PMC7908125.
- Riva G., Jonsson M., Ring M., Claesson A., Djäru T., Forsberg S., Nordberg P., Rubertsson S., Raushani A., Nord A., Hollenberg J. Survival after dispatcher-assisted cardiopulmonary resuscitation in out-of-hospital cardiac arrest. *Resuscitation*. 2020; 157: 195–201. DOI: 10.1016/j.resuscitation.2020.08.125. Epub 2020 Sep 10. PMID: 32918983.
- Panchal A.R., Berg K.M., Cabañas J.G., Kurz M.C., Link M.S., Del Rios M., Hirsch K.G., Chan P.S., Hazinski M.E., Morley P.T., Donnino M.W., Kudenchuk P.J. 2019 American Heart Association Focused Update on Systems of Care: Dispatcher-Assisted Cardiopulmonary Resuscitation and Cardiac Arrest Centers: An Update to the American Heart Association Guidelines for Cardiopulmonary Resuscitation and Emergency Cardiovascular Care. *Circulation*. 2019; 140 (24): e895–e903. DOI: 10.1161/CIR.0000000000000733. Epub 2019 Nov 14. PMID: 31722563.
- Raffay V., Tjanić J., Fiser Z.Z. Participation of laypersons in the initiation of cardiopulmonary resuscitation: Why laymen do not help? EuReCa Serbia. *Journal Resuscitatio Balcanica*. 2017; 3 (7): 41–45. DOI: 10.5937/JRB1707017R.
- Kragholm K., Wissenberg M., Mortensen R.N., Hansen S.M., Malta Hansen C., Thorsteinsson K., Rajan S., Lippert F., Folke E., Gislason G., Køber L., Fonager K., Jensen S.E., Gerds T.A., Torp-Pedersen C., Rasmussen B.S. Bystander Efforts and 1-Year Outcomes in Out-of-Hospital Cardiac Arrest. *N Engl J Med*. 2017; 376 (18): 1737–1747. DOI: 10.1056/NEJMoa1601891. PMID: 28467879.
- Pollack R.A., Brown S.P., Rea T., Aufderheide T., Barbic D., Buick J.E., Christenson J., Idris A.H., Jasti J., Kampp M., Kudenchuk P., May S., Muhr M., Nichol G., Ornato J.P., Sopko G., Vaillancourt C., Morrison L., Weisfeldt M.; ROC Investigators. Impact of Bystander Automated External Defibrillator Use on Survival and Functional Outcomes in Shockable Observed Public Cardiac Arrests. *Circulation*. 2018; 137 (20): 2104–2113. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.117.030700. Epub 2018 Feb 26. PMID: 29483086; PMCID: PMC5953778.
- Xu F., Zhang Y., Chen Y. Cardiopulmonary Resuscitation Training in China: Current Situation and Future Development. *JAMA Cardiol*. 2017; 2 (5): 469–470. DOI: 10.1001/jamacardio.2017.0035. PMID: 28297007.
- Raffay V., Fišer Z., Tjanić J., Jaksic-Horvat K., Budimski M., Holcer-Vukelić S. Preporuke 2015 — Međunarodni naučni konsenzus o kardiopulmonalnoj reanimaciji. *Journal Resuscitatio Balcanica*. 2016; 2 (3): 5–20. DOI: 10.5937/JRB1603005R.
- Perkins G.D., Graesner J.T., Semeraro F., Olasveengen T., Soar J., Lott C., Van de Voorde P., Madar J., Zideman D., Mentzelopoulos S., Bossaert L., Greif R., Monsieurs K., Svavarsdóttir H., Nolan J.P.; European Resuscitation Council Guideline Collaborators. European Resuscitation Council Guidelines 2021: Executive summary. *Resuscitation*. 2021; 161: 1–60. DOI: 10.1016/j.resuscitation.2021.02.003. Epub 2021 Mar 24. PMID: 33773824.
- Hasselqvist-Ax I., Riva G., Herlitz J., Rosenqvist M., Hollenberg J., Nordberg P., Ringh M., Jonsson M., Axelsson C., Lindqvist J., Karlsson T., Svensson L. Early cardiopulmonary resuscitation in out-of-hospital cardiac arrest. *N Engl J Med*. 2015; 372 (24): 2307–2315. DOI: 10.1056/NEJMoa1405796. PMID: 26061835.
- Yu Y., Meng Q., Mumot S., Nguyen T.N., Redfern J., Chow C.K. Assessment of Community Interventions by Bystander Cardiopulmonary Resuscitation in Out-of-Hospital Cardiac Arrest: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Netw Open*. 2020; 3 (7): e209256. DOI: 10.1001/jamanetworkopen.2020.9256. PMID: 32609351; PMCID: PMC7330721.
- Eisenberg M.S., Hallstrom A.P., Carter W.B., Cummins R.O., Bergner L., Pierce J. Emergency CPR instruction via telephone. *Am J Public Health*. 1985 Jan; 75 (1): 47–50. DOI: 10.2105/ajph.75.1.47. PMID: 3966598; PMCID: PMC1646147.
- Resuscitation Academy. The Road to Recognition and Resuscitation; The Role of Telecommunicators and Telephone CPR Quality Improvement in Cardiac Arrest Survival. Resuscitation Academy; 2017.
- Ng Y.Y., Leong S.H., Ong M.E. The role of dispatch in resuscitation. *Singapore Med J*. 2017; 58 (7): 449–452. DOI: 10.11622/smedj.2017059. PMID: 28741009; PMCID: PMC5523099.
- Tjelmeland I.B.M., Masterson S., Herlitz J., Wnent J., Bossaert L., Rossell-Ortiz F., Alm-Kruse K., Bein B., Lilja G., Gräsner J.T.; GL2020 Epidemiology group and participating countries. Description of Emergency Medical Services, treatment of cardiac arrest patients and cardiac arrest registries in Europe. *Scand J Trauma Resusc Emerg Med*. 2020 Oct 19; 28 (1): 103. DOI: 10.1186/s13049-020-00798-7. PMID: 33076942; PMCID: PMC7569761.
- Kurz M.C., Bobrow B.J., Buckingham J., Cabanas J.G., Eisenberg M., Fromm P., Panczyk M.J., Rea T., Seaman K., Vaillancourt C.; American Heart Association Advocacy Coordinating Committee. Telecommunicator Cardiopulmonary Resuscitation: A Policy Statement from the American Heart Association. *Circulation*. 2020; 141 (12): e686–e700. DOI: 10.1161/CIR.0000000000000744. Epub 2020 Feb 24. PMID: 32088981.
- Teo M.H.N., Wong W.E.J., Daniel P.C.N., Kweh R.H.C., Ho R.Y.J., Koh J.H., Leong S.B., Pang J., Huang Y.J. The use of dispatcher assistance in improving the quality of cardiopulmonary resuscitation: A randomised controlled trial. *Resuscitation*. 2019; 138: 153–159. DOI: 10.1016/j.resuscitation.2019.03.003. Epub 2019 Mar 12. PMID: 30876922.
- Harjanto S., Na M.X., Hao Y., Ng Y.Y., Doctor N., Goh E.S., Leong B.S., Gan H.N., Chia M.Y., Tham L.P., Cheah S.O., Shahidah N., Ong M.E.; PAROS study group. A before-after interventional trial of dispatcher-assisted cardio-pulmonary resuscitation for out-of-hospital cardiac arrests in Singapore. *Resuscitation*. 2016; 102: 85–93. DOI: 10.1016/j.resuscitation.2016.02.014. Epub 2016 Mar 2. PMID: 26944042.
- Hagihara A., Onozuka D., Shibuta H., Hasegawa M., Nagata T. Dispatcher-assisted bystander cardiopulmonary resuscitation and survival in out-of-hospital cardiac arrest. *Int J Cardiol*. 2018; 265: 240–245. DOI: 10.1016/j.ijcard.2018.04.067. Epub 2018 Apr 19. PMID: 29703565.
- Ageron E.X., Debay G., Gayet-Ageron A., Belle L., Gaillard A., Monnet M.F., Bare S., Richard J.C., Danel V., Perfus J.P., Savary D. Impact of an emergency medical dispatch system on survival from out-of-hospital cardiac arrest: a population-based study. *Scand J Trauma Resusc Emerg Med*. 2016; 24: 53. DOI: 10.1186/s13049-016-0247-y. PMID: 27103151; PMCID: PMC4840865.
- Vaillancourt C., Verma A., Trickett J., Crete D., Beaudoin T., Nesbitt L., Wells G.A., Stiell I.G. Evaluating the effectiveness of dispatch-assisted cardiopulmonary resuscitation instructions. *Acad Emerg Med*. 2007 Oct; 14 (10): 877–883. doi: 10.1197/j.aem.2007.06.021. Epub 2007 Aug 29. PMID: 17761545.
- Global Resuscitation Alliance. Improving Survival of Out-of-Hospital Cardiac Arrest; Acting on the Call. 2018 Update from the Global Resuscitation Alliance. Including 27 Case Reports. United States; 2018. Available at: [https://www.cercp.org/images/stories/recursos/articulos\\_docs\\_interes/doc\\_GRA\\_Acting\\_on\\_the\\_call\\_1.2018.pdf](https://www.cercp.org/images/stories/recursos/articulos_docs_interes/doc_GRA_Acting_on_the_call_1.2018.pdf). [Accessed on March 23, 2021]

33. Gräsner J.T., Herlitz J., Tjelmeland I.B.M., Wnent J., Masterson S., Lilja G., Bein B., Böttiger B.W., Rosell-Ortiz F., Nolan J.P., Bossaert L., Perkins G.D. European Resuscitation Council Guidelines 2021: Epidemiology of cardiac arrest in Europe. *Resuscitation*. 2021; 161: 61–79. DOI: 10.1016/j.resuscitation.2021.02.007. Epub 2021 Mar 24. PMID: 33773833.
34. Gräsner J.T., Lefering R., Koster R.W., Masterson S., Böttiger B.W., Herlitz J., Wnent J., Tjelmeland I.B., Ortiz F.R., Maurer H., Baubin M., Mols P., Hadžibegović I., Ioannides M., Škulec R., Wissenberg M., Salo A., Hubert H., Nikolaou N.I., Lóczy G., Svavarsdóttir H., Semeraro F., Wright P.J., Clarens C., Pijls R., Cebula G., Correia V.G., Cimpoesu D., Raffay V., Trenkler S., Markota A., Strömsøe A., Burkart R., Perkins G.D., Bossaert L.L.; EuReCa ONE Collaborators. EuReCa ONE-27 Nations, ONE Europe, ONE Registry: A prospective one month analysis of out-of-hospital cardiac arrest outcomes in 27 countries in Europe. *Resuscitation*. 2016; 105: 188–95. DOI: 10.1016/j.resuscitation.2016.06.004. Epub 2016 Jun 16. Erratum in: *Resuscitation*. 2016; 109: 145–146. PMID: 27321577.
35. Yan S., Gan Y., Jiang N., Wang R., Chen Y., Luo Z., Zong Q., Chen S., Lu C. The global survival rate among adult out-of-hospital cardiac arrest patients who received cardiopulmonary resuscitation: a systematic review and meta-analysis. *Crit Care*. 2020; 22; 24 (1): 61. DOI: 10.1186/s13054-020-2773-2. PMID: 32087741; PMCID: PMC7036236.
36. Viereck S., Palsgaard Møller T., Kjær Ersbøll A., Folke F., Lippert F. Effect of bystander CPR initiation prior to the emergency call on ROSC and 30day survival-An evaluation of 548 emergency calls. *Resuscitation*. 2017; 111: 55–61. DOI: 10.1016/j.resuscitation.2016.11.020. Epub 2016 Dec 5. PMID: 27923114.
37. Hilaire Schneider C., Saint-Cast A., Michelland L., de Stefano C., Radou L., Chouïed T., Savary D., Gueye P., Jehel L., Lapostolle L. Répercussions psychologiques de la prise en charge des appels d'urgence sur les assistants de régulation médicale (ARM) d'un SAMU-Centre 15. *L'Encéphale*. 2020. DOI: 10.1016/j.encep.2020.06.012.

Received 2021.05.11

## Анализ мгновенных параметров сигнала ЭЭГ на основании разложения по эмпирическим модам в применении к паттерну «вспышка-подавление» при анестезии пропофолом

Г. Соболова<sup>1</sup>, М. С. Фабус<sup>2</sup>, М. Фишер<sup>1</sup>, М. Дробны<sup>1\*</sup>, Б. Дробна-Саниова<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Братиславский университет им. Коменского, медицинский факультет Ессениуса в Мартине,  
Университетская клиника, Клиника анестезиологии и интенсивной медицины,  
Словацкая Республика, 036 01, г. Мартин, ул. Колларова, д. 2

<sup>2</sup> Центр интегративной нейровизуализации Веллком,  
кафедра клинических нейронаук Наффилда, Оксфордский университет,  
Великобритания, Оксфорд OX3 9DU, Больница Джона Рэдклиффа, Западное крыло, уровень 6

## Instantaneous EEG Signal Analysis Based on Empirical Mode Decomposition Applied to Burst–Suppression In Propofol Anaesthesia

Gabriela Sobolova<sup>1</sup>, Marco S. Fabus<sup>2</sup>, Martin Fischer<sup>1</sup>,  
Michal Drobny<sup>1\*</sup>, Beata Drobna-Saniova<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Clinic of Anaesthesiology and Intensive Medicine, Jessenius Faculty of Medicine in Martin, Comenius University Bratislava,  
2 Kollarova Str., 036 01 Martin, Slovak Republic

<sup>2</sup> Wellcome Centre for Integrative Neuroimaging, Nuffield Department of Clinical Neurosciences, University of Oxford,  
Level 6, West Wing, John Radcliffe Hospital, Oxford OX3 9DU, United Kingdom

**Для цитирования:** Г. Соболова, М. С. Фабус, М. Фишер, М. Дробны, Б. Дробна-Саниова. Анализ мгновенных параметров сигнала ЭЭГ на основании разложения по эмпирическим модам в применении к паттерну «вспышка–подавление» при анестезии пропофолом. *Общая реаниматология*. 2021; 17 (5): 65–79. <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2021-5-65-79> [На русск. и англ.]

**For citation:** Gabriela Sobolova, Marco S. Fabus, Martin Fischer, Michal Drobny, Beata Drobna-Saniova. Instantaneous EEG signal analysis based on empirical mode decomposition applied to burst–suppression in propofol anaesthesia. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2021; 17 (5): 65–79. <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2021-5-65-79> [In Russ. and Engl.]

### Резюме

Электроэнцефалограмма (ЭЭГ) представляет собой регистрацию нестационарного и нелинейного электрофизиологического сигнала, возникающего в результате синхронного возбуждения нейронов в таламокортикальных структурах мозга. Из-за сложности организации физиологических структур мозга и его ритмических колебаний при анализе ЭЭГ часто используются методы спектрального анализа.

**Цель.** Повысить качество клинического мониторинга нейрофизиологических сигналов и получить более глубокие представления об основных принципах функциональных механизмов головного мозга во время анестезии.

**Материал и методы.** В данной работе использовали разложение по эмпирическим модам (РЭМ) новый метод спектрального анализа, особенно подходящий для нестационарных и нелинейных сигналов. РЭМ и соответствующее преобразование Гильберта–Хуанга (англ. ННТ) разлагают сигнал на составляющие внутренние модовые функции (ВМФ). В данном исследовании применили РЭМ для анализа паттерна «вспышка–подавление» (ПВП) ЭЭГ человека во время индукции общей анестезии (ОА) пропофолом. ПВП — это состояние, характеризующееся циклическими изменениями между выраженным подавлением активности мозга и гиперактивными всплесками с переменной продолжительностью, амплитудой и формой волны. ПВП возникает после индукции глубокой общей анестезии, после внутривенного болюсного введения препарата для общей анестезии. В данной статье рассматривается динамика ПВП с помощью отношения «вспышка–подавление» (ОВП).

**Результаты.** При сравнении связи между ЭЭГ и ОВП внутренних колебаний (англ. IMF, внутренние модовые функции) показали, что ОВП зависит в основном от альфа-активности. Отметим разную скорость возвращения к исходному уровню ОВП для различных спектральных компонентов (IMF 1-4) после исчезновения ПВП на ЭЭГ, что свидетельствует о том, что ПВП может по-разному нарушать функционирование нейронных генераторов низкочастотных осцилляций ЭЭГ и таламокортикальную функциональную связь.

#### Адрес для корреспонденции:

\*Михаил Дробны/E-mail: drobny@unm.sk

\*Беата Дробна-Саниова/E-mail: beata.saniova@uniba.sk

#### Correspondence to:

\*Michal Drobny/E-mail: drobny@unm.sk

\*Beata Drobna-Saniova/E-mail: beata.saniova@uniba.sk

**Заклучение.** Изучение ПВП с помощью РЭМ представляет собой новую форму анализа ЭЭГ, способную прояснить нейрофизиологические механизмы данного феномена и его влияние на послеоперационный прогноз состояния пациента.

**Ключевые слова:** ЭЭГ; электроэнцефалография; разложение по эмпирическим модам; ННТ; преобразование Гильберта-Хуанга; паттерн «вспышка-подавление»; внутренние модовые функции; пропофол

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## Summary

The human electroencephalogram (EEG) constitutes a nonstationary, nonlinear electrophysiological signal resulting from synchronous firing of neurons in thalamocortical structures of the brain. Due to the complexity of the brain's physiological structures and its rhythmic oscillations, analysis of EEG often utilises spectral analysis methods.

**Aim:** to improve clinical monitoring of neurophysiological signals and to further explain basic principles of functional mechanisms in the brain during anaesthesia.

**Material and methods.** In this paper we used Empirical Mode decomposition (EMD), a novel spectral analysis method especially suited for nonstationary and nonlinear signals. EMD and the related Hilbert-Huang Transform (HHT) decompose signal into constituent Intrinsic Mode Functions (IMFs). In this study we applied EMD to analyse burst-suppression (BS) in the human EEG during induction of general anaesthesia (GA) with propofol. BS is a state characterised by cyclic changes between significant depression of brain activity and hyper-active bursts with variable duration, amplitude, and waveform shape. BS arises after induction into deep general anaesthesia after an intravenous bolus of general anaesthetics. Here we studied the behaviour of BS using the burst-suppression ratio (BSR).

**Results.** Comparing correlations between EEG and IMF BSRs, we determined BSR was driven mainly by alpha activity. BSRs for different spectral components (IMFs 1-4) showed differing rates of return to baseline after the end of BS in EEG, indicating BS might differentially impair neural generators of low-frequency EEG oscillations and thalamocortical functional connectivity.

**Conclusion.** Studying BS using EMD represents a novel form of analysis with the potential to elucidate neurophysiological mechanisms of this state and its impact on post-operative patient prognosis.

**Keywords:** EEG; EMD; HHT; Burst-Suppression; Intrinsic Mode Functions; Propofol

**Conflicts of interest.** The authors declare no conflicts of interest.

DOI:10.15360/1813-9779-2021-5-65-79

## Введение

Несмотря на широкое повседневное использование общей анестезии (ОА) в практике, наше понимание нейрофизиологических особенностей ее механизмов все еще остается неполным [1]. Одним из перспективных источников информации об этом состоянии является электроэнцефалограмма (ЭЭГ) и ее обработанный анализ. Общее поведение сигнала ЭЭГ во время ОА можно описать как замедление сигнала в сторону преобладания низкочастотных (<4 Гц) колебаний с появлением глобальных медленных волн со всей поверхности головы [2–4].

Пропофол — наиболее часто используемый общий анестетик, применяемый для индукции ОА. Во время болюсной индукции ОА пропофолом клинически часто достигается транзиторное состояние очень глубокой анестезии, которое проявляется в виде быстрого замедления ритмов ЭЭГ с последующим относительно быстрым наступлением фармакологически индуцированного паттерна «вспышка-подавление» (ПВП), длящегося несколько

## Introduction

Despite the everyday use of general anaesthesia (GA) in the clinic, our understanding of the neurophysiological details of anaesthetic mechanisms still remains incomplete [1]. One of the promising sources of information about this state is the electroencephalogram (EEG) and its processed analysis. The generic behaviour of EEG signal during GA can be described as a slowing of the signal towards low-frequency (<4Hz) oscillations with appearance of global slow waves across the scalp [2–4].

Propofol is the most commonly used general anaesthetic, included during the induction of GA. During a propofol bolus GA induction it is clinically common to reach a transient state of very deep anaesthesia, which manifests as a rapid slowing of EEG rhythms followed by a relatively fast onset of a pharmacologically-induced burst-suppression (BS) lasting for several minutes. This state is characterised by cyclical transitions between significant depression of brain activity (suppression) and bursts of increased activity with variable amplitude, duration, and waveform shape. It is standard practise to consider a recording as undergoing BS if

минут. Этот феномен характеризуется циклическими переходами между выраженным угнетением активности мозга (подавлением) и всплесками повышенной активности (вспышка) с переменной амплитудой, продолжительностью и формой волны. Согласно стандартной практике, феномен ПВП диагностируют, если более 50% записи потенциалов на ЭЭГ подавлено отдельными всплесками длительностью 0,5–30 с. При дальнейшем углублении ОА наблюдается удлинение фаз подавления с уменьшением частоты всплесков, что в конечном итоге приводит к изоэлектрической ЭЭГ, так называемому «изоэлектрическому молчанию» [5]. В клинической практике, однако, нередко после нескольких минут ПВП наблюдается вымывание эффектов пропофола и возвращение к глубокой ОА с медленными ритмами ЭЭГ, необходимыми для проведения операции. В этом случае ПВП отражает необходимость быстрой и достаточно глубокой индукции ОА для обеспечения безопасности дыхательных путей при интубации трахеи. Количество вводимого анестетика подбирается строго индивидуально, исходя из пола, возраста, роста и веса пациента, с учетом сопутствующих заболеваний и текущего клинического состояния — хотя чаще всего без проверки активности самого мозга [6]. Чистые опиоиды не способны вызывать ПВП даже в высоких дозах, лишь в сочетании с другими веществами они оказывают аддитивный эффект, вызывая ОА. Они способствуют общему замедлению ритмов ЭЭГ при ОА и оказывают дозозависимый эффект на ПВП. Обычно используемые низкие анальгетические дозы опиоидов во время индукции ОА оказывают слабое влияние на ритмы ЭЭГ и появление ПВП [7]. Появление ПВП на поддерживающем этапе ОА, т.е. от начала до конца хирургического вмешательства, сопровождается ухудшением послеоперационного прогноза и большей частотой развития делирия, хотя подробности этой взаимосвязи и ее механизмы остаются неясными. До сих пор не было доказано, что появление обычного кратковременного ПВП во время индукции ОА оказывает патологическое влияние на пациентов, а роль интраоперационного ПВП требует активного изучения [8–11].

Преобразование Гильберта–Хуанга (*англ.* ННТ) — это новый метод спектрального разложения для обработки и анализа нелинейных и нестационарных сигналов, к которым относятся и ЭЭГ. Оно способно объяснить суть процессов, генерирующих электрическую активность мозга, лучше, чем традиционные методы, основанные на преобразовании Фурье [12–14]. ННТ состоит из двух частей, разложения по эмпирическим модам (РЭМ, предмет нашего исследо-

more than 50% of it is suppressed with individual bursts lasting 0.5–30s. In case of further deepening of GA, we observe lengthening of suppression phases with a lowered frequency of bursts, eventually leading to isoelectric EEG, so called «isoelectric silence» [5]. In clinical practice, it is however common after a few minutes of BS to observe a washout of propofol effects and a return to deep GA with slow EEG rhythms required for performing surgery. In this case, BS mirrors the need for a rapid and sufficiently deep induction of GA for ensuring safety of the respiratory tract by intubation. The amount of anaesthetic delivered is strictly chosen individually based on patient's sex, age, height, and weight, considering related diseases and the patient's current clinical state — though most often without checking brain activity itself [6]. Pure opioids are unable to induce BS even at high doses, only together with other substances do they have an additive effect in inducing GA. They contribute to general slowing of EEG rhythms in GA, and have a dose-dependent effect on BS. Commonly used low analgesic doses of opioids during GA induction have a low impact on EEG rhythms and appearance of BS [7]. The appearance of BS during maintenance of GA, i.e. from the start to the end of the surgical intervention, has been linked to worse post-operative prognosis and higher incidence of delirium, though details of this relationship and its mechanisms remain unresolved. Common short-term BS during induction of GA has so far not been shown to have a pathological influence on patients, and its relationship to intraoperative BS remains an active field of study [8–11].

The Hilbert-Huang Transform (ННТ) is a novel spectral decomposition method for processing and analysis of nonlinear and nonstationary signals such as the EEG. It has the potential to explicate generators of brain activity further than traditional methods based on the Fourier Transform [12–14]. ННТ consists of two parts, Empirical Mode Decomposition (EMD, the subject of our study) and the Hilbert Spectrum, a distribution of energy in the time-frequency domain based on the Hilbert Transform. EMD decomposes analysed signal into Intrinsic Mode Functions (IMFs), which are based on local properties of the signal. This allows for a physically meaningful definition of instantaneous frequency and removes the need for using harmonic functions to represent nonlinear and nonstationary signals unlike the Short-time Fourier Transform.

**Empirical Mode Decomposition.** Empirical Mode Decomposition (EMD) is a novel method for decomposing nonstationary and nonlinear signals (e. g. EEG) into Intrinsic Mode Functions [12]. It has been described elsewhere, but in short it is a data-driven method that resolves different spectral components based on extrema detection [15].

вания) и спектра Гильберта, распределения энергии во временно-частотной области на основе преобразования Гильберта.

ЭМР разлагает анализируемый сигнал на внутренние колебания, или модовые функции (*англ.* IMF), которые основаны на локальных свойствах сигнала. Это позволяет дать физически значимое определение мгновенной частоты и устраняет необходимость использования гармонических функций для представления нелинейных и нестационарных сигналов в отличие от кратковременного преобразования Фурье.

#### **Разложение по эмпирическим модам.**

Разложение по эмпирическим модам (РЭМ, *англ.* Empirical Mode Decomposition, EMD) — это новый метод разложения нестационарных и нелинейных сигналов (например, ЭЭГ) на внутренние модовые функции [12]. Он подробнее описан в других источниках, но вкратце характеризуется как метод, основанный на обработке данных, позволяющий разложить различные спектральные компоненты в соответствии с обнаруженными экстремальными значениями [15].

Оригинальный алгоритм РЭМ часто страдает от так называемой проблемы смешивания мод при применении к реальным данным [16, 17]. Эта проблема возникает при наличии переходных колебаний, когда распределение локальных экстремумов меняется в разных частях сигнала. Смешение мод усложняет интерпретацию и анализ разложения внутренних колебаний, поэтому были предложены усовершенствования оригинального алгоритма РЭМ. К ним относятся ансамблевый РЭМ (АРЭМ) и маскирующий РЭМ (МРЭМ). Эти методы основаны на введении дополнительного сигнала в исходную запись перед процессом просеивания (белый шум для АРЭМ, заранее определенные синусоиды в МРЭМ). При этом происходит нормализация распределения частот экстремумов по сигналу, что приводит к уменьшению смешивания мод.

### **Материал и методы**

В данном исследовании провели регистрацию ЭЭГ у 39 пациентов, находящихся под наркозом, и применили разложение по эмпирическим модам (РЭМ) к записям 30 пациентов с ПВП (15 женщин и 15 мужчин, средний возраст 62 года). Данные испытуемых были записаны в рамках исследования APVV («Уровень сознания и его изменения во время анестезии в торакальной хирургии») (APVV-0223-12) в рамках междисциплинарного исследовательского проекта Агентства по продвижению исследований и разработок с участием клиники анестезиологии и интенсивной медицины, и клиники торакальной хирургии университетской больницы Мартина, и медицинским факультетом Есениуса Университета имени Коменского в Братиславе. Испытуемым был

The original EMD algorithm often suffers from the so-called mode mixing problem when applied to real data [16, 17]. This problem occurs in presence of transient oscillations, where the distribution of local extrema varies in different parts of the signal. Mode mixing complicates interpretation and analysis of the IMF decomposition, hence improvements to the original EMD algorithm have been proposed. These include ensemble EMD (EEMD) and masking EMD (MEMD). These methods are based on injecting an additional signal into the original recording before the sifting process (white noise for EEMD, pre-defined sinusoids in MEMD). This normalises the distribution of extrema rates across the signal, which leads to lowered mode mixing.

### **Materials and Methods**

In this study, we measured EEG in 39 anaesthetised patients and applied Empirical Mode Decomposition (EMD) on recordings from 30 patients showing burst-suppression (15 women and 15 men, average age 62 years). The subjects were recorded as part of the AAPV study — «Level of consciousness and its changes during anaesthesia in thoracic surgery» (APVV-0223-12), as a part of the joint interdisciplinary research project of the Agency for the Advancement of Research and Development between the Clinic of Anaesthesiology and Intensive Medicine and the Clinic Thoracic Surgery of University Hospital Martin and the Jessenius Faculty of Medicine in Comenius University Bratislava. The subjects underwent a spectrum of selective diagnostic and therapeutic thoracic surgeries (e.g. diagnostic biopsy, bilobectomy, dual chamber interventions). As part of the APVV project all surgical interventions shared the use of thoracotomy, i. e. an intervention with an «open chest» with the need for single-sided lung ventilation (One Lung Ventilation — OLV). Given the nature of the surgery, the recorded subjects were under deep general anaesthesia (GA) with a high need for analgesics and muscle relaxants. The administration of GA was exclusively done by a practicing anaesthesiologist and underwent in a standard manner according to local conventions. A specific use and dosing of drugs was chosen by the anaesthesiologist given their clinical abilities and experience, including the current clinical condition of the patient and the course of the operation.

Patients arrived in the operating theatre without pre-surgical morning premedication. Induction of GA began after fitting of the EEG cap. Initially, patients were given intravenous analgesia with a sufentanil bolus (dose: 0.15 µg/kg). This was followed by an intravenous propofol anaesthetic bolus (dose: 2–2.5mg/kg) together with an intravenous muscle relaxant. After GA induction confirmed by a deep unconsciousness without reactions to a painful stimulus and complete muscle relaxation, orotracheal intubation was performed and the surgical procedure began.

Patients were excluded if they suffered head injuries leading to loss of consciousness, were addicted to alcohol or medication, they were known to have poor or non-standard tolerance of anaesthesia, they had known neurological or psychiatric conditions, or they were currently using

проведен спектр селективных диагностических и лечебных торакальных вмешательств (например, диагностическая биопсия, двусторонняя лобэктомия, имплантация двухкамерного искусственного водителя ритма).

В рамках проекта APVV при всех хирургических вмешательствах использовалась торакотомия, т. е. вмешательства проводились с «открытой грудной клеткой» при необходимости односторонней вентиляции (ОЛВ). Учитывая характер операции, исследуемые находились под глубокой общей анестезией (ОА) с высокой потребностью в анальгетиках и мышечных релаксантах. Введение в ОА осуществлялось исключительно опытным анестезиологом и проходило стандартным образом в соответствии с местными протоколами. Вопрос применения конкретного препарата и его дозировки решал анестезиолог с учетом своих клинических возможностей и опыта, а также текущего клинического состояния пациента и хода операции.

Пациенты поступали в операционную без предоперационной утренней премедикации. Индукция ОА начиналась после надевания комплекса ЭЭГ-датчиков на голову. Сначала пациенты получали внутривенную аналгезию с помощью болюса суфентанила (в дозе 0,15 мкг/кг). Затем вводился внутривенно болюсно анестетик пропофол (в дозе 2–2,5 мг/кг) вместе с мышечным релаксантом внутривенно. После индукции ОА, подтвержденной глубокой утратой сознания без реакции на болевые раздражители и полным расслаблением мышц, выполнялась оротрахеальная интубация и начиналось хирургическое вмешательство.

Пациентов исключали из исследования, если у них были травмы головы, сопровождавшиеся потерей сознания, при наличии алкогольной или лекарственной зависимости, при наличии в анамнезе сведений о плохой или нестандартной переносимости анестезии, при наличии указаний на неврологические или психиатрические заболевания, или при употреблении психотропных препаратов в настоящее время. Во всех случаях пациенты давали письменное согласие на проведение исследования, которое одобрено этическим комитетом в рамках проекта APVV.

Пациентам, подготовленным к операции и давшим письменное согласие, записывали ЭЭГ с помощью программного обеспечения Neuron Spectrum AM (Neurosoft), используемого для записи ЭЭГ и полисомнографии. Перед операцией каждому пациенту надевали комплект электродов (ЭЭГ-шапочка с 19 электродами, расположенными на коже головы в соответствии со стандартизированной системой 10-20 и усредненными нормативами). Конкретный размер шапочки для пациента определяли путем измерения окружности головы с помощью рулетки и использования таблицы размеров производителя. Шапочка ЭЭГ плотно прилегала к голове пациента, а на каждый электрод ЭЭГ помещали проводящий гель для обеспечения подходящего импеданса между электродом и кожей головы. Импеданс электродов во время процедуры не превышал 25 кОм. Необработанные записи состояли из ЭЭГ в широком частотном диапазоне с нижней границей, определяемой медленными дрейфами около 0,5–1 Гц, и верхней границей Найквиста от используемой частоты дискретизации 500 Гц. ЭЭГ непрерывно запи-

psychotropic drugs. In all cases patients gave written consent to the study and the research study was approved by an ethics committee as part of the APVV project.

Patients who underwent surgery and gave written consent had their EEG recorded using the Neuron Spectrum AM recording software (Neurosoft), used for recording EEG and polysomnography. Before the operation, each patient was fitted an EEG cap with 19 electrodes placed on the scalp (not intracranially) according to the standardised 10-20 system, referenced to the average montage. The specific cap size for a patient was determined by measuring their head circumference with a tape measure and using the manufacturer's sizing table. EEG cap was tightly fitted to the patient's head and conductive gel was put into each EEG electrode to ensure suitable impedance between the electrode and the scalp. Electrode impedance during the procedure did not exceed 25 k $\Omega$ . The raw recording collected consisted of EEG in a wide frequency band with a lower bound determined by slow drifts around 0.5–1 Hz and an upper Nyquist bound from the sampling frequency of 500 Hz used. EEG was continuously recorded during the operation including the induction to GA and surgery. EEG recording was stopped after the end of surgery and after emergence from GA. The EEG cap was removed just after extubation when the patient was spontaneously breathing and responsive to verbal stimulus. Further markers were inserted into the EEG recording to note intravenous medications administered, their dose, and time of administration.

**Pre-processing and analysis of EEG data.** For archiving, viewing, and filtering raw EEG data we used the Neuron Spectrum.NET software (Neurosoft), which includes tools for EEG spectral analysis. Recorded EEG was visually checked, and artefacts were manually removed after consulting with an experienced neurologist. For EMD analysis we re-referenced the data to Cz and used the Fz electrode for further analysis. This way large artefacts affecting most of the scalp due to the surgical environment were reduced. EEG data was further filtered to remove line noise, muscle artefacts, ECG artefacts, and breathing artefacts. Further analysis was done in a custom script using Python 3.6. Data was first filtered by a Finite Impulse Response (FIR) bandpass filter in the 0.5–35 Hz band using the open-source Python MNE package [21]. The Hamming FIR window was used to suppress edge effects and increase computational stability. Afterwards data were resampled to 100 Hz and EMD analysis was done with the Python emd module [22, 23].

In order to reduce mode mixing, masked EMD with masking frequencies 14–7–2.5–0.5–0.2 Hz was performed. Masking frequencies were chosen by an experienced EMD researcher to best represent the dominant alpha-delta nature of brain activity after administering propofol. It is important to note that whilst these masks reduce mode mixing, they do not impose tight bandwidth limits on spectral components unlike standard Fourier analysis. Maximum number of IMFs was set to  $N=5$  and the first four (IMF1–IMF4) were used for further analysis. Burst-suppression pattern was quantified with the Burst-Suppression Ratio [24, 25]. EEG was defined as suppressed if its absolute value was under 5  $\mu$ V for longer than 0.5 s. To enable direct comparison between BSR values obtained from IMFs and the EEG, a section of the IMF was considered suppressed if its amplitude was under 40% of the standard deviation of that IMF for at

сывали во время вмешательства, в том числе — в течение периода индукции ОА и самой операции. Запись ЭЭГ прекращали после окончания операции и выхода из ОА. Шапочку ЭЭГ снимали сразу после экстубации трахеи при спонтанном дыхании и реагировании на вербальные стимулы. В запись ЭЭГ вносили дополнительные маркеры моментов внутривенного введения лекарств с указанием препарата, дозы и времени введения.

**Предварительная обработка и анализ данных ЭЭГ.** Для архивирования, просмотра и фильтрации необработанных данных ЭЭГ использовали программу Neuron Spectrum.NET (Neurosoft), которая включает инструменты для спектрального анализа ЭЭГ. Запись ЭЭГ проверяли визуально, а артефакты удаляли вручную после консультации с опытным неврологом. Для анализа РЭМ данные повторно «привязывали» к Cz, а для дальнейшего анализа использовали электрод Fz. Таким образом были уменьшены существенные артефакты, полученные с большей части кожи головы в условиях хирургического вмешательства. Данные ЭЭГ дополнительно отфильтровали для удаления линейного шума, мышечных артефактов, артефактов ЭКГ и артефактов дыхания. Дальнейший анализ проводили в пользовательском сценарии с использованием Python 3.6. Сначала данные отфильтровали полосовым фильтром с конечной импульсной характеристикой (FIR) в диапазоне 0,5–35 Гц, с использованием пакета MNE из Python и открытым исходным кодом [21]. Для подавления краевых эффектов и повышения стабильности вычислений использовали FIR-окно Хэмминга. Затем данные передискретизировали до 100 Гц, и провели РЭМ-анализ с помощью модуля Python emd [22, 23].

Для того чтобы уменьшить смешение режимов, проводили маскированное РЭМ с маскирующими частотами 14–7,2,5–0,5–0,2 Гц. Маскирующие частоты были выбраны опытным специалистом по РЭМ для оптимального представления доминирующей альфа-дельта природы активности мозга после введения пропофола. Важно отметить, что хотя эти маски уменьшают смешение мод, они не накладывают жестких ограничений на полосу пропускания спектральных компонентов в отличие от стандартного Фурье-анализа. Максимальное количество внутренних колебаний (IMF) установили на  $n=5$ , и для дальнейшего анализа использовали первые четыре (IMF1–IMF4). Количественную оценку ПВП проводили с помощью определения отношения «вспышка-подавление» (ОВП) [24, 25]. ЭЭГ определяли как подавленную, если ее абсолютное значение было меньше 5 мкВ в течение более 0,5 с. Для прямого сравнения значений ОВП, полученных на основе анализа внутренних колебаний и ЭЭГ, «подавленным» считали участок внутренних колебаний, амплитуда которого составляла менее 40% от стандартного отклонения этого колебания в течение не менее 0,5 секунды. Затем ОВП рассчитывали для ЭЭГ и отдельных внутренних колебаний как отношение продолжительности подавленной части сегмента к продолжительности всего исследуемого сегмента. ОВП рассчитывали для каждой минуты из первых 15 минут индукции ОА (время перекрытия между сегментами составило 10 с).

least 0.5s. BSR was then calculated for the EEG and individual IMFs as the ratio of the duration of the suppressed part of a segment to the whole segment studied. BSR was calculated for each minute of the first 15 minutes of GA induction (10s overlap between segments).

## Results and Discussion

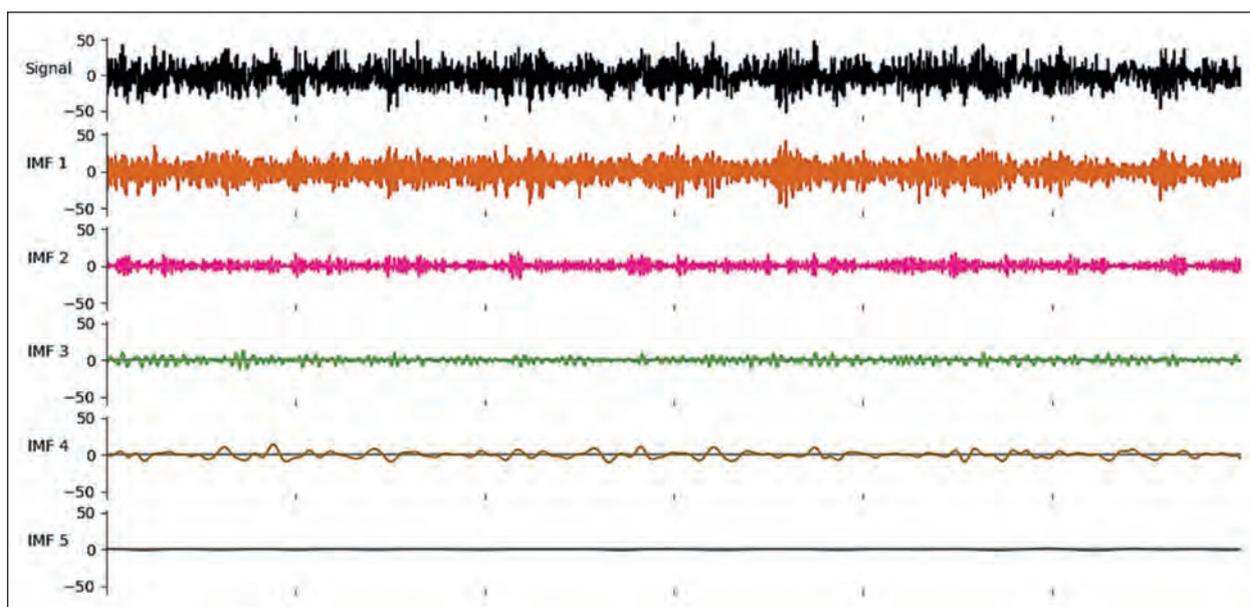
EEG recordings from 30 anaesthetised patients (15 women, 15 men) showing burst-suppression during propofol induction were analysed and visualised using the Python emd module. Examples of these results are displayed in Fig. 1, 2 and Fig. 4.

Figure 1 displays an example decomposition of EEG using masked EMD. We observed four non-trivial IMFs (IMF1 — IMF4). These represented well-known physiological rhythms despite not having pre-defined frequency bands in the analysis. They matched with alpha (~10 Hz, IMF1), high delta (~4 Hz, IMF2), low delta (~2 Hz, IMF3), and slow oscillations (<1.5 Hz, IMF4), with IMF5 representing residual low-frequency noise. The signal was represented with a small number of components unlike the Fourier transform, where the output is a potentially infinite number of harmonic components.

Figure 2 shows example EMD results from a representative induction segment including a burst-suppression pattern. Typical sample of BS is illustrated in EEG Fig. 3.

Again we observed a data-driven decomposition of the EEG signal into four components. Each component in succession captured slower EEG activity and a physiologically relevant part of the spectrum. Burst-suppression was seen to affect all spectral components. To analyse its effect further, we computed the burst-suppression ratio (BSR) to quantify suppression of the signal.

Figure 4 shows the BSR over time for 15 minutes from a bolus propofol GA induction. BSR was calculated for each minute for both the full EEG recording and individual spectral components captured by IMFs. The general trace captures the classical effect of propofol on the EEG and show propofol's strong effect on brain activity and the EEG with an initial rise and saturation of low-frequency activity and later the appearance of burst-suppression. At the start of the induction, low frequencies have a low power and hence appear suppressed (high BSR for IMF2–IMF4) with alpha activity being dominant (IMF1 BSR lowest). After applying the propofol bolus delta and slow-wave activity gradually increase, driving BSR to low values around  $t=300$ s. As the effect-site concentration of propofol rapidly increases, burst-suppression starts appearing in the recording around  $t=400$ s and all spectral components become suppressed. BSR from IMF1 (alpha activity) had the highest Pearson correlation with BSR from the filtered EEG, which shows BSR is mainly driven by the alpha spectral component. As

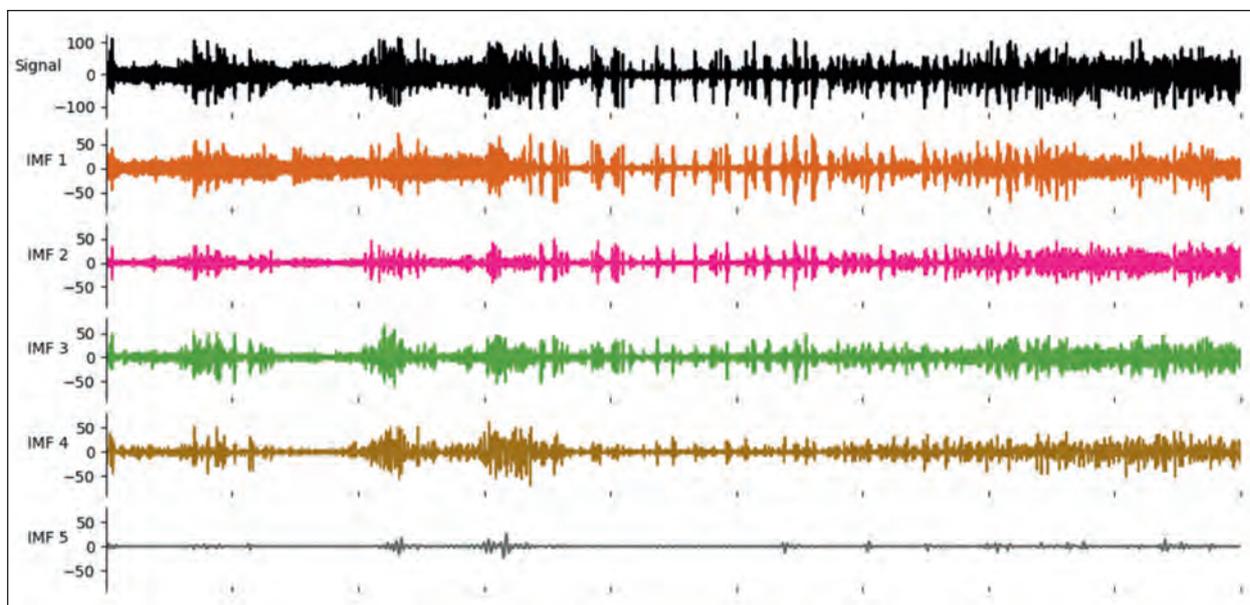


**Рис. 1.** Пример внутренних колебаний в течение 60 с, полученных с помощью РЭМ на ЭЭГ пациента в состоянии легкой анестезии.

**Fig. 1.** Example 60s of IMFs obtained from EMD for light anaesthesia EEG.

**Note.** EMD decomposed the signal into physiologically relevant alpha and delta rhythms (IMF1–IMF4) and low-frequency noise (IMF5).

**Примечание.** С помощью РЭМ сигнал разложен на физиологически значимые альфа- и дельта-ритмы (IMF1–IMF4) и низкочастотный шум (IMF5).



**Рис. 2.** Пример первых 15 минут внутренних колебаний (IMF), полученных с помощью РЭМ.

**Fig. 2.** Example first 15 min of IMFs obtained from EMD.

**Note.** The Burst-Suppression pattern visible in the middle part of the recording.

**Примечание.** Внимание привлекает ПВП, видимый в средней части записи.

## Результаты и обсуждение

Записи ЭЭГ 30 анестезированных пациентов (15 женщин, 15 мужчин), демонстрирующие ПВП во время индукции пропофолам, анализировали и визуализировали с помощью модуля Python emd. Примеры полученных результатов представили на рис. 1, 2 и 4.

suppression of alpha activity seemed to be most relevant for predicting overall EEG burst-suppression, we may term burst-suppression as «alpha burst-suppression» when studied with the EEG BSR. Interestingly, after the end of burst-suppression in the EEG (BSR returns to zero), different spectral components had a differential rate of return to low values. Slow-wave activity (IMF4) stopped being sup-

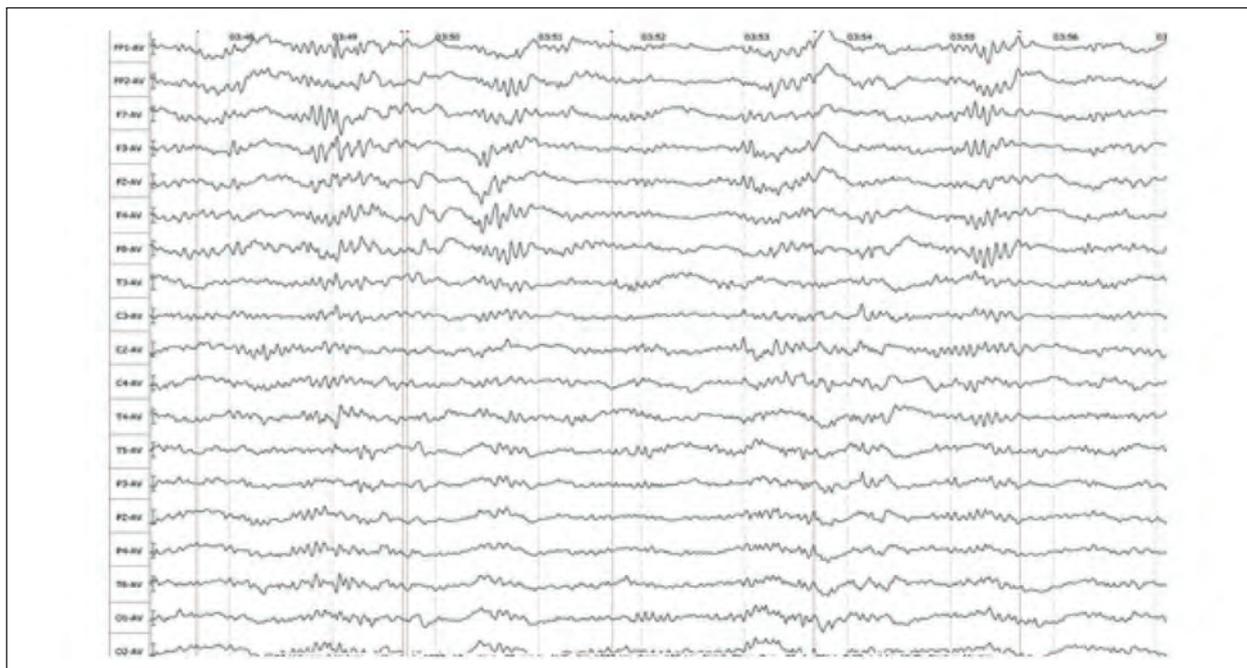


Рис. 3. Пример 10-секундной записи ЭЭГ 55-летнего пациента, демонстрирующей ПВП после применения пропофола.  
 Fig. 3. Example 10 seconds from an EEG recording of a 55 year old patient showing burst-suppression after application of propofol.

На рис. 1 показали пример разложения ЭЭГ с помощью маскированного РЭМ. Наблюдали четыре нетривиальные внутренние модовые функции (IMF1 — IMF4). Они представляли хорошо известные физиологические ритмы, несмотря на отсутствие заранее определенных частотных полос в анализе и соответствовали альфа (~10 Гц, IMF1), высокой дельта (~4 Гц, IMF2), низкой дельта (~2 Гц, IMF3) и медленным колебаниям (<1,5 Гц, IMF4), а IMF5 соответствовала остаточному низкочастотному шуму. Сигнал был представлен небольшим числом компонентов, в отличие от преобразования Фурье, где на выходе получается потенциально бесконечное число гармонических компонентов.

На рис. 2 показан пример результатов РЭМ с репрезентативного сегмента записи периода индукции анестезии, включающего ПВП. Типичный пример ПВП показан на ЭЭГ на рис. 3.

И снова наблюдали разложение сигнала ЭЭГ на четыре компонента, в основе которого лежала обработка данных. Каждый компонент последовательно захватывал более медленную активность ЭЭГ и физиологически значимую часть спектра. Было видно, что подавление всплеск затрагивает все спектральные компоненты. Для количественной оценки подавления сигнала вычислили отношение «всплеска-подавление» (ОВП).

На рис. 4 показали изменение ОВП во времени в течение 15 минут после болюсной индукции ОА пропофолом. ОВП рассчитывали для каждой минуты как для полной записи

pressed only after higher spectral components: first alpha, then high delta, low delta, and slow activity last. This means that the burst-suppression state has a substantial effect on generators of low-frequency EEG oscillations and may impact different thalamocortical functional pathways differently with slow oscillations returning into the brain only after those with higher frequencies.

Figure 5 shows the Wavelet transform (WT) in a 3D view for the Fz–Cz electrode and the corresponding spectrogram for comparison with EMD results. The graph clearly shows high presence of low-frequency power (red colour) including delta and theta oscillations. This shows patients were deeply sedated during the induction into GA and were in a state of deep anaesthesia, as seen in the EMD results. After reaching maximal effect-site concentration of administered propofol the Wavelet transform showed that higher propofol doses led to higher amplitudes for low-frequency characteristics of the spectrum. This confirms that higher doses of anaesthetics lead to rapid decreases in the cortical EEG complexity and increases of the anaesthetic effects [26]. Spatial distribution of spectral activity including delta and theta was investigated using topographical maps produced by 2D Brain Mapping (BM). We saw the global increase in presence of slow delta activity (red) and the absence of rapidly changing beta and gamma rhythms in GA, once again showing the anaesthesiologic effect of administered propofol (fig. 6).

**Burst-suppression during general anaesthesia.** The goal of an anaesthesiologist is to ap-

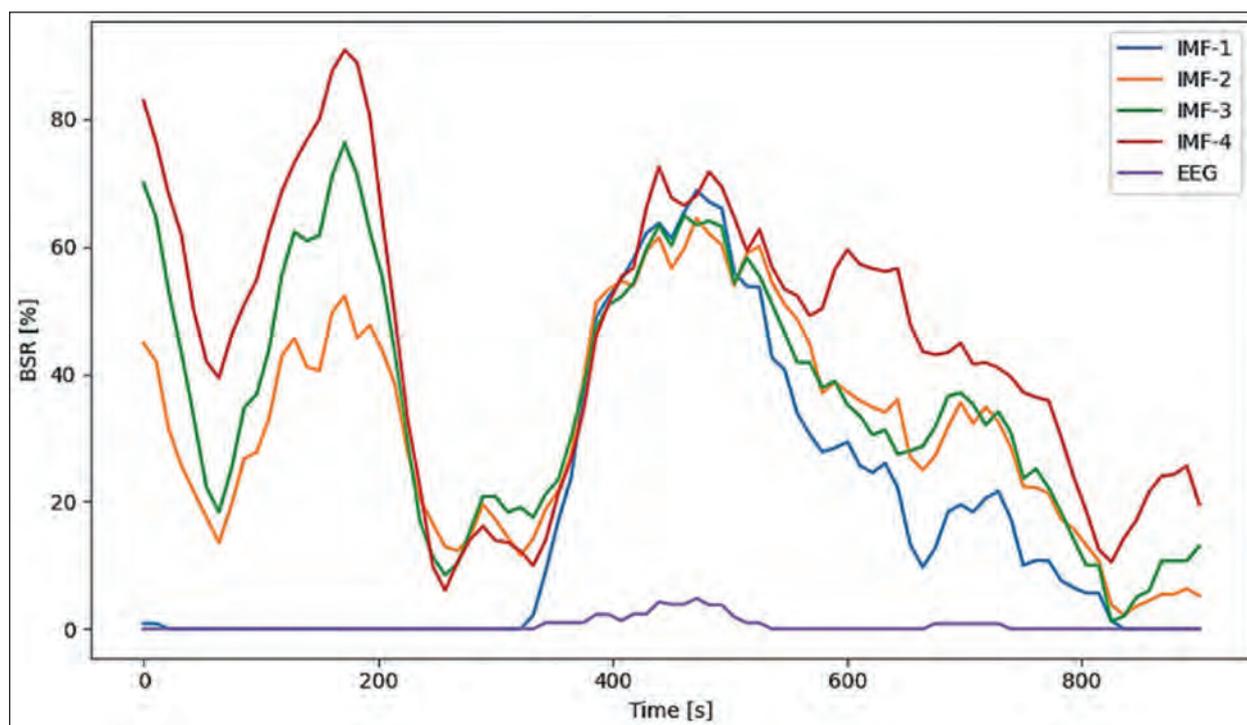


Рис. 4. Пример оценки отношения «вспышка-подавление» в динамике при индукции ОА пропофолом.

Fig.4. Example Burst-Suppression Ratio (BSR) trace over time for induction of GA with propofol.

**Note.** Low-frequency oscillations show prolonged suppression after burst-suppression in the EEG (purple trace, around 420s), most prominent for slow oscillations (IMF4, red).

**Примечание.** Наблюдается длительное подавление низкочастотных колебаний после подавления вспышки на ЭЭГ (фиолетовый след, около 420 с), наиболее заметное для медленных колебаний (IMF4, красный).

ЭЭГ, так и для отдельных спектральных компонентов, захваченных внутренними колебаниями. На общей ЭЭГ отражено классическое влияние пропофола на ЭЭГ и активность мозга в виде первоначального подъема и насыщения низкочастотной активности, а затем появления ПВП. В начале индукции низкие частоты имеют низкую мощность и поэтому кажутся подавленными (высокое ОВП у IMF2–IMF4) с преобладанием альфа-активности (ОВП IMF1 самое низкое). После введения болюса пропофола дельта- и медленноволновая активность постепенно увеличиваются, доводя ОВП до низких значений в период времени  $t=300$  с. По мере быстрого увеличения концентрации пропофола на записи около  $t=400$  с начинает появляться ПВП, и все спектральные компоненты подавляются. ОВП у IMF1 (альфа-активность) наиболее выразительно коррелировало (по данным корреляции Пирсона) с ОВП от фильтрованной ЭЭГ, что говорит о том, что ОВП в основном определяется альфа-спектральным компонентом. Поскольку подавление альфа-активности оказалось наиболее значимым для глобального предсказания ПВП на ЭЭГ, можно назвать феномен подавления вспышек «подавлением альфа-вспышек» на основании изучения ОВП на ЭЭГ. Интересно, что после исчезновения ПВП на ЭЭГ (ОВП воз-

appropriately diminish a patient's consciousness and their awareness of pain in combination with appropriate muscle relaxation during surgery. This enables the surgical procedure to happen in the first place, whilst keeping haemodynamic stability maximises the patient's chances for a good intraoperative procedure and its resulting clinical outcomes. Researching burst-suppression (BS) is a substantial part of this endeavour, as neuronal mechanisms of BS are only partly understood and electrophysiological changes during the induction of GA can help us understand the effect of general anaesthetics on brain structures and illuminate mechanisms of consciousness changes during GA. An important role in these phenomena is played by thalamocortical communication and functional connectivity between parts of cortex, which manifest amongst other things as alpha oscillations on the scalp [11, 27, 28]. In our analysis, the IMF representing alpha activity was most predictive of overall EEG BSR, which may thus reflect changes in thalamocortical communication during burst-suppression. A promising clinical marker of the appropriate depth of anaesthesia is saturation of slow-wave activity (SWAS). However, it is not known how slow-wave activity behaves after the occurrence of burst-suppression. Our results indicate that low-frequency activity (delta and slow

вращается к нулю) скорость восстановления низких значений различных спектральных компонентов была различной. Медленно-волновая активность (IMF4) перестала подавляться только после более высоких спектральных компонентов: сначала альфа, затем высокая дельта, низкая дельта, и медленная активность последней. Это означает, что ПВП оказывает существенное влияние на генераторы низкочастотных колебаний ЭЭГ и может по-разному воздействовать на различные таламокортикальные функциональные пути, при этом медленные колебания вновь возникают в мозге только после более высокочастотных.

На рис. 5 показали вейвлет-преобразование в трехмерном виде для электродов Fz-Cz и соответствующая спектрограмма для сравнения с результатами РЭМ. На графике четко видно высокое присутствие низкочастотной активности (красный цвет), включая дельта- и тета-осцилляции. Это свидетельствует о том, что пациенты находились в глубокой седации во время индукции ОА, что соответствует состоянию глубокой анестезии, как видно из результатов РЭМ. После достижения максимальной концентрации введенного пропофола вейвлет-преобразование показало, что более высокие дозы пропофола привели к более высоким амплитудам для низкочастотных характеристик спектра. Данный факт свидетельствует о том, что более высокие дозы анестетиков приводят к быстрому упрощению корковой ЭЭГ и усилению эффекта анестезии [26]. Пространственное распределение спектральной активности, включая дельта и тета-волны, исследовали с помощью топографических карт, созданных с помощью 2D Brain Mapping. Визуализировали глобальное увеличение присутствия медленной дельта-активности (красный цвет) и отсутствие быстро меняющихся бета- и гамма-ритмов во время ОА, что еще раз говорит об анестезиологическом эффекте введенного пропофола (рис. 6).

**Феномен «вспышка-подавление» во время общей анестезии.** Целью анестезиолога является адекватная утрата сознания пациента и ощущения боли в сочетании с соответствующей мышечной релаксацией во время операции. При этом становится возможным проведение хирургического вмешательства, а поддержание гемодинамической стабильности дает высокие шансы на отсутствие интраоперационных осложнений и получение оптимального результата операции. Исследование ПВП является существенной частью этих усилий, поскольку нейронные механизмы ПВП расшифрованы не до конца, а познание электрофизиологических изменений во время индукции ОА может помочь понять влияние

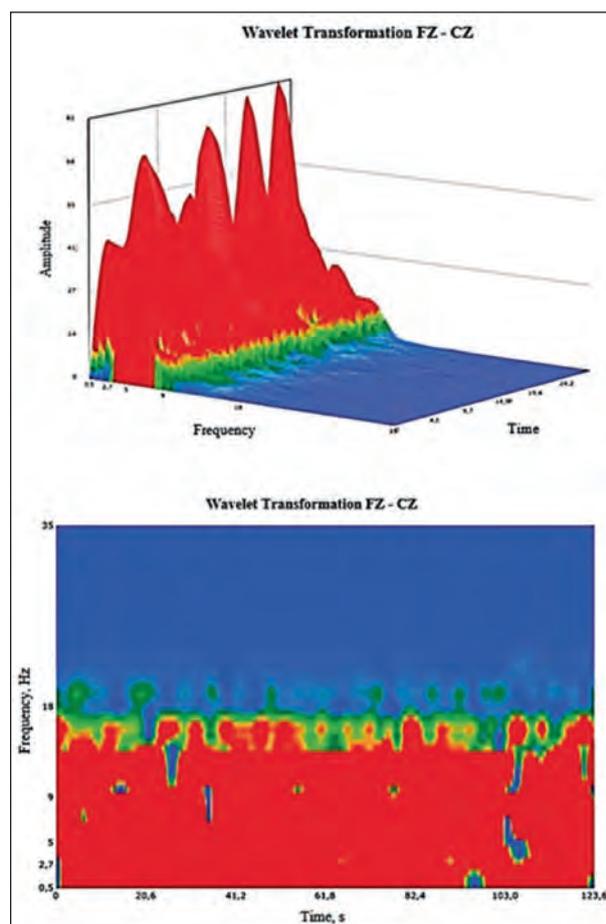


Рис. 5. Вейвлет-преобразование, показывающее трехмерное временно-частотное разложение для электрода Fz-Cz и соответствующую спектрограмму, которая является дополнительным графическим представлением сигнала.

Fig. 5. Wavelet transformation showing a 3D time-frequency decomposition for the Fz-Cz electrode and the corresponding spectrogram. This represents a complementary graphical representation of the signal.

**Note.** We can see significant increases in amplitude for low theta and delta parts of the spectrum, which are indicators of deep anaesthesia.

**Примечание.** Можно видеть значительное увеличение амплитуды для низких тета- и дельта-частей спектра, которые являются индикаторами глубокой анестезии.

waves) may recover last after an episode of burst-suppression. Slow-wave activity manifests as global cortical waves [30, 31], so this result could point to impaired low-frequency functional connectivity after an episode of burst-suppression. This might be one of the reasons for the appearance of postoperative delirium, which has been correlated with prolonged intraoperative burst-suppression [11]. This hypothesis could be confirmed by studying burst-suppression using other brain imaging modalities, such as functional magnetic resonance imaging (fMRI) and magnetoencephalography (MEG). Differential rate of return from suppression for slower spectral components might be demonstrable by dif-

общих анестетиков на структуры мозга и осветить механизмы изменения сознания во время ОА. Важную роль в этих явлениях играют таламокортикальная коммуникация и функциональная связь между участками коры, которые проявляются, в частности, в виде альфа-колебаний с поверхности головы [11, 27, 28]. По нашим данным, внутренние колебания, представляющие альфа-активность, в наибольшей степени предсказывали глобальные ПВП на ЭЭГ, что может отражать изменения в таламокортикальной связи во время подавления вспышки. Многообещающим клиническим маркером соответствующей глубины анестезии является насыщение медленно-волновой активности (*англ.* HMBA). Однако неизвестно, как ведет себя HMBA после возникновения феномена подавления вспышки. Наши результаты показывают, что низкочастотная активность (дельта- и медленные волны) может восстанавливаться после эпизода ПВП в последнюю очередь. Медленно-волновая активность проявляется в виде глобальных корковых волн [30, 31], поэтому данный результат может указывать на нарушение низкочастотной функциональной связи после эпизода ПВП. Это может быть одной из причин появления послеоперационного делирия, который коррелирует с длительным интраоперационным ПВП [11]. Данная гипотеза может быть подтверждена при изучении подавления вспышки с помощью других методов визуализации мозга, таких как функциональная магнитно-резонансная томография (фМРТ) и магнитоэнцефалография (МЭГ). Различная скорость восстановления более медленных спектральных компонентов после подавления подтверждается различной продолжительностью подавления у нейронных генераторов, лежащих в основе этих спектральных компонентов. Выявление точной локализации таких источников не входило в рамки нашего исследования, поскольку для этого потребовалось бы более высокое пространственное разрешение, чем имеющееся. Также было высказано предположение, что механизмы подавления вспышек незначительно отличаются в зависимости от конкретного анестетика, причем пропфол подавляет медленные ритмы сильнее, чем изофлуран [24]. Изучение спектрального содержания ЭЭГ при применении различных препаратов с помощью РЭМ может оказаться полезным для выяснения различий между механизмами, лежащими в основе их действия. Кроме того, имеются сообщения о локализованном появлении ПВП [32, 33]. Если различные ритмы вновь возникают на ЭЭГ после ПВП с разной скоростью, то это может проявиться, например, в виде изменений происхождения

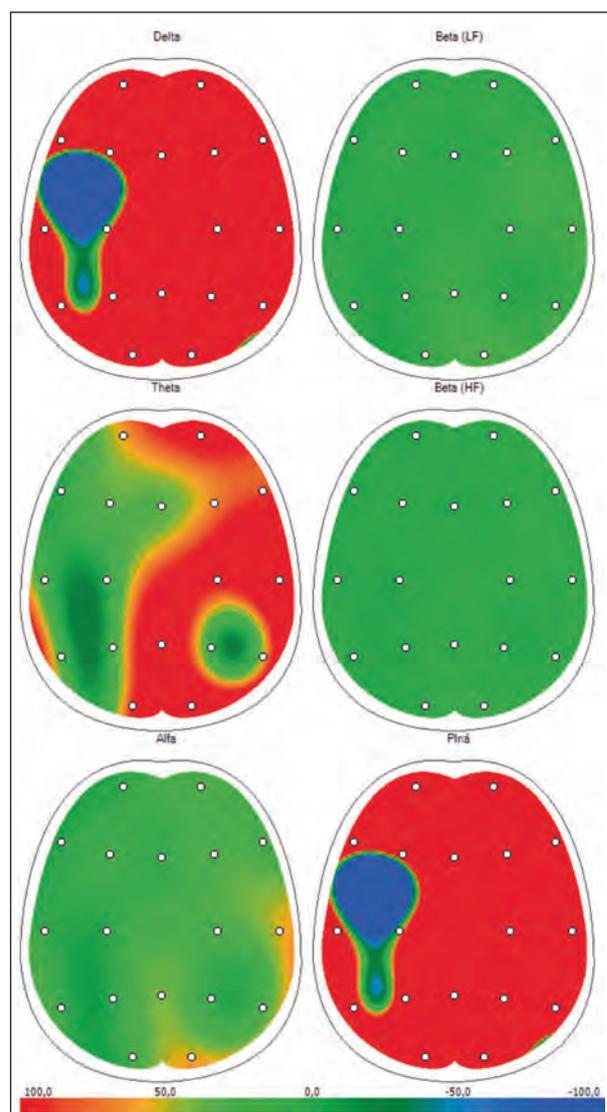


Рис. 6. Топографические карты ЭЭГ-активности во время общей анестезии.

Fig. 6. Topographical maps of EEG power during general anaesthesia.

ferent suppression durations for underlying neural generators of these spectral components. Such source localisation was beyond the scope of our study as it would require higher spatial resolution than that available. It has also been suggested burst-suppression mechanisms are subtly different between different anaesthetic agents, with propofol suppressing slower rhythms more than isoflurane [24]. Examining the spectral content of recordings from different agents using EMD might prove fruitful in elucidating the differences between the mechanisms underlying different substances. Furthermore, localised presence of burst-suppression has been reported in the literature [32, 33]. If different rhythms return at different rates, this might show up as e. g. changes in the origins for individual slow waves. Multi-variate EMD is the subject of active re-

отдельных медленных волн. Возможности применения многомерного РЭМ является предметом активных исследований [34–36]. Оно может использоваться в будущем для более подробного описания топографии подавления всплесков и их влияния на прогноз состояния пациента. Результатом внедрения результатов подобных исследований в клинику может стать создание более сложных и надежных клинических методов мониторинга активности мозга для использования в анестезиологии и интенсивной медицине.

## Заключение

### Применение РЭМ в нейрофизиологии.

Данная публикация дает представление о методике разложения по эмпирическим модам (РЭМ) и ее применении для анализа ЭЭГ. РЭМ описывает сигнал ЭЭГ с помощью небольшого числа внутренних модовых функций, или внутренних колебаний (IMF). В отличие от методов, основанных на преобразовании Фурье, РЭМ не обладает какими-то изначально жестко фиксированными базовыми функциями, а также не предполагает линейность или стационарность сигнала. Наше исследование показало, что маскированное РЭМ позволяет разложить сигнал на физиологически значимые альфа-, дельта- и медленные колебательные компоненты без строгих предположений о частотных диапазонах, которые обычно применяются. РЭМ может описывать нелинейные формы осцилляций во время анестезии, что может способствовать дальнейшему выяснению мозговых генераторов этих сигналов с помощью неинвазивной записи, основываясь на ранних инвазивных исследованиях формы волны медленноволновой активности [37]. Несмотря на то, что РЭМ и соответствующее преобразование Гильберта–Хуанга (ННТ) уже применялись при анализе ЭЭГ, полученных во время анестезии [14, 38, 39], их использование не было широко распространено в нейрофизиологическом сообществе. В основном это связано с проблемой смешения мод, которая усложняет анализ и интерпретацию результатов РЭМ, а также с более длительной традицией использования методов, основанных на преобразовании Фурье. В данной работе показали, что использование маскирующих сигналов дает ценное и рациональное разложение записи ЭЭГ, даже при наличии ПВП, возникающих при очень глубокой анестезии. РЭМ при анестезии применяется в основном для изучения энергетических спектров ННТ и анализа глобальной медленно-волновой активности, без описания феномена подавления всплесков, представленного в работе. Интерес к РЭМ среди неврологов

search [34–36] and this method might be in the future applied to recordings like ours to even better describe the topographical properties of burst-suppression and its impact on patient prognosis. Clinical applications from such continued research could include an improved generation of more complex and robust clinical monitors of brain activity to be used in anaesthesiology and intensive medicine.

## Conclusion

**The use of EMD in Neurophysiology.** This publication introduced the reader into the subject of Empirical Mode Decomposition (EMD) and its application to EEG analysis. EMD describes the EEG signal with a low number of Intrinsic Mode Functions (IMFs). In contrast with methods based on the Fourier transform, EMD does not assume the shape of its basis functions a priori, nor does it assume linearity or stationarity of the signal. Our study showed that masked EMD decomposed the signal into physiologically meaningful alpha, delta, and slow oscillatory components without strict assumptions about frequency bands normally applied. EMD can describe nonlinear shapes of oscillations during anaesthesia, which may further elucidate brain generators of these signals using non-invasive recordings, building on earlier invasive studies of waveform shape of slow-wave activity [37]. Even though EMD and the related Hilbert-Huang Transform (HHT) have been applied to anaesthetic recordings before [14, 38, 39] the uptake in the neurophysiological community has been slow. This is mainly due to the problem of mode mixing, which complicates analysis and interpretation of EMD results, and because of a longer tradition of using Fourier-based methods. In this work we show that the use of masking signals produces a valuable and sensible decomposition of the EEG recording, even during the state of burst-suppression occurring in very deep anaesthesia. Existing applications of EMD to anaesthesia have focused on the HHT energy spectra and analysis of the entire recording of slow-wave activity, without describing burst-suppression like our analysis. Interest in EMD in the neuroscience and anaesthesia community is growing and this flexible method has the potential to improve clinical monitoring of neurophysiological signals and to further explain basic principles of functional mechanisms in the brain during anaesthesia.

**Acknowledgements.** This research was funded in whole, or in part, by the Wellcome Trust [Grant number 203139/Z/16/Z]. For the purpose of open access, the authors have applied a CC BY public copyright licence to any Author Accepted Manuscript version arising from this submission. The au-

и анестезиологов растет, данная гибкая методика способна повысить качество клинического мониторинга нейрофизиологических сигналов и получить более глубокие представления об основных принципах функциональных механизмов головного мозга во время анестезии.

**Благодарности.** Это исследование полностью или частично финансировалось Wellcome Trust [номер гранта 203139/Z/16/Z]. В целях обеспечения открытого доступа авторы согласны с использованием любой версии данного документа и его производных согласно лицензии общественного авторского права CC. Авторы также благодарят Эндрю Куинна за обсуждение аспектов РЭМ и инструментария Python РЭМ.

### Дополнительные аспекты применения РЭМ

**Применение РЭМ.** Стандартный анализ частотно-временных данных в нейрофизиологии основан на преобразовании Фурье или вейвлет-преобразовании. Эти методики разлагают данные, представляющие собой сумму волн заранее определенной формы, и подразумевают линейность и стационарность сигналов. Однако известно, что сигналы, формируемые колебаниями активности нейронов, не обладают указанными свойствами [1–3]. В связи с этим, для полного понимания функциональной и клинической роли нейронных ритмов, необходимы методы с более гибким подходом к заранее определенным формам сигнала. Для решения подобной задачи было разработано несколько методов, использующих длинные сегменты данных или определенные точки колебаний [4, 5], при этом разложение по эмпирическим модам (РЭМ) можно отнести к новым перспективным методикам мгновенного анализа, которые могут количественно оценить большое число аспектов сигнала ЭЭГ [6–8]. Оценка деталей формы волны становится важным клиническим инструментом, поскольку ее несинусоидальное строение встречается при различных заболеваниях [9]. Известно, что колебания ЭЭГ при общей анестезии также носят несинусоидальный характер [10], однако важность данного факта пока объяснена не полностью. С учетом этого существует настоятельная необходимость внедрения в практику инструментов анализа, способных выявлять несинусоидальный характер волн. Последнее и достигается с помощью РЭМ.

**Принципы работы РЭМ.** При РЭМ происходит разложение данных временного ряда на небольшое количество внутренних модовых функций, или внутренних колебаний (IMF). Используемый метод радикально отличается

thors also give thanks to Andrew Quinn for discussions about EMD and the Python EMD toolbox.

### Additional points on the use of EMD

**Why use EMD?** Standard analysis of time-frequency data in neurophysiology is based on the Fourier or Wavelet Transform. These techniques decompose data as a sum of pre-defined waveforms and explicitly assume signals are linear and stationary. However, neural oscillations are known to violate these assumptions [1–3]. To fully understand the functional and clinical roles of neural rhythms, we therefore need techniques with weaker assumptions about the nature of our signal. Several methods have been developed to address this using long data segments or specific points in the oscillations [4, 5], but Empirical Mode Decomposition (EMD) is emerging as a suitable method with instantaneous resolution capable of quantifying more aspects of the EEG signal [6–8]. Capturing waveform details is emerging as an important clinical tool, as non-sinusoidal features have been linked to pathologies [9]. EEG oscillations under general anaesthesia are also known to be non-sinusoidal [10], but the importance of the non-sinusoidal shape is yet to be fully explained. There is therefore a pressing need to introduce analysis tools capable of capturing non-sinusoidality into the community, as we have done here with EMD.

**How does EMD work?** EMD decomposes time-series data into a small number of Intrinsic Mode Functions (IMFs). The method used is radically different to standard techniques such as the Short-time Fourier Transform or the Wavelet Transform. These have pre-defined basis functions and the decomposition tries to match their amplitudes to the data. In contrast, EMD is fully data-driven with fewer assumptions about the data. Specifically, decomposition is done through a process of sifting. First, upper and lower envelopes of the signal are defined by interpolating local maxima and minima. The local envelope mean is subtracted from the signal and the process is repeated until the resulting waveform converges sufficiently. This defines the first IMF, which is subtracted from the signal and the sifting process is repeated on the residue until only a linear trend remains [11,12]. Transient and intermittent oscillatory signals can lead to a mix of frequencies appearing in one IMF, which is known as mode mixing [13–15]. Injecting masking signals into the data has been used to address this problem, and this was the technique applied here [6, 14, 16].

**How does EMD compare to other techniques?** The result of EMD is a small number of IMFs with well-defined instantaneous frequencies and amplitudes. This is in contrast to Wavelet/Fourier methods, which decompose the

от стандартных методик, таких как кратковременное преобразование Фурье или вейвлет-преобразование. Последние имеют заранее определенные базисные функции, и при разложении пытаются подобрать свои амплитуды к полученным данным. В отличие от этого РЭМ полностью зависит от полученных данных и не использует фиксированные предположения об их характере. В частности, разложение осуществляется посредством просеивания. Сначала определяются верхняя и нижняя огибающие сигнала путем интерполяции локальных максимумов и минимумов. Среднее значение локальной огибающей вычитается из сигнала, и процесс повторяется до тех пор, пока результирующая форма сигнала не станет достаточно сходящейся. В результате получается IMF1, которая вычитается из сигнала, и процесс отсеивания повторяется на остатке, пока не останется только линейный тренд [11, 12]. Транзиторные и прерывистые колебательные сигналы могут привести к смещению частот, появляющихся в одной IMF, называемому «смещением мод» [13–15]. Для решения этой проблемы можно использовать введение маскирующих сигналов в данные, и именно этот метод был применен в данном случае [6, 14, 16].

**Сравнение РЭМ с другими методиками.** В результате применения методики РЭМ выявляется небольшое количество внутренних колебаний (IMF) с четко определенными мгно-

signal into a large number of modes (potentially infinite) and analysis is done on pre-defined frequency bands. Large changes in the signal are captured by all methods, as was seen here with an increase in delta power in both the Wavelet spectrum and the relevant IMFs. However, the instantaneous resolution of EMD is of great advantage when analysing single cycle dynamics and describing non-sinusoidal shape features [6, 17]. EMD can also independently validate the use of specific frequency bands by showing the main features of interest in the signal automatically.

венными частотами и амплитудами. Это контрастирует с методом Фурье и вейвлет-методом, при которых происходит разложение сигнала на большое количество мод (потенциально бесконечное) и анализ проводят на заранее определенных частотных полосах. Большие изменения в сигнале улавливаются всеми методами, как это было видно в данном случае с увеличением дельта-мощности как в вейвлет-спектре, так и в соответствующих IMF. Однако мгновенное разрешение РЭМ имеет большое преимущество при анализе динамики одного цикла и описании особенностей несинусоидальной формы [6, 17]. РЭМ также может служить независимым методом валидации использования определенных частотных диапазонов, автоматически выявляя основные особенности сигнала, представляющие клинический интерес.

#### Литература/References

1. Sanders R.D., Tononi G., Laureys S., Sleigh J.W. Unresponsiveness  $\neq$  Unconsciousness. *Anesthesiology*. 2012; 116 (4): 946–959. DOI: 10.1097/ALN.0b013e318249d0a7.
2. Ni Mhuircheartaigh R., Warnaby C., Rogers R., Jbabdi S., Tracey I. Slow-Wave Activity Saturation and Thalamocortical Isolation During Propofol Anesthesia in Humans. *Sci Transl Med*. 2013; 23; 5 (208): 208ra148. DOI: 10.1126/scitranslmed.3006007.
3. Warnaby C.E., Sleigh J.W., Hight D., Jbabdi S., Tracey I. Investigation of Slow-wave Activity Saturation during Surgical Anesthesia Reveals a Signature of Neural Inertia in Humans. *Anesthesiology*. 2017; 127 (4): 645–657. DOI: 10.1097/ALN.0000000000001759.
4. Marchant N., Sanders R., Sleigh J., Vanhau denhuysse A., Bruno A.U., Brichtant J.E., Steven Laureys S., Bonhomme V. How Electroencephalography Serves the Anesthesiologist. *Clin EEG Neurosci*. 2014; 45 (1): 22–32. DOI: 10.1177/1550059413509801.
5. Purdon P.L., Sampson A., Pavone K.J., Brown E.N. Clinical Electroencephalography for the Anesthesiologist: Part I: Background and Basic Signatures. *Anesthesiology*. 2015; 123 (4): 937–960. DOI: 10.1097/ALN.0000000000000841.
6. Marcuse L.V., Fields M.C., Jenna J. Y. The EEG in other neurological and medical conditions and in status epilepticus. In: Rowan's Primer of EEG. 2nd ed. London: Elsevier, 2016: 157–173.
7. Gropper M. A. Miller's Anesthesia, 2-Volume Set E-Book [electronic resource], 9th ed. 2019.
8. Amzica F. What does burst suppression really mean? *Epilepsy Behav*. 2015; 49: 234–237. DOI: 10.1016/j.yebeh.2015.06.012.
9. Hogan J., Sun H., Aboul Nour H., Jing J., Tabaeizadeh M., Shoukat M., Javed F., Kassa S., Edhi., Bordbar E., Gallagher J., Moura V. J., Ghanta M., Shao Y.-P., Akeju O., Cole A.J., Rosenthal E.S., Zafar S., Westover M.B. Burst Suppression: Causes and Effects on Mortality in Critical Illness. *Neurocrit Care* 2020; 33: 565–574. DOI: 10.1007/s12028-020-00932-4
10. Pontificia Universidad Catolica de Chile., Study of the Association Between Burst Suppression During Anesthetic Induction With Propofol in Cardiac Surgery in Patients Over 65 Years of Age With Postoperative Delirium. *Clinical trials.gov*. Clinical trial registration NCT04713644, Mar. 2021. Accessed: Apr. 14, 2021. [Online]. Available: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04713644>.
11. Soehle M., Dittmann A., Ellerkmann R.K., Baumgarten G., Putensen C., Guenther U. Intraoperative burst suppression is associated with postoperative delirium following cardiac surgery: a prospective, observational study. *BMC Anesthesiol*. 2015; 15 (61): 1–8. DOI: 10.1186/s12871-015-0051-7.
12. Huang N.E., Shen Z., Long S., Wu M.C., Shih H.H., Zheng Q., Yen N.C., Tung C.C., Liu H.H. The empirical mode decomposition and the Hilbert spectrum for nonlinear and non-stationary time series analysis, *Proc. R. Soc. Lond. Ser. Math. Phys. Eng. Sci.* 1998; 454 (1971): 903–995. DOI: 10.1098/rspa.1998.0193.
13. Huang N.E., Wu Z. A review on Hilbert-Huang transform: Method and its applications to geophysical studies. *Rev. Geophys.* 2008; 46 (2): 1–23. DOI: 10.1029/2007RG000228.
14. Kortelainen J., Vayrynen E. Assessing EEG slow wave activity during anesthesia using Hilbert-Huang Transform. *Annu Int Conf IEEE Eng Med Biol Soc*. 2015; 2015: 117–120. DOI: 10.1109/EMBC.2015.7318314.
15. Barbosh M., Singh P., Sadhu A. Empirical mode decomposition and its variants: a review with applications in structural health monitoring. *Smart Mater. Struct.* 2020; 29 (9): 093001. DOI: 10.1088/1361-665X/aba539.
16. Bueno-López M., Giraldo E., Molinas M., Fosso O.B. The Mode Mixing Problem and its Influence in the Neural Activity Reconstruction. *IAENG International Journal of Computer Science*. 2019; 46 (3): 11.
17. Yang Y., Deng J., Wu C. Analysis of Mode Mixing Phenomenon in the Empirical Mode Decomposition Method. *In 2009 Second International Symposium on Information Science and Engineering, Shanghai, China*; 2009: 553–556. DOI: 10.1109/ISISE.2009.19.
18. Wu Z., Huang N.E. Ensemble empirical mode decomposition: a noise-assisted data analysis method. *Adv. Adapt. Data Anal.* 2009; 01 (01): 1–41. DOI: 10.1142/S1793536909000047.
19. Deering R., Kaiser J.F. The use of a masking signal to improve empirical mode decomposition. In: Proceedings. (ICASSP '05). *IEEE International Conference on Acoustics, Speech, and Signal Processing*. 2005; 4: iv/485–iv/488. DOI: 10.1109/ICASSP.2005.1416051.
20. Wang Y.H., Hu K., Lo M.T. Uniform Phase Empirical Mode Decomposition: An Optimal Hybridization of Masking Signal and Ensemble Approaches. *IEEE Access*. 2018; 6: 34819–34833. DOI: 10.1109/ACCESS.2018.2847634. IEEE Access 2018; 6: 34819–34833.

21. Gramfort A., Luessi M., Larson E., Engemann D.A., Strohmeier D., Brodbeck C.H., Goj R., Brooks T., Parkkonen L., Hämäläinen M. MEG and EEG data analysis with MNE-Python. *Front Neurosci.* 2013; 26 (7): 1–13. DOI: 10.3389/fnins.2013.00267.
  22. Quinn A.J., Lopes dos Santos V., Dupret D., Nobre A.C.H., Mark W. Woolrich M.W. EMD: Empirical Mode Decomposition and Hilbert-Huang Spectral Analyses in Python. *J Open Source Softw.* 2021; 6 (59): 1–8. DOI: 10.21105/joss.02977.
  23. Quinn A.J., Lopes-dos-Santos V., Huang N., Liang W.K., Juan Ch.H., Yeh J.-R., Nobre A.C., Dupret D., Woolrich M.W. Within-cycle instantaneous frequency profiles report oscillatory waveform dynamics. *bioRxiv.* 2021.04.12.439547. DOI: 10.1101/2021.04.12.439547.
  24. Kenny J.D., Westover M.B., Ching S., Brown E.N., Solt K. Propofol and sevoflurane induce distinct burst suppression patterns in rats. *Front. Syst. Neurosci.* 2014; 8 (237): 1–13. DOI: 10.3389/fnsys.2014.00237.
  25. Vijn P.C., Sneyd J.R. I.v. anaesthesia and EEG burst suppression in rats: bolus injections and closed-loop infusions. *Br. J. Anaesth.* 1998; 81 (3): 415–421. DOI: 10.1093/bja/81.3.415.
  26. Freye E., Levy J.V. Cerebral Monitoring in the Operating Room and the Intensive Care Unit: An Introductory for the Clinician and a Guide for the Novice Wanting to Open a Window to the Brain. *J. Clin. Monit. Comput.* 2005; 19 (1): 1–76. DOI: 10.1007/s10877-005-0712-z.
  27. Hesse S., Kreuzer M., Hight D., Gaskell A., Devari P., Singh D., Taylor N.B., Whalin M.K., Lee S., Sleight J.W., Garcia P.S. Association of electroencephalogram trajectories during emergence from anaesthesia with delirium in the postanaesthesia care unit: an early sign of postoperative complications. *Br. J. Anaesth.* 2019; 122 (5): 622–634. doi: 10.1016/j.bja.2018.09.016.
  28. Hight D., L. J. Voss L.J., Garcia P.S., J. Sleight J.W. Changes in Alpha Frequency and Power of the Electroencephalogram during Volatile-Based General Anesthesia. *Front. Syst. Neurosci.* 2017; 11 (36): DOI: 10.1016/j.bja.2018.09.016.10 doi: 10.3389/fnsys.2017.00036.
  29. Sleight J., Pullon R.M., Vlissides P.E., Warnaby C.E. Electroencephalographic slow wave dynamics and loss of behavioural responsiveness induced by ketamine in human volunteers. *Br. J. Anaesth.* 2019; 123 (5): 592–600. DOI: 10.1016/j.bja.2019.07.021.
  30. Massimini M., Huber R., Ferrarelli F., Hill S., Giulio T. The Sleep Slow Oscillation as a Traveling Wave. *J. Neurosci.* 2004; 24 (31): 6862–6870. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.1318-04.2004.
  31. Murphy M., Bruno M.-A., Riedner B.A., Boveroux P., Noirhomme Q., Landsness E., Brichant J.-F., Phillips Ch., Massimini M., Laureys S., Tononi G., Boly M. Propofol Anesthesia and Sleep: A High-Density EEG Study. *Sleep.* 2011; 34 (3): 283–291A. DOI: 10.1093/sleep/34.3.283.
  32. Lewis L.D., Ching Sh., Weiner V.S., Peterfreund R.A., Eskandar E.N., Cash S.S., Brown E.N., Purdon P.L. Local cortical dynamics of burst suppression in the anaesthetized brain. *Brain.* 2013; 136 (9) 2727–2737. DOI: 10.1093/brain/awt174.
  33. Ming Q., Liou J.-Y., Yang F., Li J., Chu Ch., Zhou Q., Wu D., Xu S., Luo P., Liang J., Li D., Pryor K.O., Lin W., Schwartz T., Ma H. Isoflurane-Induced Burst Suppression Is a Thalamus-Modulated, Focal-Onset Rhythm With Persistent Local Asynchrony and Variable Propagation Patterns in Rats. *Front. Syst. Neurosci.* 2021; 14: 1–11. DOI: 10.3389/fnsys.2020.599781.
  34. Lang X., Zheng Q., Zhang Z., Lu S., Xie L., Horch A., Su H. Fast Multivariate Empirical Mode Decomposition. *IEEE Access PP.* 2018; 99: 1–18. DOI: 10.1109/ACCESS.2018.2877150.
  35. Rehman N., Mandic D.P. Multivariate empirical mode decomposition. *Proc. R. Soc. Math. Phys. Eng. Sci.* 2010; 466 (2117): 1291–1302. DOI: 10.1098/rspa.2009.0502.
  36. Wu Z., Feng J., Qiao F., Tan Z.-M. Fast multidimensional ensemble empirical mode decomposition for the analysis of big spatio-temporal datasets. *Philos. Trans. R. Soc. Math. Phys. Eng. Sci.* 2016; 374 (2065): 20150197. DOI: 10.1098/rsta.2015.0197.
  37. Amzica E., Steriade M. Electrophysiological correlates of sleep delta waves. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* 1998; 107 (2): 69–83. DOI: 10.1016/S0013-4694 (98)00051-0.
  38. Chen S.-J., Peng Ch.-J., Chen Y.-Ch., Hwang Y.-R., Lai Y.-S., Fan S.-Z., Jen K.-K. Comparison of FFT and marginal spectra of EEG using empirical mode decomposition to monitor anaesthesia. *Comput. Methods Programs Biomed.* 2016; 137: 77–85. DOI: 10.1016/j.cmpb.2016.08.024.
  39. Li Ch., Li D., Liang Z., Voss L.J., Sleight J.W. Analysis of depth of anaesthesia with Hilbert–Huang spectral entropy. *Clin. Neurophysiol.* 2008; 119 (11): 2465–2475. DOI: 10.1016/j.clinph.2008.08.006.
- Дополнительные источники/Supplements**
1. Cole S. R., Voytek B. Brain Oscillations and the Importance of Waveform Shape. *Trends Cogn. Sci.* 2017; 21 (2): 137–149. DOI: 10.1016/j.tics.2016.12.008.
  2. van Ede F., Quinn A.J., Woolrich M.W., Nobre A.C. Neural Oscillations: Sustained Rhythms or Transient Burst-Events? *Trends Neurosci.* 2018; 41 (7): 415–417. DOI: 10.1016/j.tins.2018.04.004.
  3. Vidaurre D., Quinn A.J., Baker A.P., Dupret D., Tejero-Cantero A., Woolrich M.W. Spectrally resolved fast transient brain states in electrophysiological data. *NeuroImage.* 2016; 126: 81–95. DOI: 10.1016/j.neuroimage.2015.11.047.
  5. Bartz S., Avarvand E.S., Leicht G., Nolte G. Analyzing the waveshape of brain oscillations with bicoherence. *NeuroImage.* 2019; 188: 145–160. DOI: 10.1016/j.neuroimage.2018.11.045.
  6. Quinn A.J. Within-cycle instantaneous frequency profiles report oscillatory waveform dynamics. *bioRxiv.* 2021: 2021.04.12.439547. DOI: 10.1101/2021.04.12.439547.
  7. Soler A., Muñoz-Gutiérrez P.A., Bueno-López M., Giraldo E., Molinas M. Low-Density EEG for Neural Activity Reconstruction Using Multivariate Empirical Mode Decomposition. *Front. Neurosci.* 2020; 14 DOI: 10.3389/fnins.2020.00175.
  8. Kortelainen J., Väyrynen E. Assessing EEG slow wave activity during anaesthesia using Hilbert-Huang Transform. in *2015 37th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society (EMBC).* 2015: 117–120. doi: 10.1109/EMBC.2015.7318314.
  9. Cole S.R., van der Meij R., Peterson E.J., de Hemptinne C., Starr P.A., Voytek B. Nonsinusoidal Beta Oscillations Reflect Cortical Pathophysiology in Parkinson's Disease. *J. Neurosci.* 2017; 37 (18): 4830–4840. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.2208-16.2017.
  10. Amzica F., Steriade M. 'Electrophysiological correlates of sleep delta waves', *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* 1998; 107 (2): 69–83. DOI: 10.1016/S0013-4694 (98)00051-0.
  11. Huang N.E., Shen Zh., Long S.R., Wu M.L.C. The empirical mode decomposition and the Hilbert spectrum for nonlinear and non-stationary time series analysis. *Lond. Ser. Math. Phys. Eng. Sci.* 1998; 454 (1971): 903–995. DOI: 10.1098/rspa.1998.0193.
  12. Wang Y.-H., Hu K., Lo M.-T. Uniform Phase Empirical Mode Decomposition: An Optimal Hybridization of Masking Signal and Ensemble Approaches', *IEEE Access.* 2018; 6: 34819–34833. DOI: 10.1109/ACCESS.2018.2847634.
  13. Yang Y., Deng J., Wu C. Analysis of Mode Mixing Phenomenon in the Empirical Mode Decomposition Method', in *2009 Second International Symposium on Information Science and Engineering*, Shanghai, China. 2009: 553–556. DOI: 10.1109/ISISE.2009.19.
  14. Deering R., Kaiser J.F. The use of a masking signal to improve empirical mode decomposition', in *Proceedings (ICASSP '05). IEEE International Conference on Acoustics, Speech, and Signal Processing.* 2005; 4: iv/485–iv/488. DOI: 10.1109/ICASSP2005.1416051.
  15. Wu Z., Huang N.E. Ensemble empirical mode decomposition: a noise-assisted data analysis method. *Adv. Adapt. Data Anal.* 2009; 01 (01): 1–41. DOI: 10.1142/S1793536909000047.
  16. Fabus M.S., Quinn A.J., Warnaby C.E., Woolrich M.W. Automatic decomposition of electrophysiological data into distinct non-sinusoidal oscillatory modes. *bioRxiv.* 2021: 2021.07.06.451245. DOI: 10.1101/2021.07.06.451245.
  17. Lo M.-T., Novak V., Peng C.-K., Liu Y., Hu K. Nonlinear phase interaction between nonstationary signals: A comparison study of methods based on Hilbert-Huang and Fourier transforms. *Phys. Rev. E Stat. Nonlin. Soft Matter Phys.* 2009; 79 (6 Pt 1): 061924 DOI: 10.1103/PhysRevE.79.061924.

Поступила/Received 2021.05.05

## Современные аспекты профессиональной подготовки анестезиологов-реаниматологов в ординатуре

С. А. Перепелица<sup>1,2\*</sup>, В. В. Мороз<sup>2</sup>, В. Т. Долгих<sup>2</sup>, Е. А. Боева<sup>2</sup>,  
Д. О. Старостин<sup>2</sup>, М. А. Милованова<sup>2</sup>, В. В. Антонова<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Балтийский федеральный университет им. Иммануила Канта,  
Россия, 236041, г. Калининград, ул. Александра Невского, д. 14

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

## Current Aspects of Professional Training of Anesthesiologists and Intensive Care Specialists in Residency Programs

Svetlana A. Perepelitsa<sup>1,2\*</sup>, Victor V. Moroz<sup>2</sup>, Vladimir T. Dolgikh<sup>2</sup>, Ekaterina A. Boeva<sup>2</sup>,  
Daniil O. Starostin<sup>2</sup>, Marina A. Milovanova<sup>2</sup>, Viktoriya V. Antonova<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Immanuel Kant Baltic Federal University  
14 Aleksandr Nevsky Str., 236041 Kaliningrad, Russia

<sup>2</sup> 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:** С. А. Перепелица, В. В. Мороз, В. Т. Долгих, Е. А. Боева, Д. О. Старостин, М. А. Милованова, В. В. Антонова. Современные аспекты профессиональной подготовки анестезиологов-реаниматологов в ординатуре. *Общая реаниматология*. 2021; 17 (5): 80–95. <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2021-5-80-95> [На русск. и англ.]

**For citation:** Svetlana A. Perepelitsa, Victor V. Moroz, Vladimir T. Dolgikh, Ekaterina A. Boeva, Daniil O. Starostin, Marina A. Milovanova, Viktoriya V. Antonova. ?? *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2021; 17 (5): 80–95. <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2021-5-80-95> [In Russ. and Engl.]

### Резюме

Цель — изучить современные аспекты обучения ординаторов по специальности анестезиология-реаниматология. В статье представлены принципы теоретической подготовки обучающихся, значимости глубоких знаний у ординаторов по патофизиологии и формированию клинического мышления. Показаны возможности использования инновационных образовательных компьютерных технологий при обучении в ординатуре. Появление устойчивого междисциплинарного педагогического взаимодействия дает возможность улучшить результаты обучения в ординатуре, достигнув главной цели — формирование личности врача, обладающего универсальными, общепрофессиональными и профессиональными компетенциями, способного оказать квалифицированную медицинскую помощь.

**Ключевые слова:** обучение; ординатура; инновационные образовательные технологии; STEAM-практика; интеллект-карта; симуляционное обучение

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### Summary

The aim is to study the current aspects of resident training in anesthesiology and intensive care. The article focuses on the theoretical training of residents, the importance of a thorough knowledge of pathophysiology, and the formation of clinical thinking. Opportunities for the use of innovative educational computer technologies in residency training are shown. A consistent interdisciplinary pedagogical interaction makes it possible to improve the outcomes of residency training by achieving the main goal of developing a physician who has acquired universal, general and specific professional competences and is capable of providing high-quality medical care.

**Keywords:** training; residency; innovative educational technologies; STEAM practice; mind map; simulation training

**Conflicts of Interest.** The authors declare no conflicts of interest.

DOI:10.15360/1813-9779-2021-5-80-95

Адрес для корреспонденции:

\*Светлана Александровна Перепелица  
E-mail: sveta\_perepeliza@mail.ru

Correspondence to:

\*Svetlana A. Perepelitsa  
E-mail: sveta\_perepeliza@mail.ru

## Введение

**Общие вопросы медицинской педагогики.** Медицинская педагогика занимает особое место, т. к. является междисциплинарной областью, объединяющей знания теории и практики для эффективного обучения теоретическим, прикладным и клиническим дисциплинам [1, 2]. В сфере высшего профессионального медицинского образования педагогическая наука имеет отличительные особенности, т. к. в ней сочетаются и научно-теоретическая, и конструктивно-техническая функции. От организации педагогического процесса зависит результативность обучения [1–3]. Особое место отводится анестезиологии — реаниматологии, т. к. подготовка по этой специальности имеет свои особенности.

Преподавание в высшей медицинской школе строится на общих закономерностях и тенденциях: целеполагание, практикоориентированность, углубление или формирование духовных, ценностно-смысловых, воспитательных компонентов развития личности.

Для медицинского образования характерны следующие принципы:

- Целенаправленность обучения. Подразумевается достижение конечной цели — сформированность профессиональных компетенций врача, который сможет оказывать квалифицированную медицинскую помощь;
- Научный подход. Обучение осуществляется на позициях доказательной педагогики и медицины.
- Систематичность обучения подразумевает ступенчатое приобретение знаний фундаментальных и клинических дисциплин.
- Прочность и выживаемость знаний. Обучающиеся должны иметь глубокие и устойчивые знания, полученные в течение всего обучения, т. к. они будут использованы в практической работе.
- Связь теории и практики. Клиническая медицина основана на теоретических знаниях, которые используются в алгоритме формулирования диагноза и назначения лечения пациентам.
- Наглядность изучаемого материала. Этот принцип не всегда может быть реализован, т. к. многие процессы, протекающие в организме, ранее могли быть описаны только словесно. Современные образовательные технологии значительно увеличили возможность представления наглядного материала.
- Эмоциональная позитивность и сформированность коммуникативной компетенции будущего специалиста. Способность к самовосприятию, самовыражению, осуществлению деятельности, связанной с профессиональным общением и управлением.

## Introduction

**General issues of medical teaching.** Medical teaching is of particular importance because it is an interdisciplinary area that combines knowledge of theory and practice for effective teaching of theoretical, applied, and clinical disciplines [1, 2]. Pedagogical science stands out in the area of higher professional medical education because it combines scientific and theoretical as well as constructive and technical functions. The effectiveness of teaching depends on its organization [1–3]. A special emphasis is placed on anesthesiology and intensive care, since training in this specialty has distinctive features.

Teaching in higher medical school is based on general patterns and trends including goal-setting, being practice-oriented, and strengthening or shaping the spiritual, axiological, and educational components of an individual's development.

Medical education is characterized by the following principles:

- (1) targeting which implies achieving the ultimate goal being formation of professional competences of a physician who will be able to provide high-quality medical care;
- (2) scientific approach: teaching is based on evidence-based education and medicine;
- (3) systematic learning involves a step-by-step acquisition of knowledge of the fundamental and clinical disciplines;
- (4) durability and survivability of knowledge. Trainees should have deep and sustained knowledge gained throughout their training, as it will be used in practical work;
- (5) linking theory and practice. Clinical medicine is based on theoretical knowledge, which is used while formulating a diagnosis and prescribing treatment for patients;
- (6) visual clarity of the material being studied. This principle cannot always be implemented, since many of the processes occurring in the body could previously only be described verbally. Modern educational technology has significantly increased the opportunities for the presentation of visual material;
- (7) emotional positivity and developed communicative competence of the future specialist. Ability to self-perception, self-expression, implementation of activities related to professional communication and management;
- (8) personal development. Being a doctor requires a special approach to self-development, self-education throughout professional activity period [4, 5].

Innovative methods of teaching are increasingly used in medical education along with problem-oriented learning [4]. This is an area of new scientific interest in modern pedagogical philosophy [6]. Explo-

• Воспитание. Врач — это профессия, требующая особого подхода к саморазвитию, самовоспитанию личности в течение всей профессиональной деятельности [4, 5].

В медицинской образовании наряду с проблемно-ориентированным обучением все чаще используются педагогические инновационные методики [4]. Это является областью новых научных интересов в современной педагогической философии [6]. Экспоненциальный рост медицинских знаний и повышение требований к профессиональным компетенциям врачей вызывает потребность в современных и эффективных моделях обучения. Новыми концепциями обучения врачей могут стать смешанное и онлайн-обучение в различных форматах. Смешанное обучение может сочетать в себе элементы учебного проектирования и аудиторного обучения [7, 8]. На современном этапе развития медицинского образования уже применяется симуляционное и имитационное обучение и происходит переход к инновационным образовательным технологиям: электронным, компьютерным, STEAM-практикам [9, 10].

Компьютерные технологии представляют набор инструментов, различных программ и сервисов визуализации данных «Coogole», программы 3D-моделирования «SketchUp», карандашного программирования «Pencil Code», образовательной платформы «Kooohut» и других. Они успешно включаются в процесс обучения в медицинском институте, что способствует повышению мотивации, улучшению усвоения материала [5].

Одним из перспективных новых форматов является имитационное и симуляционное обучение, которое становится все более распространенным в обучении студентов медицинского направления. Формы моделирования включают: стандартизированных пациентов, которые обучены изображать конкретный клинический случай; манекены, которые можно использовать для моделирования дискретных задач или интегрированных систем организма; виртуальные пациенты в высоко реалистичных компьютерных моделях. Симуляция обеспечивает безопасную среду, в которой студенты могут практиковаться, прежде чем применять свои новые клинические навыки на реальных пациентах. Постоянный контакт с преподавателем, непрерывная оценка действий студентов способствует повышению эффективности обучения [7, 11–13].

Новым направлением в медицинском образовании является STEAM-практика. Термин «STEAM» является акронимом, состоящий из пяти заглавных букв: S — Science (естественнонаучные дисциплины), T — Technology (тех-

сive growth of medical knowledge and increasing requirements for professional competences of physicians necessitate modern and effective learning models. Blended and online learning in a variety of formats could become novel promising concepts for training physicians. Blended learning can combine elements of learning design and classroom learning [7, 8]. At the current stage of medical education development, simulation training has been already implemented, and transition to innovative educational technologies including electronic, computer-based, STEAM practice [9, 10] is underway.

Computer technologies comprise a set of tools, various software and data visualization services such as Coogole, SketchUp 3D modeling software, Pencil Code programming tool, Kooohut educational platform, and others. They are effectively integrated into the learning process in the medical school, which helps to increase motivation and improve material learning [5].

Imitational and simulation learning is one of the promising new formats that is becoming increasingly common in the education of medical students. Simulation includes standardized patients who are trained to portray specific clinical cases; dummies that can be used to simulate specific tasks or integrated body systems; and virtual patients in highly realistic computer models. The simulation provides a safe environment in which students can practice before practicing their new clinical skills on real patients. Constant contact with the tutor, continuous assessment of students' performance enhances learning efficacy [7, 11–13].

The STEAM practice is a new trend in medical education. The term «STEAM» is an acronym standing for Science, Technology, Engineering, Art, and Mathematics [14, 15]. STEAM technologies have been seamlessly integrated into the teaching practice of medical educational institutions [16, 17]. The U. S. Department of Labor has included STEAM technology in the training program for nurses, giving them the opportunity to explore the essential disciplines and principles of communication in a new format. Educational programs, where creativity becomes an integral part of the most important stages of training of medical professionals, are more likely to produce a specialist who can help a patient in a critical situation or organize effective teamwork [18].

The newly emerged interdisciplinary approach to training in higher medical school is a promising approach. It can be used to implement educational programs at the level of specialist and residency training to achieve the ultimate goal of education which is to develop a physician who has universal, general and professional competences and is able to provide high-quality medical care.

**On training of anesthesiology and intensive care specialists.** Among medical specialties, anes-

нология в образовании), E — Engineering (инженеринг), A — Art (творчество, искусство) и M — Mathematics (математика) [14, 15]. STEAM-технологии органично входят в педагогическую практику медицинских образовательных учреждений [16, 17]. Министерство труда США включило STEAM-технологию в программу обучения медицинских сестер, представив им возможность глубокого изучения в новом формате необходимых дисциплин, правил коммуникации. Образовательные программы, где творчество становится неотъемлемой частью важнейших этапов обучения медицинских работников, имеют больше шансов подготовить специалиста, который сможет помочь пациенту в критической ситуации, сумеет организовать эффективную работу команды [18].

Возникший междисциплинарный подход к обучению в высшей медицинской школе является перспективным направлением. С его помощью могут быть реализованы образовательные программы уровня специалитета, ординатуры для достижения конечной цели обучения — формирование личности врача, обладающего универсальными, общепрофессиональными и профессиональными компетенциями, способного оказать квалифицированную медицинскую помощь.

**К технологии подготовки анестезиологов-реаниматологов.** Среди врачебных специальностей в течение нескольких десятилетий особое место занимает анестезиология-реаниматология, имеющая в нашей стране свои исторические корни. В Союзе Советских Социалистических Республик происходило развитие фундаментальных наук, что способствовало возникновению нового научного направления, изучающего механизмы развития критических состояний, временного замещения функций органов и систем. В 1961 г. на конгрессе травматологов в г. Будапеште академик АМН СССР В. А. Неговский предложил назвать новое направление реаниматологией [19]. Таким образом, в медицине сформировались три важнейших направления, соответствующие трем состояниям пациентов: первое направление — это терапия, когда для лечения применяются только консервативные методы, второе направление — хирургия, для лечения используются оперативные методы, третье — анестезиология-реаниматология, когда осуществляется лечение пациентов в критических, терминальных и постреанимационных состояниях, независимо от их происхождения [20]. Таким образом, существует неразрывная связь между этими специальностями (рис. 1), т. к. врач-анестезиолог-реаниматолог оказывает квалифицированную помощь пациентам, нуждающимся в экстренном и пла-

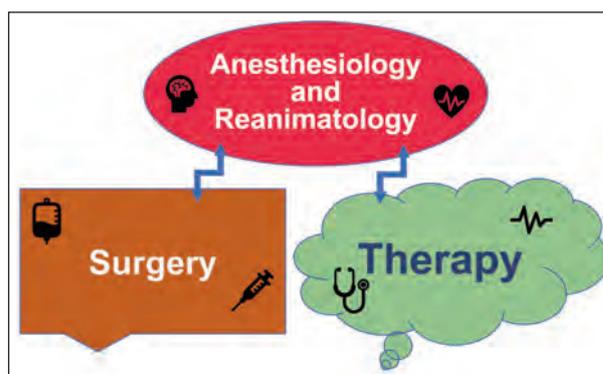


Рис. 1. Взаимосвязь клинических дисциплин.

Fig. 1. Interrelation of clinical disciplines.

Примечание. Anesthesiology and reanimatology — анестезиология и реаниматология; surgery — хирургия; therapy — терапия.

esthesiology and reanimatology, which both possess their own historical roots in Russia, has enjoyed a special place for several decades. The Union of Soviet Socialist Republics was developing fundamental sciences, which fostered the new scientific direction exploring the mechanisms of critical illness development and provisional substitution of functions of organs and systems. In 1961, Russian academician V. A. Negovsky suggested calling this novel direction «reanimation» at a traumatology congress in Budapest [19]. Since then, this term has been widely used in Russian medicine. Thus, three most important directions were developed in medicine, corresponding to three patient states. The first one is therapy, when only conservative methods are used for treatment; the second direction is surgery, when operative methods are used for treatment; the third one is anesthesiology and reanimation (intensive care), which deals with treating patients with critical, terminal and post-intensive care illnesses regardless of their origin [20]. Therefore, there is an inextricable link between these areas (Fig. 1), because an anesthesiology and reanimatology physician provides expert care to patients requiring emergency and elective surgical treatment, during the perioperative period, performs anesthesia during surgical interventions, and prescribes treatment for critical conditions of various etiologies. For this reason, an anesthesiology and intensive care specialist should have thorough theoretical knowledge and practical skills in various areas of surgery and internal medicine. Currently, the competence-based approach in medical education has been formulated which necessitates the development of competences during all stages of training. Universal and general professional competences are developed during specialist training programs according to the «31.05.01 Medicine» Russian professional standard [21]. The formation of competences continues during the next stage of training. The Federal State Educational Standard of

новом оперативном лечении, в периоперационном периоде, проводит обезболивание во время оперативных вмешательств, назначает лечение при развитии критических состояний различной этиологии.

В связи с этим, врач-анестезиолог-реаниматолог должен обладать глубокими теоретическими знаниями и практическими навыками в различных областях хирургии и терапии. В настоящее время сформулирована доктрина компетентностного подхода в медицинском образовании, в связи с чем на всех этапах обучения происходит формирование компетенций. На уровне специалитета по специальности 31.05.01 Лечебное дело формируются универсальные и общепрофессиональные компетенции [21]. На следующем этапе обучения продолжается формирование компетенций. В Федеральном государственном образовательном стандарте высшего образования по специальности 31.08.02 Анестезиология-реаниматология (уровень подготовки кадров высшей квалификации) предусмотрено формирование 3-х универсальных и 12 профессиональных компетенций [22]. В результате освоения программы ординатуры врач-анестезиолог-реаниматолог должен обладать такими знаниями, как этиология, патогенез, патоморфология и клиническая картина заболеваний, требующих выполнения оперативных вмешательств и консервативных методов лечения неотложных состояний, механизм действия лекарственных препаратов, алгоритмы оказания помощи при критических состояниях и т. д.

**Роль знаний фундаментальной медицины в подготовке врача-анестезиолога-реаниматолога.** Основополагающую роль в подготовке врача-анестезиолога-реаниматолога играет изучение патофизиологии, с помощью которой формируется научный медицинский интеллект. Патофизиология базируется на знаниях главных фундаментальных дисциплин: нормальной и патологической анатомии, физиологии. Патофизиология занимается выяснением общих и конкретных механизмов, лежащих в основе возникновения, развития и завершения болезней, а также механизмов резистентности организма. Не менее важным представляется анализ типовых патологических процессов, различная комбинация которых определяет характерную клиническую картину заболеваний, а также выявляет типовые формы нарушений и восстановления функций отдельных органов и систем. Особенно близка анестезиологам-реаниматологам частная патофизиология, изучающая нарушения дыхания, кровообращения, кроветворения, пищеварения, эндокринной и других систем. Анестезиологи-реаниматологи должны изучать болезни и

Higher Education for specialty «31.08.02 Anesthesiology and Intensive Care (Reanimatology)» (higher qualification training) includes the development of 3 universal and 12 professional competences [22]. As a result of mastering the residency program, an anesthesiology and intensive care specialist should have knowledge in etiology, pathogenesis, pathomorphology and clinical presentation of diseases requiring surgical interventions and conservative treatment of emergency conditions, mechanism of action of medications, algorithms of critical care, etc.

**The role of fundamental medical knowledge in the training of anesthesiology and intensive care specialist.** The study of pathophysiology forming the scientific medical intellect plays a fundamental role in the training of an anesthesiology and intensive care physician. Pathophysiology is based on the knowledge of the main fundamental disciplines such as normal and pathological anatomy and physiology. Pathophysiology studies the general and specific mechanisms underlying the development and progression of diseases, as well as the causes of the body's resistance. Equally important is the analysis of pathological patterns, which mold the typical clinical presentation of diseases, as well as identification of typical patterns of disorders and restoration of functions of individual organs and systems. Pathophysiology of specific systems such as respiratory, cardiovascular, hematopoietic, digestive, endocrine and other is especially relevant for anesthesiology and intensive care specialists. They must study diseases and focus on the specific features that distinguish one condition from another, or on individual variations of the same disease. The study of the patterns of critical and post-anesthesia illnesses based on evidence-based medicine principles is the basis of good medical reasoning and effective performance of anesthesiology and intensive care specialist. Dialectical thinking serves as the methodological basis for the development of theory of mechanisms of critical illness. A number of fundamental positions of general pathology were created on this basis, that allows a doctor to analyze the issues of health and disease in a new way, which implies revealing the connection between structure and function, implementation of a systematic approach in considering critical and post intensive care conditions, evaluation of the pathogenetic significance of neurohumoral regulation in damage and adaptation [23].

In recent decades, clinical pathophysiology, a novel scientific direction which teaches physicians to use knowledge of the pathological processes occurring in the body, the nature of compensatory and adaptive mechanisms maintaining the function of the affected organ or entire systems in clinical practice, has emerged. Clinical pathophysiology involves the study and analysis of the severity

фиксировать внимание на специфических чертах, отличающих одно заболевание от другого, или одно и то же заболевание, но по-разному протекающее у различных людей. Изучение закономерностей течения критических и постреанимационных состояний — основа рационального профессионального мышления и эффективного действия анестезиолога-реаниматолога на базе принципов доказательной медицины. Методологической основой разработки теории патологических изменений при критических состояниях является диалектический материализм. На его основе был создан ряд принципиальных положений общей патологии, которые позволяют по-новому анализировать анестезиологу-реаниматологу проблему болезни и здоровья, в частности: выявлять связь структуры и функции, осуществлять системный подход в рассмотрении критических и постреанимационных состояний, оценивать патогенетическую значимость нейро-гуморальную роль регуляции в процессах повреждения и приспособления [23].

В последние десятилетия появился новый раздел — клиническая патофизиология, с помощью которой врач обучается умению в клинической практике использовать знания о патологических процессах, происходящих в организме, о характере компенсаторно-приспособительных механизмов, обеспечивающих сохранение функции пораженного органа или целых систем. Клиническая патофизиология предусматривает изучение и анализ степени тяжести нарушений функций жизненно важных органов человека на каждом этапе заболевания; выявление взаимосвязи патогенеза заболевания и его клинических проявлений; определение степени развития патологического процесса в органе-мишени, а также его влияние на другие жизненно важные органы и системы организма больного. Кроме того, эта дисциплина учит рационально использовать методы функциональной диагностики для оценки степени нарушения функции органа или системы, выбора патогенетически обоснованного лечения, а также разрабатывать новые рекомендации по диагностике и профилактике заболеваний и лечению больного.

Полученные знания фундаментальной и клинической патофизиологии позволяют врачу:

- аргументировано объяснять происхождение и механизмы развития клинических симптомов заболевания;
- интерпретировать результаты лабораторной и функциональной диагностики;
- оценивать специфическую (иммунологическую) и неспецифическую реактивность организма больного, учитывать его особенности при выборе оптимальных методов лечения конкретного пациента;

of impaired functions of vital organs at each stage of the disease, identifies the relationship between disease pathogenesis and its clinical manifestations, and helps determine the severity of pathological process in the target organ, as well as its impact on other vital organs and systems of the patient's body. In addition, this discipline teaches how to rationally use functional diagnostics to assess the degree of organ or system dysfunction, the reasonable choice of treatment, as well as to develop new guidelines for diagnosis, treatment and prevention of diseases.

Fundamental and clinical pathophysiology allows the physician:

- to explain the origin and mechanisms of clinical signs and symptoms;
- to interpret the results of laboratory and instrumental investigations;
- to evaluate the specific (immunological) and nonspecific responsiveness of the body, taking into account individual characteristics when choosing the best treatment methods;
- to select the optimal methods of pathogenetic therapy in a reasonable manner.

The anesthesiology and intensive care specialist should identify the specific etiological factor causing the disease and its specific manifestations, as well as reveal the conditions contributing the unfavorable course of the disease and critical illness development. The doctor should remember that each pathological process or disease is a long chain of cause-and-effect relationships triggered by damage at the molecular, cellular, organ and body levels. In this complex chain, along with damage mechanisms, urgent compensation mechanisms aimed at maintaining the individual existence are simultaneously activated [24, 25]. The anesthesiology and intensive care specialist should learn to identify the main link in the pathogenesis of the disease, whose elimination could help cure the patient. Late elimination of such link results in vicious circles, generating abnormal excitation, prolonging the disease and causing critical illness which can result in adverse outcome and even death.

Thus, fundamental and clinical pathophysiology should hold a special place among fundamental disciplines in the residency program for anesthesiology and intensive care. Without its knowledge, personal development of a doctor becomes impossible. Knowledge of clinical pathophysiology and the principles of evidence-based medicine will allow the anesthesiology and intensive care physician to find the most reliable scientific data on the problem under study, enable their critical evaluation and practical application with proper efficacy assessment.

**Simulation training of basic life support in residency. Assessment of technical skills survival.** The main document regulating activities of a physi-

- обоснованно выбирать оптимальные методы патогенетической терапии.

Анестезиолог-реаниматолог должен определить конкретный этиологический фактор, который вызвал заболевание и наделил его специфическими проявлениями, а также акцентировать внимание на условиях, способствовавших неблагоприятному течению заболевания, развитию критических состояний. Врач должен помнить о том, что каждый патологический процесс или заболевание — это длинная цепь причинно-следственных отношений, пусковым звеном которых является повреждение на самых различных уровнях: молекулярном, клеточном, органном и организменном. В этой сложной цепи наряду с механизмами повреждения одновременно включаются срочные механизмы компенсации, направленные на сохранение индивидуума [24, 25]. Врач-анестезиолог-реаниматолог должен научиться выделить главное звено в патогенезе заболевания, устранив которое можно вылечить пациента. Несвоевременное устранение главного звена приводит к формированию порочных кругов, генераторов патологически усиленного возбуждения, длительному течению заболевания, развитию так называемых критических состояний и наступлению неблагоприятного, в том числе летального, исхода.

Таким образом, в программе ординатуры по специальности «анестезиология-реаниматология» фундаментальная и клиническая патофизиология должны занимать особое место среди фундаментальных дисциплин, без изучения которых невозможно развитие профессиональной личности врача-анестезиолога-реаниматолога. Знание клинической патофизиологии и принципов доказательной медицины позволит анестезиологу-реаниматологу осуществлять поиск наиболее достоверных научных данных по изучаемой проблеме, критическую оценку их качества, применять на практике полученные результаты с последующей их оценкой эффекта.

#### **Симуляционное обучение базовой сердечно-легочной реанимации в ординатуре. Оценка выживаемости технических навыков.**

Основным документом, регламентирующим работу врача, является Профессиональный стандарт врача-специалиста. Министерством труда и социальной политики РФ утверждено 56 профессиональных стандартов врачей-специалистов. В каждом из них отдельно выделена трудовая функция «Оказание медицинской помощи в неотложной и экстренной форме». Врачи всех специальностей, в рамках своих профессиональных компетенций, обязаны проводить сердечно-легочную реанимацию (СЛР) при остановке сердца. В связи с чем, наибо-

рицан в России это Профессиональный стандарт для Медицинских специалистов. Министерство труда и социальной политики Российской Федерации одобрило 56 профессиональных стандартов для медицинских специалистов. Каждый из них отдельно идентифицирует оказание экстренной и неотложной медицинской помощи. Врачи всех специальностей, как часть их профессиональных компетенций, обязаны выполнять сердечно-легочную реанимацию (СЛР) при остановке сердца. В этом отношении, курс «Базовая и продвинутая поддержка жизни» является популярным. Анестезиолог и специалист по интенсивной терапии, как часть своей профессиональной компетенции, обязан не только выполнять базовую и продвинутую поддержку жизни при остановке сердца, но и выполнять роль лидера междисциплинарной команды, выполняющей реанимацию. Интеграция этого курса во все программы подготовки врачей находится в процессе. Обучение по базовой СЛР, а также оценка качества полученных знаний и технических навыков, критически важно для улучшения результатов лечения при остановке сердца в реальных клинических условиях. Однако, вопрос выживаемости при приобретенных навыках остается актуальным.

Качество грудных компрессий и вентиляций во время СЛР было оценено в лаборатории для изучения передовых технологий в В. А. Неговском научно-исследовательском институте общей реаниматологии (Москва, Россия). Всего 66 резидентов из различных специальностей участвовали в исследовании в декабре 2019 года. Все участники завершили курс обучения по базовой СЛР как часть программы специальности и участвовали в первоначальной аккредитации специалиста в июне 2019 года. Дизайн исследования состоял из двух фаз: в первой фазе, было проведено предварительное тестирование базовых навыков СЛР. Во второй фазе исследования, все резиденты завершили 3-часовой курс обучения по СЛР с использованием 4-ступенчатой модели обучения, за которым последовало финальное тестирование тех же навыков. На рисунке 2 показаны результаты исследования.

Предварительное тестирование базовых навыков СЛР показало, что процент целевых грудных компрессий и вентиляций был значительно ниже рекомендуемого. Средняя частота грудных компрессий была достаточной. Глубина грудных компрессий была в пределах нормы. После обучения, процент целевых компрессий значительно увеличился ( $P < 0.05$ ) и достиг нижней границы рекомендуемого. Процент целевых вентиляций также значительно увеличился ( $P < 0.05$ ), но не достиг рекомендуемых значений. Средняя глубина и частота грудных компрессий были в пределах рекомендуемого. Исследование показало, что базовые навыки реанимации начинают исчезать через 6 месяцев. Навыки как для грудных компрессий, так и для вентиляций имели самый низкий «уровень выживания». Короткий курс обучения улучшает качество грудных компрессий (частота и глубина), но не достаточно длительно, чтобы приобрести эффективные навыки для выполнения искусственных вентиляций.

лее востребованным является симуляционный курс «Базовая и расширенная сердечно-легочная реанимация». Врач-анестезиолог-реаниматолог в рамках своих профессиональных компетенций обязан не только проводить базовую и расширенную сердечно-легочную реанимацию при остановке сердца, но и должен взять на себя роль лидера междисциплинарной команды, проводящей реанимационные мероприятия. В настоящее время ведется интеграция этого курса в программу обучения всех врачей. Обучение навыкам проведения базовых реанимационных мероприятий, а также оценка качества полученных знаний и технических навыков крайне важны для улучшения исходов при остановке кровообращения в реальных клинических условиях. Но актуальным остается вопрос сохранения полученного навыка у обучающихся.

В лаборатории изучения перспективных симуляционных технологий НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского ФНКЦ РР выполнена оценка качества проведения компрессий грудной клетки и искусственных вдохов во время проведения СЛР. В исследовании приняли участие 66 ординаторов различных специальностей в декабре 2019 года. Все участники прошли симуляционный курс по базовой сердечно-легочной реанимации в рамках программы специалитета и в июне 2019 года приняли участие в первичной аккредитации специалистов. Дизайн исследования состоял из двух этапов: на первом этапе выполнен входной контроль базовых навыков проведения СЛР. На втором этапе исследования все ординаторы прошли 3-х часовой симуляционный курс по 4-х ступенчатой модели обучения, после чего был проведен выходной контроль этих же навыков. На рис. 2 представили результаты исследования.

Входной контроль базовых навыков выполнения СЛР показал, что процент целевых компрессий и искусственных вдохов значительно ниже рекомендованных. Средняя частота компрессий грудной клетки соответствовала норме. Глубина компрессий находилась на нижней границе нормативных показателей. После проведения занятия процент целевых компрессий статистически значимо увеличился ( $p < 0,05$ ) и достиг нижней границы рекомендуемых показателей. Процент целевых вдохов также статистически значимо увеличился ( $p < 0,05$ ), но не достиг рекомендуемых показателей. Средняя глубина и частота компрессий грудной клетки находились в пределах рекомендуемых значений. Исследование показало, что через 6 месяцев начинает утрачиваться навык проведения базовых реанимационных мероприятий. Наименьшую «выживаемость» имеют как сами компрессии грудной клетки,

Residency training in anesthesiology and intensive care should include a hybrid program in a simulation center. At the initial stage it is necessary to form non-technical skills through theoretical course, which includes etiology, pathogenesis, clinical presentation of cardiac arrest, biomechanics of chest compressions and artificial ventilations. Particular attention should be focused on the study of the pathogenesis of cardiac arrest due to various causes. This is necessary to ensure that the resident does not just mechanically perform the CPR algorithm but understands the significance behind each of these activities.

At the second stage, residents move to the simulation center, where technical skills are built and combined with non-technical skills. The resident needs to visualize what is happening to the patient during treatment and continually evaluate its effectiveness. The work of the anesthesiology and intensive care doctor should be performed according to the algorithm including assessment, action, and result. If one of the links fails, the quality of medical care decreases significantly, which can lead to adverse consequences.

**Innovative computer technologies in the training program for anesthesiology and intensive care doctors.** Residency training in anesthesiology and intensive care is based on a comprehensive approach, which includes, first of all, mastering the theoretical material in the main sections of the disciplines studied. This is achieved by means of lectures and practical classes, seminars. Lately, more and more often training computer technologies are being used, which can help to study the foundations of fundamental and clinical disciplines. Thus, at present there is a shift from classical formal and logistic learning to innovative educational technologies, which allow changing the trajectory of learning and increasing its efficiency [4].

The scope of computer educational technologies is quite large, and we will consider two of them, which, in our opinion, are rather effective: creation of structured logical graphs, or mind maps, and the «Abstract-Interview» hybrid educational software. Mind map is a graphic representation of large-scale associative thinking, using neurolinguistic programming, which significantly increases the effectiveness of remembering the material being studied. When creating a mind map, students first study and analyze the necessary theoretical material, select the most important ideas or algorithms on the studied condition. Then, on a single page, they create an optimal chart on a specific topic, which displays the key points of the topic under study. The following sections could be considered most relevant for the intensive care doctors: drugs used for anesthesia, treatment of emergency and critical conditions, diseases requiring cardiopulmonary resuscitation, intensive care (cardiac arrest in my-

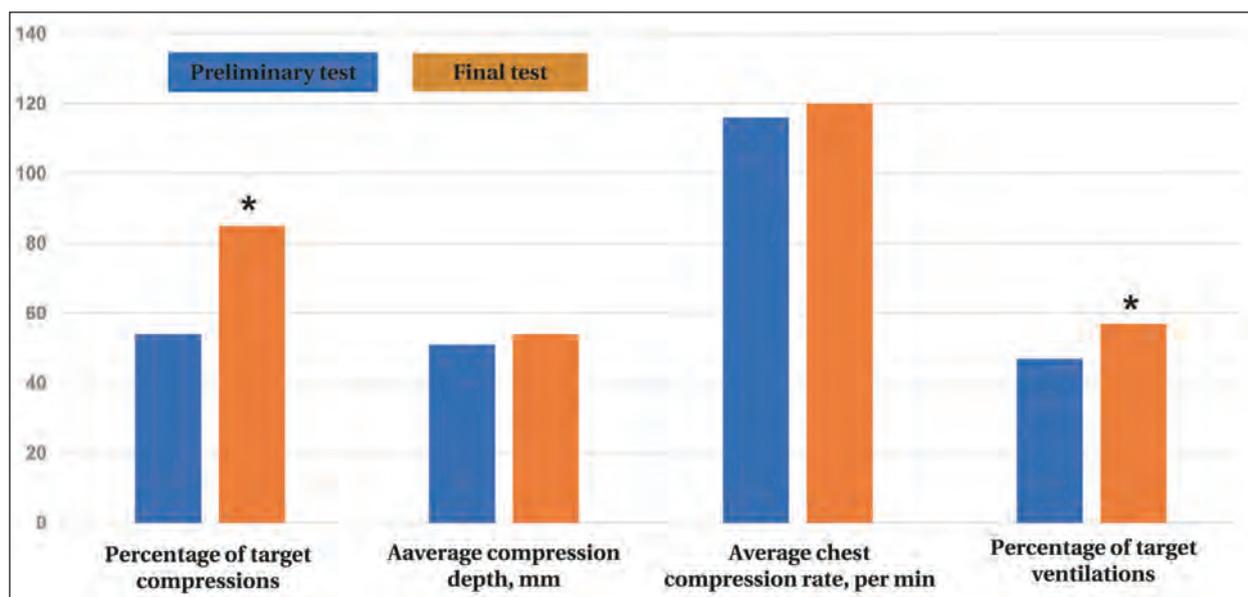


Рис. 2. Сравнительные результаты обучения.

Fig. 2. Comparative learning outcomes.

Note. \* — significant differences between groups,  $P < 0.05$ .

Примечание. Percentage of target compressions — процент целевых компрессий; average compression depth, mm — средняя глубина компрессий, мм; average chest compression rate, per min — средняя частота компрессий, мин<sup>-1</sup>; percentage of target ventilations — процент целевых вдохов; preliminary/final test — входной/итоговый контроль. \* — статистически значимые отличия между группами,  $p < 0,05$ .

так и искусственные вдохи. Короткий симуляционный курс способствует улучшению качества проведения компрессий грудной клетки (частота, глубина), однако этого времени недостаточно для обучения эффективному выполнению искусственных вдохов.

Обучение в ординатуре по специальности анестезиология-реаниматология должно иметь программу гибридного обучения в симуляционном центре. На начальном этапе необходимо формирование нетехнических навыков с помощью теоретического курса, который включает: этиологию, патогенез, клиническую картину остановки сердца, биомеханику компрессий грудной клетки и искусственных вдохов. Особое внимание должно уделяться изучению патогенеза остановки сердца вследствие различных причин. Это необходимо для того, чтобы ординатор не просто механически выполнял алгоритм СЛР, а понимал значимость каждого из этих действий.

На втором этапе ординаторы переходят на занятия в симуляционный центр, где происходит формирование технических навыков и соединение их с нетехническими. Ординатор должен представлять, что происходит с пациентом во время лечения, постоянно проводить оценку его эффективности. Работа врача-анестезиолога-реаниматолога должна выполняться по алгоритму: оценка-действие-результат. При выпадении одного из звеньев, качество оказания медицинской помощи

ocardial infarction, ventricular fibrillation, pulmonary embolism, various types of shock, blood loss, etc.). Creating mind maps can be effectively used at the initial stage of residency training to form non-technical skills prior to the classes in the simulation center. Residents can use Word, Powerpoint, X-Mind, Visio, and other software to create mind maps.

Mind maps «Drugs used for anesthesia, treatment of emergency and critical illness» should include such sections as the name of the drug, formulations, recommended single and daily doses, mechanism of action, effect on organs and systems, contraindications. An example of a mind map showing basic information about paracetamol is demonstrated in Figure 3. The use of artistic component, color scheme, improves the visual perception of the presented information and contributes to a better orientation in the map.

The «Emergency and Critical Conditions» mind map contains several sections such as risk factors, normal and pathologic anatomy, physiology, clinical presentation, laboratory and instrumental diagnosis, treatment, etc. Each resident individually creates his or her own mind map set. The more information included, the more thorough the study of the topic is. There is no limit to the creativity of the mind maps. Residents can use any means available to complete the task and achieve the goal of learning, i. e., to master the knowledge on a particular topic. Examples of a set of mind maps are shown in Figs. 4–6. Creating mind maps is a personal effort

значительно снижается, что может приводить к неблагоприятным последствиям.

**Инновационные компьютерные технологии в программе обучения врачей-анестезиологов-реаниматологов.** Обучение в ординатуре по специальности «Анестезиология-реаниматология» осуществляется с помощью комплексного подхода, включающего, в первую очередь, освоение теоретического материала по основным разделам изучаемых дисциплин. Это достигается с помощью лекционных и практических занятий, семинаров. Последнее время все чаще начинают использоваться обучающие компьютерные технологии, с помощью которых можно изучать теоретические основы фундаментальных и клинических дисциплин. Таким образом, в настоящее время происходит отказ от классического формально-логического обучения и переход к инновационным педагогическим технологиям, которые позволяют изменить траекторию обучения и повысить его эффективность [4].

Спектр компьютерных образовательных технологий достаточно велик, мы рассмотрим две из них, которые, на наш взгляд, обладают достаточной эффективностью: создание структурно-логических схем, или интеллект-карт, и гибридная образовательная программа «Реферат-интервью». Интеллект — карта является графическим выражением масштабного ассоциативного мышления, с использованием нейрорлингвистического программирования, что значительно повышает эффективность запоминания изучаемого материала. Интеллект — карта является инструментом, при создании которого обучающиеся сначала изучают, анализируют необходимый теоретический материал, проводят выборку наиболее важных положений или алгоритма, согласно нозологической форме. Затем, на одной странице создают оптимальную схему по конкретной тематике, в которой отображены ключевые моменты изучаемой темы. Наиболее актуальными для анестезиолога-реаниматолога являются следующие изучаемые разделы: препараты, применяемые для анестезии, лечения неотложных и критических состояний; болезни, требующие проведения сердечно-легочной реанимации, интенсивной терапии (остановка кровообращения при инфаркте миокарда, фибрилляции желудочков, тромбоэмболии легочной артерии, различные виды шока, кровопотеря и т. д.). Создание интеллект-карт может эффективно использоваться на начальном этапе обучения в ординатуре для формирования нетехнических навыков и предшествовать занятиям в симуляционном центре. Для создания интеллект-карт ординаторы могут использовать компьютерные программы Word, Point Power, X-Mind, Visio и другие.

which precludes copying from other sources. Each of the students is engaged in original activities, i. e., has their own sources of literature, plan, selection of software for creating the mind maps.

During the practical session, each resident presents his or her own mind maps. The task of the group participants is to review the presented mind maps and analyze them. An important part of the session is a group discussion devoted to assessment of completeness, information value, clarity, and correctness of the material.

The technique helps trainees to acquire new and organize existing knowledge, ideas about current diagnostic methods and treatment algorithms. This eliminates the formal approach to this work and increases the effectiveness of training.

Using mind maps, residents can successfully master the necessary theoretical disciplines, and then, by means of the acquired knowledge, move on to classes in the simulation center and in the clinic.

Another part of the residents' training is independent work with literature sources and writing essays. But, lately, residents have a formal attitude toward this work, and its efficiency is very low. This is due to the high availability of full-text articles, monographs, and scientific reports on the Internet. Residents do not always conduct a detailed literature study, but rather copy off parts of papers and monographs, presenting this work as their own essay. Presentation of the work is limited to recitation of the text, and anti-plagiarism testing reveals a high frequency of borrowings. Holding a full-fledged discussion on a challenging topic has low efficiency, because the audiological perception of the presented topic is usually low. As a result, the effectiveness of studying the topic and obtaining new knowledge is questionable for both the speaker and the listeners. In this regard, the traditional format of essays requires cardinal changes.

A new format of composing an essay using computer technology as two stages («immersion» and «resultant») has been proposed. During the «immersion» stage, residents study the literature on a given topic, analyze it, write an essay in text format, and then prepare a presentation of the report, highlighting the most relevant material. At the end of this stage, an audio file 5–7 minutes long summarizing the research is recorded and posted in the group's general chat. Each of the group members should listen to all the essays and ask one question to the speaker. All the questions should be different. to eliminate formal approach to the topics being studied in the group. The speaker collects all the questions and prepares for the second «resultant» stage, which takes place as a simulation training with elements of Interview. It can be used in both face-to-face and remote formats. In online training using the Webex platform, the questions sent to each resident are posted in the class chat. The tutor

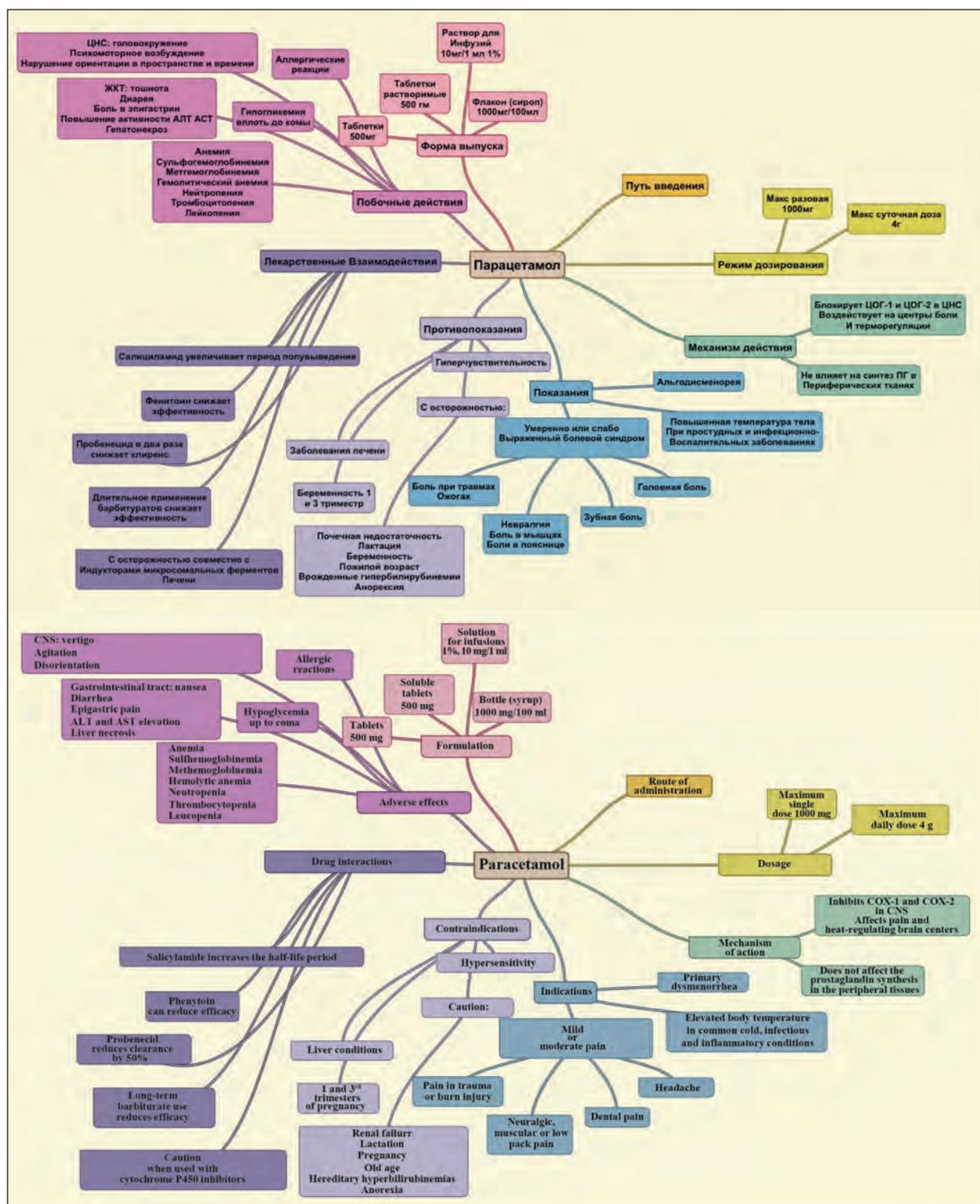


Рис. 3. Интеллект-карта «Парацетамол». Fig. 3. Mindmap «Paracetamol».

Интеллект-карты «Препараты, применяемые для анестезии, лечения неотложных и критических состояний» должны включать основные разделы: название препарата, формы выпуска, рекомендуемые разовая и суточная дозы, механизм действия, влияние на органы и системы, противопоказания к

and the group can see all the questions. The author of the essay reads out each question. The answer should be short and comprehensive, as in a real interview. Finally, the author documents the answers to the questions and submits the work to the tutor for grading. Residents who took active part in the discussion are also graded. In order to answer the

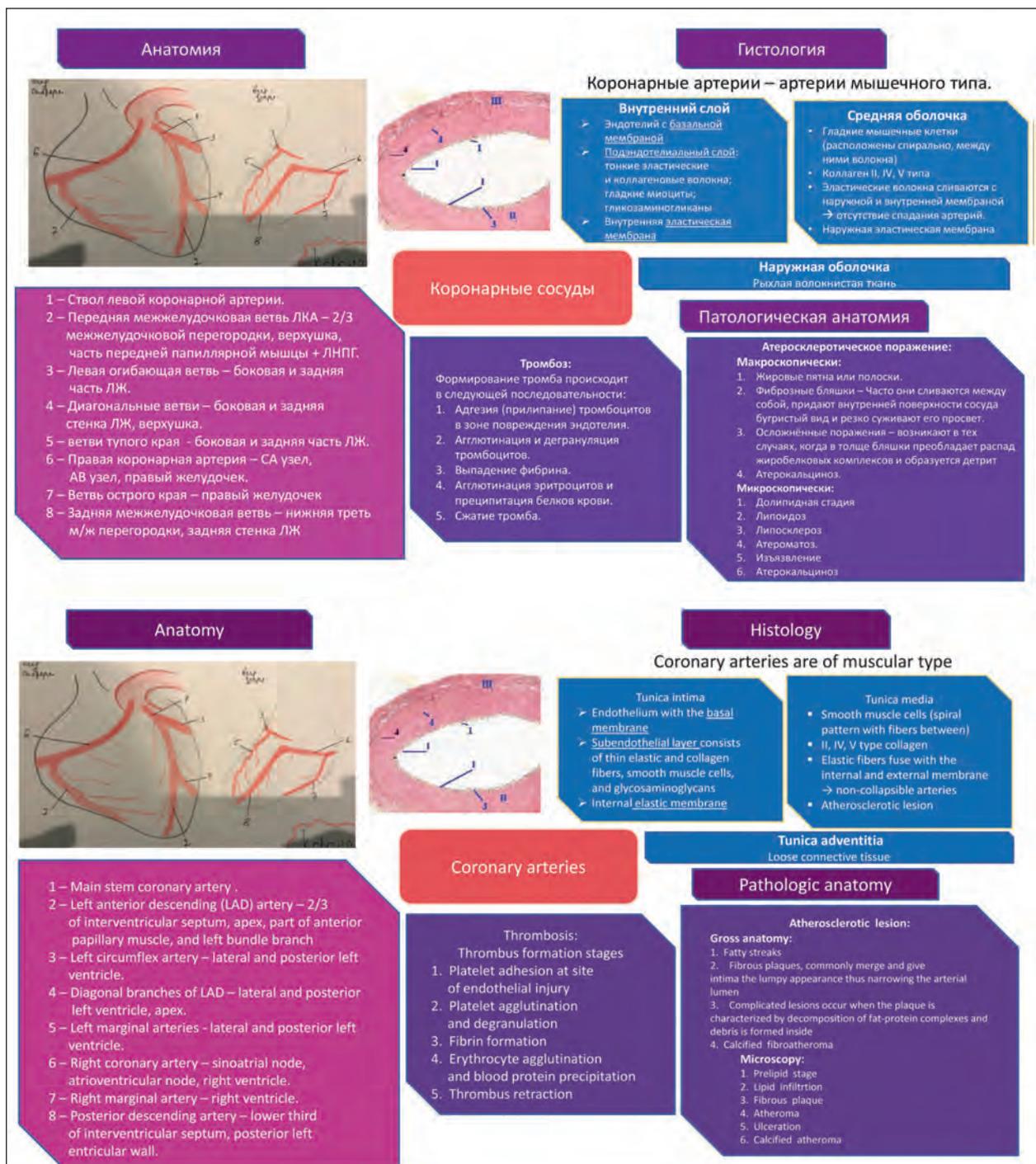


Рис. 4. Интеллект-карта «Инфаркт миокарда. Нормальная и патологическая анатомия, гистология коронарных сосудов».

Fig. 4. Mindmap «Myocardial infarction. Normal and pathologic anatomy and histology of coronary arteries».

применению. Пример интеллект — карты показан на рис. 3. На ней отражена основная информация по препарату — парацетамол. Использование Art-компонента, цветовой гаммы, улучшает визуальное восприятие представленной информации, способствует лучшей ориентации в карте.

Интеллект-карта «Неотложные и критические состояния» состоит из нескольких разделов: факторы риска, нормальная и патологиче-

questions, the resident must have in-depth knowledge of the topic being presented. During the «resulting» stage, it is also possible to teach communication, the ability to engage into scientific discussions and dialogues, as well as to formulate and present one's own opinion.

The new format makes it possible to change residents' attitudes toward essay work, raising its importance, which generally increases the effectiveness of training.

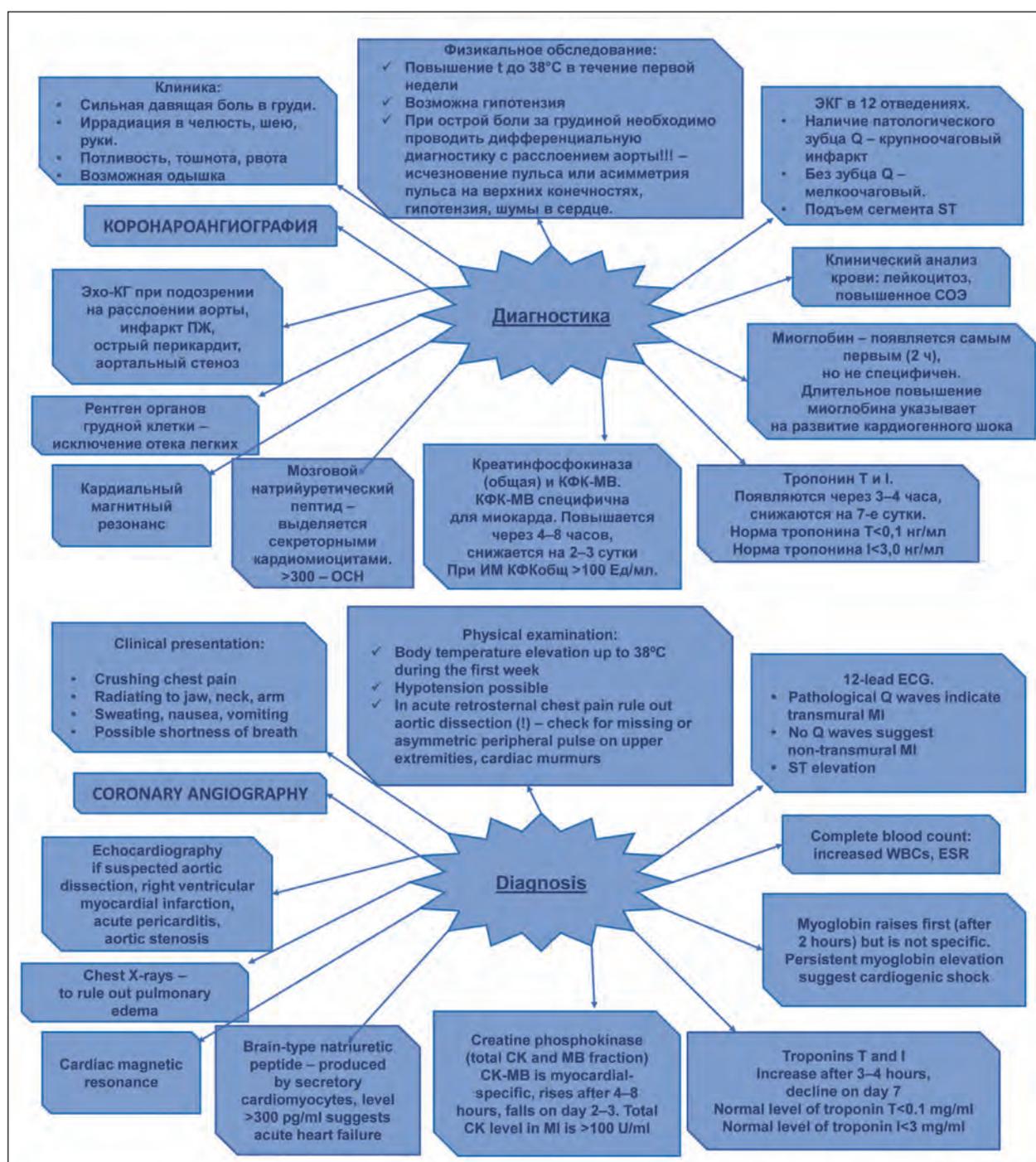


Рис. 5. Интеллект-карта «Инфаркт миокарда. Диагностика». Fig. 5. Mind map «Myocardial infarction. Diagnosis».

ская анатомия, физиология; клиническая картина, лабораторная и инструментальная диагностика, лечение и т. д. Каждый ординатор самостоятельно планирует пакет интеллект-карт. Чем больше информации представлено, тем глубже проработана изучаемая тема. Творческий подход к созданию интеллект-карт не ограничен. Ординаторы могут использовать любые доступные средства для выполнения задания и достижения цели обучения — владение знаниями по конкретной теме. Примеры пакета карт

### Conclusion

Educational process in residency training in Anesthesiology and Reanimatology/Intensive Care requires changes. A step-by-step transition in training is necessary: theory — simulation center — practical training in the clinic. The efficiency of training decreases if this algorithm is not followed. The study of fundamental and clinical pathophysiology is one of the main basic theoretical directions, since the professional activity of an inten-



Рис. 6. Интеллект-карта «Лечение при остановке сердца».  
Fig. 6. Mind map «Management of cardiac arrest».

представлены на рис. 4–6. Создание интеллект-карт является индивидуальной работой, которая исключает заимствование из других источников. Каждый из обучающихся имеет собственные источники литературы, план, выбор компьютерной программы для ее выполнения, т. е. имеет место оригинальность работы.

На практическом занятии каждый из ординаторов представляет свои интеллект-карты. Задача участников группы заключается в изучении представленных интеллект-карт и аналитической работе. Важным разделом занятия является дискуссия в группе, во время которой обсуждаются полнота представленного материала, его информативность, наглядность, отсутствие ошибок.

Методика помогает обучающимся получить новые и систематизировать имеющиеся знания, представления о современных диагностических методах, алгоритмах лечения. При этом исключается формальный подход к этой работе и повышается эффективность обучения.

С помощью интеллект-карт ординаторы могут успешно освоить необходимые теоретические дисциплины, а затем, используя полученные знания, переходить к занятиям в симуляционном центре и в клинике.

Еще одним разделом обучения ординаторов является самостоятельная работа с источниками литературы и написание рефератов. Но в последнее время ординаторы формально относятся к этой работе, эффективность ее очень низкая. Это связано с высокой доступностью в интернете полнотекстовых статей, монографий и научных сообщений. Ординаторы не всегда проводят детальное изучение литературы, а списывают части статей, монографий, представляя эту работу в виде своего реферата. Представление работы ограничено зачитыванием текста, а при проверке на антипла-

gist is based on profound knowledge of the pathogenesis of diseases and critical illnesses. At the initial stage of training, it is necessary to focus on theoretical training using both traditional teaching methods and computer technologies, including mind maps, and the «essay with interview» technique. The gradual transition from theory to practice will allow the residents to develop all the necessary competences, which will contribute to achieving the ultimate goal of training, i.e., creation of a physician who will be able to provide high-quality medical care.

**Acknowledgement.** The authors would like to express their gratitude to A. Ershov, M. D., PhD, DSci, Senior Researcher, V. A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology, Federal Research and Clinical Center of Intensive Care Medicine and Rehabilitation.

гиат выявляется высокая частота заимствований. Проведение полноценной дискуссии по проблемной тематике имеет низкую эффективность, т. к. аудиологическое восприятие представленной темы низкое. В результате, эффективность изучения темы и получение новых знаний сомнительная как для докладчика, так и слушателей. В связи с чем, традиционный формат рефератов требует кардинальных изменений.

Предложен новый формат работы над рефератом с использованием компьютерных технологий в виде двух этапов: «погружения» и «результатирующий». На этапе «погружения» ординаторы изучают литературу по заданной теме, проводят аналитическую работу, пишут реферат в текстовом формате, затем готовят презентацию доклада, выделяя наиболее актуальный материал. В конце этого этапа готовится презентация в режиме аудиолекции длительностью 5–7 минут, которая размещается в общем чате группы. Каждый из

участников группы должен прослушать все рефераты, задать по одному вопросу докладчику. У докладчика не должно быть одинаковых вопросов. При таком подходе в группе исключается формальный подход к изучаемым темам. Докладчик собирает все вопросы и готовится ко второму «результатирующему» этапу, который проходит в виде симуляционного тренинга «Интервью». Его можно использовать как в очном, так и дистанционном форматах. При обучении в режиме online на платформе Webex, вопросы, присланные каждому из ординаторов, выкладываются в чат занятия. Преподаватель и группа видит все вопросы. Автор реферата зачитывает каждый вопрос. Ответ должен быть коротким и исчерпывающим, как при реальном интервью. В заключении автор пишет ответы на вопросы и сдает работу преподавателю, который ее оценивает. Оценки получают и ординаторы, принимавшие участие в дискуссии, обсуждении представленной темы. Для ответов на вопросы ординатор должен иметь глубокие знания по представляемой теме. На «результатирующем» этапе также возможно обучение коммуникации, умение вести научную дискуссию, диалог, формировать и представлять собственное мнение.

Новый формат позволяет изменить отношение ординаторов к реферативной работе в сторону повышения ее значимости, что в целом повышает эффективность обучения.

#### Литература

1. Bosch J., Maaz A., Hitzblech T., Holzhausen Y., Peters H. Medical students' preparedness for professional activities in early clerkships. *BMC Med Educ.* 2017; 17 (1): 140. DOI: 10.1186/s12909-017-0971-7. PMID: PMC5568232.
2. Janczukowicz J., Rees C. E. Preclinical medical students' understandings of academic and medical professionalism: visual analysis of mind maps. *BMJ Open.* 2017; 7 (8): e015897. DOI: 10.1136/bmjopen-2017-015897. PMID: PMC5629743.
3. Stephenson A., Roff S. Mapping understanding of Academic Integrity of Medical students in a London medical school using the Dundee Polyprofessionalism Inventory I. *MedEdPublish.* 2015; 5: 15 DOI: 10.15694/mep.2015.005.0015.
4. Кудрявая Н.В., Уколова Е.М., Смирнова Н.Б., Зорин К.В., Волошина Е.А. Педагогика для медицинских вузов. М.: КНОРУС. 2021. 352 с.
5. Henriksen D., Mishra P., Fisser P. Infusing Creativity and Technology in 21<sup>st</sup> Century Education: A Systemic View for Change. *Educational Technology & Society.* 2016; 19 (3): 27–37.
6. Jin J., Bridges S. M. Educational Technologies in Problem-Based Learning in Health Sciences Education: A Systematic Review. *J Med Internet Res.* 2014; 16 (12): e251. DOI: 10.2196/jmir.3240. PMID: PMC4275485.
7. Dankbaar M.E., Alsmas J., Jansen E.E., van Merriënboer J.J., van Saase J.L., Schuit S.C. An experimental study on the effects of a simulation game on students' clinical cognitive skills and motivation. *Adv Health Sci Educ Theory Pract.* 2016; 21 (3): 505–521. DOI: 10.1007/s10459-015-9641-x. PMID: 26433730.
8. Rostamnia L., Ghanbar V., Shabani F., Farahani A., Dehghan-Nayeri N. Evidence-Based Practice for Cardiac Intensive Care Unit Nurses: An Educational Intervention Study. *The Journal of Continuing Education in Nursing.* 2020; 51 (4): 167–173. DOI: 10.3928/00220124-20200317-06.
9. Перепелица С.А. Оценка степени сформированности навыков и клинических у студентов. *Мед. образование и проф. развитие.* 2019; 10 (3): 16–26. DOI: 10.24411/2220-8453-2019-13002.
10. Aguilar D., Turmo M. P. Promoting Social Creativity in Science Education With Digital Technology to Overcome Inequalities: A Scoping Review. *Front Psychol.* 2019; 10: 1474. DOI: 10.3389/fpsyg.2019.01474. PMID: 31312154. PMID: PMC6614193.

## Заключение

Организация учебного процесса в ординатуре по специальности «Анестезиология-реаниматология» требует некоторых изменений. Необходим ступенчатый переход в обучении: теория — симуляционный центр — практическая подготовка в клинике. Без соблюдения этого алгоритма эффективность обучения снижается. Изучение фундаментальной и клинической патофизиологии является одним из главных базовых теоретических направлений, т. к. профессиональная деятельность врача-анестезиолога-реаниматолога основывается на глубоких знаниях патогенеза развития болезней и критических состояний. На начальном этапе обучения необходимо уделить внимание теоретической подготовке с использованием как традиционных методов обучения, так компьютерных технологий, в том числе интеллектуальных карт, методики «реферат-интервью». Постепенный переход от теории к практике позволит сформировать у ординаторов все необходимые компетенции, что будет способствовать достижению конечной цели обучения — формирование личности врача, который сможет оказать квалифицированную медицинскую помощь.

**Благодарность.** Авторский коллектив выносит благодарность д. м. н., старшему научному сотруднику НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского ФНКЦ РР Ершову А. В. за консультативную помощь.

#### References

1. Bosch J., Maaz A., Hitzblech T., Holzhausen Y., Peters H. Medical students' preparedness for professional activities in early clerkships. *BMC Med Educ.* 2017; 17 (1): 140. DOI: 10.1186/s12909-017-0971-7. PMID: PMC5568232.
2. Janczukowicz J., Rees C. E. Preclinical medical students' understandings of academic and medical professionalism: visual analysis of mind maps. *BMJ Open.* 2017; 7 (8): e015897. DOI: 10.1136/bmjopen-2017-015897. PMID: PMC5629743.
3. Stephenson A., Roff S. Mapping understanding of Academic Integrity of Medical students in a London medical school using the Dundee Polyprofessionalism Inventory I. *MedEdPublish.* 2015; 5: 15 DOI: 10.15694/mep.2015.005.0015.
4. Kudryavaya N.V., Ukolova E.M., Smirnova N.B., Zorin K.V., Voloshina E.A. Pedagogy for medical schools. M.: KNORUS. 2021.352 p [In Russ.].
5. Henriksen D., Mishra P., Fisser P. Infusing Creativity and Technology in 21<sup>st</sup> Century Education: A Systemic View for Change. *Educational Technology & Society.* 2016; 19 (3): 27–37.
6. Jin J., Bridges S. M. Educational Technologies in Problem-Based Learning in Health Sciences Education: A Systematic Review. *J Med Internet Res.* 2014; 16 (12): e251. DOI: 10.2196/jmir.3240. PMID: PMC4275485.
7. Dankbaar M.E., Alsmas J., Jansen E.E., van Merriënboer J.J., van Saase J.L., Schuit S.C. An experimental study on the effects of a simulation game on students' clinical cognitive skills and motivation. *Adv Health Sci Educ Theory Pract.* 2016; 21 (3): 505–521. DOI: 10.1007/s10459-015-9641-x. PMID: 26433730.
8. Rostamnia L., Ghanbar V., Shabani F., Farahani A., Dehghan-Nayeri N. Evidence-Based Practice for Cardiac Intensive Care Unit Nurses: An Educational Intervention Study. *The Journal of Continuing Education in Nursing.* 2020; 51 (4): 167–173. DOI: 10.3928/00220124-20200317-06.
9. Perepelitsa S.A. Assessment of the degree of formation of skills and clinical competence of students. *Medical education and professional development.* 2019; 10 (3): 16–26. [In Russ.] DOI: 10.24411/2220-8453-2019-13002.
10. Aguilar D., Turmo M. P. Promoting Social Creativity in Science Education With Digital Technology to Overcome Inequalities: A Scoping Review. *Front Psychol.* 2019; 10: 1474. DOI: 10.3389/fpsyg.2019.01474. PMID: 31312154. PMID: PMC6614193.

11. Baylor C., Burns M. I., Struijk J., Herron L., Mach H., Yorkston K. Assessing the Believability of Standardized Patients Trained to Portray Communication Disorders. *Am J Speech Lang Pathol.* 2017; 26 (3): 791–805. DOI: 10.1044/2017\_AJSLP-16-0068. PMID: PMC5829793.
12. Herbstreit F., Merse S., Schnell R., Noack M., Dirkmann D., Besuch A., Peters J. Impact of standardized patients on the training of medical students to manage emergencies. *Medicine (Baltimore).* 2017; 96 (5): e5933. DOI: 10.1097/MD.0000000000005933. PMID: PMC5293440.
13. Перепельца С.А. Симуляционное обучение дисциплине «Лечение боли». *Мед. образование и проф. развитие.* 2018; 2: 54–66. DOI: 10.24411/2220-8453-2018-12004.
14. Hadzigeorgiou Y., Fokialis P. M., Kabouropoulou M. Thinking about creativity in science education. *Creat. Educ.* 2012; 3: 603–611. DOI: 10.4236/ce.2012.35089.
15. Pedaste M., Mäeots M., Siiman L. A., Jong T., van Riesen S. A. N., Kamp E. T., Manoli C. C., Zacharia Z. C., Tsourlidaki E. Phases of inquiry-based learning: definitions and the inquiry cycle. *Educ. Res. Rev.* 2015; 14: 47–61. DOI: 10.1016/j.edurev.2015.02.003.
16. Segarra V.A., Natalizio B., Falkenberg C.V., Pulford S., Holmes R.M. STEAM: Using the Arts to Train Well-Rounded and Creative Scientists. *J. Microbiol Biol Educ.* 2018; 19 (1): 19.1.53. DOI: 10.1128/jmbe.v19i1.1360. PMID: 29904562.
17. Yoder-Wise P. S. From STEM to STEAM. *J Contin Educ Nurs.* 2018; 49 (10): 443–444. DOI: 10.3928/00220124-20180918-01. PMID: 30257024.
18. Oerther D.B. Nursing should be a STEM discipline! // Reflections on Nursing Leadership. — 2018. Retrieved from <http://www.reflectionsonnursingleadership.org/features/more-features/nursing-should-be-a-stem-discipline>.
19. Мороз В.В., Долгих В.Т. Академик АМН СССР Владимир Александрович Неговский. *Клиническая патофизиология.* 2020; 26 (1): 83–94.
20. Мороз В.В., Гречко А.В. Научно-исследовательскому институту общей реаниматологии им. В. А. Неговского ФНКИЦ РР — 80 лет. *Общая реаниматология.* 2017; 13 (5): 6–29. DOI: 10.15360/1813-9779-2017-5-6-29.
21. Федеральный государственный образовательный стандарт высшего образования-специалитет по специальности 31.05.01 Лечебное дело. [Электронный ресурс] <http://www.fgosvo.ru> (дата обращения 04.01.2021).
22. Федеральный государственный образовательный стандарт высшего образования по специальности 31.08.02 Анестезиология-реаниматология (уровень подготовки кадров высшей квалификации). [http://fgosvo.ru/uploadfiles/fgosvoord/310802\\_Anesthesiologia.pdf](http://fgosvo.ru/uploadfiles/fgosvoord/310802_Anesthesiologia.pdf).
23. Клиническая патофизиология. Курс лекций под ред. В.А. Черешнева, П.Ф. Литвицкого, В.Н. Цыгана. СПб.: СпецЛит; 2015: 472 с. ISBN 978-5-299-00684-1.
24. Долгих В.Т., Корпачева О.В., Ершов А.В. Патофизиология в 2 томах. Общая патофизиология. Том 1. Москва: изд-во «Маска»; 2020: 371. ISBN: 978-5-534-11896-4.
25. Долгих В.Т., Корпачева О.В., Ершов А.В. Патофизиология в 2 томах. Частная патофизиология. Том 2. Москва: изд-во «РусайнсМаска»; 2020: 371. ISBN: 978-5-534-13309-7.
11. Baylor C., Burns M. I., Struijk J., Herron L., Mach H., Yorkston K. Assessing the Believability of Standardized Patients Trained to Portray Communication Disorders. *Am J Speech Lang Pathol.* 2017; 26 (3): 791–805. DOI: 10.1044/2017\_AJSLP-16-0068. PMID: PMC5829793.
12. Herbstreit F., Merse S., Schnell R., Noack M., Dirkmann D., Besuch A., Peters J. Impact of standardized patients on the training of medical students to manage emergencies. *Medicine (Baltimore).* 2017; 96 (5): e5933. DOI: 10.1097/MD.0000000000005933. PMID: PMC5293440.
13. Perepelitsa S. A. Simulation training of «Pain management». *Medical education and professional development.* 2018; 2: 54–66. [In Russ.] DOI: 10.24411/2220-8453-2018-12004.
14. Hadzigeorgiou Y., Fokialis P. M., Kabouropoulou M. Thinking about creativity in science education. *Creat. Educ.* 2012; 3: 603–611. DOI: 10.4236/ce.2012.35089.
15. Pedaste M., Mäeots M., Siiman L. A., Jong T., van Riesen S. A. N., Kamp E. T., Manoli C. C., Zacharia Z. C., Tsourlidaki E. Phases of inquiry-based learning: definitions and the inquiry cycle. *Educ. Res. Rev.* 2015; 14: 47–61. DOI: 10.1016/j.edurev.2015.02.003.
16. Segarra V.A., Natalizio B., Falkenberg C.V., Pulford S., Holmes R.M. STEAM: Using the Arts to Train Well-Rounded and Creative Scientists. *J. Microbiol Biol Educ.* 2018; 19 (1): 19.1.53. DOI: 10.1128/jmbe.v19i1.1360. PMID: 29904562.
17. Yoder-Wise P. S. From STEM to STEAM. *J Contin Educ Nurs.* 2018; 49 (10): 443–444. DOI: 10.3928/00220124-20180918-01. PMID: 30257024.
18. Oerther D.B. Nursing should be a STEM discipline! // Reflections on Nursing Leadership. — 2018. Retrieved from <http://www.reflectionsonnursingleadership.org/features/more-features/nursing-should-be-a-stem-discipline>.
19. Moroz V. V., Dolgikh V. T. Academician AMS USSR Vladimir Alexandrovich Negovsky. *Klin. patofiziologiya=Clin. Pathophysiology.* 2020; 26 (1): 83–94 [In Russ.].
20. Moroz V.V., Grechko A.V. The 80th Anniversary of the V. A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology, Federal Research and Clinical Center of Intensive Care Medicine and Rehabilitation. *Obshchaya Reanimatologiya=General Reanimatology.* 2017; 13 (5): 6–29 [In Russ.]. DOI: 10.15360/1813-9779-2017-5-6-29.
21. Federal state educational standard of higher education-specialty 31.05.01 Medical doctor. [Electronic resource] <http://www.fgosvo.ru> (accessed 04.01.2021) [In Russ.].
22. Federal state educational standard of higher education in the specialty 31.08.02 Anesthesiology-resuscitation (the level of training of highly qualified personnel). [http://fgosvo.ru/uploadfiles/fgosvoord/310802\\_Anesthesiologia.pdf](http://fgosvo.ru/uploadfiles/fgosvoord/310802_Anesthesiologia.pdf). [In Russ.].
23. Clinical pathophysiology. Course of lectures edited by V.A. Chereshevnev, P.F. Litvitsky, V.N. Tsygan. SPb.: SpetsLit; 2015: 472. ISBN 978-5-299-00684-1 [In Russ.].
24. Dolgikh V.T., Korpacheva O.V., Ershov A.V. Pathophysiology in 2 volumes. General pathophysiology. Volume 1. Moscow: publishing house «Mask»; 2020: 371. ISBN: 978-5-534-11896-4 [In Russ.].
25. Dolgikh V.T., Korpacheva O.V., Ershov A.V. Pathophysiology in 2 volumes. Private pathophysiology. Volume 2. Moscow: «Rusainsmask» Publishing House; 2020: 371. ISBN: 978-5-534-13309-7 [In Russ.].

Поступила 2021.01.18

Received 2021.01.18

## Искусственная вентиляция легких: «полное затмение» сердца (редакционная статья)

Дж. Ландони<sup>1,2\*</sup>, П. Нарделли<sup>1</sup>, А. Дзангрилло<sup>1,2</sup>, Л. А. Хаджар<sup>3,4</sup>

<sup>1</sup> Научный институт IRCCS San Raffaele, Отделение анестезии и интенсивной терапии, Италия, 20132 Милан, Виа Олжеттина, д.60

<sup>2</sup> Университет Вита-Салуте Сан-Раффаэле, Италия, 20132, Милан, Виа Олжеттина, д.60

<sup>3</sup> Кафедра кардиологии и пульмонологии, Университет Сан-Паулу, Бразилия, 05403-000, г. Сан-Паулу, Ав. Доктора Энеас Си Агиар, д. 44

<sup>4</sup> Отделение интенсивной терапии, Институт Сердца, Клиническая больница HCFMUSP, Университет Сан-Паулу, Бразилия, 05403-000, г. Сан-Паулу, Ав. Доктора Энеас Си Агиар, д. 44

## Mechanical Ventilation. Total Eclipse of the Heart (Editorial)

Giovanni Landoni<sup>1,2\*</sup>, Pasquale Nardelli<sup>1</sup>, Alberto Zangrillo<sup>1,2</sup>, Ludhmila A. Hajjar<sup>3,4</sup>

<sup>1</sup> Department of Anesthesia and Intensive Care, IRCCS San Raffaele Scientific Institute, 60 Via Olgettina, 20132 Milano, Italy

<sup>2</sup> Vita-Salute San Raffaele University, 60 Via Olgettina, 20132 Milano, Italy

<sup>3</sup> Department of Cardiopneumology, Universidade de São Paulo, 44 Av Dr Eneas C Aguiar, 05403-000 São Paulo, Brazil

<sup>4</sup> Intensive Care Unit, Instituto do Coração, Hospital das Clínicas HCFMUSP, Universidade de São Paulo, 44 Av Dr Eneas C Aguiar, 05403-000 São Paulo, Brazil

**Для цитирования:** Дж. Ландони, П. Нарделли, А. Дзангрилло, Л. А. Хаджар. Искусственная вентиляция легких: «полное затмение» сердца (редакционная статья). *Общая реаниматология*. 2021; 17 (5): 96–100. <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2021-5-1-0> [На русск. и англ.]

**For citation:** Giovanni Landoni, Pasquale Nardelli, Alberto Zangrillo, Ludhmila Abrahão Hajjar. Mechanical ventilation. total eclipse of the heart (editorial). *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2021; 17 (5): 96–100. <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2021-5-1-0> [In Russ. and Engl.]

### Highlight

The infographic features a central red heart icon with the hashtag #HEARTFIRST. To the left, a red box labeled 'STEP 1 NEVER' lists three items: 'INDUCE HYPOTENSION', 'INDUCE LOW CARDIAC OUTPUT SYNDROME', and 'INDUCE RIGHT VENTRICULAR DYSFUNCTION'. To the right, a green box labeled 'STEP 2 POSSIBLY' lists five items: 'PROTECTIVE AND ATRAUMATIC', 'SYNCRONISED AND NONINVASIVE', 'TOLERANT WITH MODERATE HYPOXIA', 'TOLERANT WITH MODERATE HYPERCAPNIA', and 'PROMPTLY STARTED, BRAVELY STOPPED'.

**Примечание.** Highlights — основные тезисы (в форме инфографики). Heartfirst — сердце, прежде всего; step 1, never — шаг 1, никогда; induce hypotension — не индуцируй гипотензию; induce low cardiac output syndrome — не инициируй синдром низкого сердечного выброса; induce right ventricular dysfunction — не вызывай дисфункцию правого желудочка; step 2, possibly — шаг 2, возможно; protective and atraumatic — протективно и нетравматично; synchronized and noninvasive — синхронизированно и неинвазивно; tolerate with moderate hypoxia/hypercapnia — устойчивость к умеренной гипоксии/гиперкапнии; promptly started, bravely stopped — стремительно запущено, решительно остановлено.

### Резюме

Результаты последних крупных рандомизированных исследований свидетельствуют о том, что использование высокого положительного давления в конце выдоха (РЕЕР) при проведении искусственной вентиляции легких у пациентов без острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС) может приводить к увеличению смертности вследствие развития гипотензии и брадикардии. Тщательная

Адрес для корреспонденции:

\*Джованни Ландони  
E-mail: landoni.giovanni@hsr.it

Correspondence to:

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

оценка функции сердца, особенно правого желудочка, необходима перед назначением ИВЛ всем больным, включая — COVID-19 и ОРДС. ИВЛ должна быть максимально не инвазивной, синхронизированной, минимально влиять на функцию сердца, ее проведение допускает умеренную гипоксию и гиперкапнию.

**Ключевые слова:** искусственная вентиляция легких; сердце

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## Summary

Results from recent large randomized trials investigating the use of high PEEP in patients without ARDS all suggest that high levels may increase mortality due to hypotension and bradycardia. A careful assessment of cardiac function — with particular focus on the right ventricle — should be performed before planning our ventilation strategy in any setting, including COVID-19 and ARDS in general. Mechanical ventilation should be respectful in regards of heart function, and tolerant with moderate hypoxia and hypercapnia, noninvasive (whenever possible) and synchronized.

**Keywords:** mechanical ventilation; heart

**Conflict of interests.** Authors declare no conflict of interest.

DOI:10.15360/1813-9779-2021-5-1-0

## Введение

Когда датский анестезиолог Бьорн Ибсен в 1952 году ввел в клиническую практику вентиляцию легких с положительным давлением, в медицине произошла настоящая революция. Возможность «замещения» функции дыхательных мышц (вначале стараниями студентов-медиков, а потом и с помощью специальной аппаратуры) позволила организовать первые отделения реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) и сконцентрировать усилия врачей на обеспечении дыхательной функции пациента в критическом состоянии. Вскоре еще одним прорывом стало открытие важной роли положительного давления в конце выдоха (ПДКВ) и его влияния на выживаемость пациентов. В течение последующих 60 лет специалисты в области интенсивной терапии приложили большие усилия к расшифровке механизмов искусственной вентиляции легких. В результате были разработаны стратегии проведения искусственной вентиляции легких с использованием низких дыхательных объемов и высоких уровней ПДКВ.

Гален считал, что обязательным условием для биения сердца является физический акт дыхания. Сомнений в этом не возникало в течение последующих полутора тысяч лет. Хотя данная теория была опровергнута достижениями науки, для того чтобы яснее видеть будущее, нам нужно опираться на опыт прошлого, «стоять на плечах гигантов». Еще Гален отмечал, что сердце и легкие находятся в замкнутом пространстве (грудной полости) в непосредственной близости друг от друга и тесно взаимодействуют. Идея взаимодействия между сердцем и легкими во время искусственной вентиляции легких тоже не нова и подробно изучалась в

## Introduction

When the Danish anesthesiologist Bjorn Ibsen introduced positive pressure ventilation in 1952, the history of medicine changed overnight. Providing a replacement of the respiratory muscles — in the beginning by the hands of medical students and later mechanically when ventilators were introduced — led to the first Intensive Care Units (ICUs) and for the first time to focus attention on the lungs. The second dramatic breakthrough, the discovery of the role of positive end-expiratory pressure (PEEP) and its effects on survival, shortly followed. Experts of intensive care medicine lavished the most profound efforts over the following 60 years to understand ventilation pathophysiology. Their work led to the definition of ventilation strategies including low tidal volumes and high levels of PEEP.

Galen's belief that the physical act of breathing was required for the heart to beat was considered the truth for over fifteen centuries. Although scientific progress disproved the theory, we should still try standing on the shoulders of giants to see further. As Galen noted, heart and lungs share the same close, restricted space — the thoracic cavity — and as such the two systems interact. Of course, the concept is not new: heart-lung interactions during mechanical ventilation have been studied in details over the last century and all the pathophysiology that lies beneath belongs to the cultural baggage of most medical professionals around the world. Nevertheless, sometimes we tend to forget it. When peripheral saturation drops on the monitor, it is not uncommon in everyday practice to raise the PEEP, forgetting the effects that this gesture might entail on the heart and the circulatory system.

Large randomized trials investigating the use of high PEEP have recently been published. In spite

течение предыдущего столетия, а открытые основные механизмы такого взаимодействия уже принадлежат к классическому медицинскому культурному наследию во всем мире. Несмотря на это, иногда мы об этом забываем. Когда на мониторе падает сатурация периферической крови, в повседневной практике нередко начинают повышать ПДКВ, забывая о возможных последствиях для сердечно-сосудистой системы.

Недавно опубликованы результаты крупных рандомизированных исследований по оценке эффективности высокого ПДКВ. Все эти исследования, включавшие разные клинические ситуации и разнородную популяцию пациентов, свидетельствовали в пользу скорее неблагоприятного эффекта повышения ПДКВ.

В исследовании PROBESE [1] сравнивали эффективность повышения ПДКВ (12 см вод. ст.) и маневров альвеолярного рекрутмента (мобилизация альвеол) с более низким уровнем ПДКВ (4 см вод. ст.) у больных ожирением, находящихся под общим наркозом. Хотя основной целью исследования было изучение легочных осложнений, обращает на себя внимание тот факт, что частота случаев гипотензии и брадикардии была почти в 2 раза больше в группе, получавшей более высокий уровень ПДКВ. В группе с более высоким ПДКВ наблюдалось также увеличение смертности на 240% по сравнению с группой с низким ПДКВ (12 из 989 в сравнении с 5 из 987). Это неудивительно, поскольку важнейшее исследование POISE-2 уже продемонстрировало независимую прямую корреляцию гипотензии во время хирургического вмешательства с риском смерти [2].

Кроме того, в недавнем исследовании RELAx [3] изучалась эффективность различных уровней ПДКВ у пациентов ОРДС без острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС). Наблюдалось различие уровня смертности между группами с более высоким и более низким уровнем ПДКВ (207/493 против 183/476, соответственно), хотя это различие и не было статистически значимым.

Неожиданные результаты исследования «Alveolar Recruitment for ARDS Trial» (ART) — «Мобилизация альвеол при изучении ОРДС» [4] — поставили под сомнение использование высокого ПДКВ даже у пациентов с ОРДС, у которых эта стратегия в течение многих лет считалась ключевым элементом оптимальной стратегии клинического ведения. Исследование, в котором приняли участие более 1000 пациентов, показало, что маневры альвеолярного рекрутмента вместе с высоким уровнем ПДКВ увеличивают смертность (277/501 против 251/509,  $p=0,041$ ), и вызвало серьезную дискуссию, которая ведется до сих пор.

of the different clinical settings, and the different populations involved, all these trials row in the same direction: high levels of PEEP are probably harmful.

The PROBESE trial [1] compared higher level of PEEP (12 cmH<sub>2</sub>O) and alveolar recruitment maneuvers with a lower level of PEEP (4 cmH<sub>2</sub>O) in obese patients undergoing general anesthesia. While the study focused its complete attention on pulmonary complications, it is interesting to highlight how the incidence of hypotension and bradycardia almost doubled in the group receiving high levels of PEEP. Mortality also saw a 240% increase in the high PEEP group when compared to the low PEEP group (12/989 vs 5/987). This last data should not come as a surprise, as the milestone POISE-2 study already demonstrated how hypotension during surgery independently correlates to mortality [2].

On the same note, the recent RELAx trial [3] studied the effects of different levels of PEEP in ICU patients without acute respiratory distress syndrome (ARDS). Although not statistically significant, mortality difference was increased in the high PEEP group (207/493 vs 183/476).

The surprising findings of the Alveolar Recruitment for ARDS Trial (ART) [4] questioned the use of high PEEP even in ARDS patients, in whom this strategy has been considered for years the cornerstone of correct clinical management. The trial, enrolling over 1000 patients, concluded that recruitment maneuvers together with high PEEP increased mortality (277/501 vs 251/509,  $P=0.041$ ) and triggered a major debate which is still open.

With the current coronavirus disease 2019 (COVID19) pandemic bringing to the intensive care hundreds of thousands of patients with ARDS over the last year, the discussion over the optimal PEEP strategy is now hot. While randomized reports are still lacking, some researchers are raising concerns about the use of high PEEP in these patients [5].

The detrimental effects of high PEEP on the heart affect mostly (but not only) the right ventricle, in a complex interaction in which the right ventricle surely benefits of improved oxygenation but may suffer acute cor pulmonale. It looks evident that, even in the operative room, we must closely consider cardiac function when planning our ventilation strategy. This is especially true in patients suffering a known heart disease, but it cannot be limited to them: Turkbey et al. reported how in a large population of patients who were free from clinical cardiovascular disease, myocardial scars were detected in 8% of subjects at 10-years follow-up [6]. Also, subclinical right ventricular dysfunction has been previously associated with obesity, putting this population at increased risk when undergoing positive pressure ventilation.

Right ventricle has often been defined as «the forgotten chamber», as its role in the circulatory

В связи с текущей пандемией COVID-19, сопровождающейся госпитализацией в реанимационные отделения сотен тысяч пациентов с ОРДС, дискуссия об оптимальной стратегии ПДКВ стала еще более актуальной. Хотя рандомизированных исследований все еще недостаточно, некоторые ученые высказывают опасения по поводу использования высокого уровня ПДКВ у таких пациентов [5].

Неблагоприятное воздействие высокого уровня ПДКВ на миокард выражается в основном (но не только) во влиянии на функцию правого желудочка, поскольку, несмотря на несомненное улучшение его оксигенации, повышается риск развития острого легочного сердца. Очевидно, что даже в условиях операционной при планировании стратегии ИВЛ следует уделять особое внимание функции миокарда. Это особенно актуально для пациентов с заболеваниями сердца в анамнезе, которыми, впрочем, дело не ограничивается. По данным Turkbey и соавт., при 10-летнем наблюдении в большой популяции пациентов без клинических проявлений сердечно-сосудистых заболеваний рубцовые изменения миокарда были обнаружены в 8% случаев [6]. Кроме того, ранее была показана связь ожирения с субклинической дисфункцией правого желудочка, что свидетельствует о повышении риска при проведении вентиляции с положительным давлением у данной категории пациентов.

Правый желудочек часто образно называют «забытой камерой сердца», поскольку его роль в системе кровообращения ранее недооценивалась. Однако в последнее время в научной литературе была проведена переоценка его роли, в связи с чем теперь дисфункция правого желудочка считается достоверным предиктором смертности во многих ситуациях.

COVID-19 сам по себе может вызвать дисфункцию правого желудочка с учетом способности вызывать тромбоэмболию легочной артерии, повышения легочного сопротивления вследствие ОРДС и отрицательного инотропного эффекта цитокиновых бурь. Убедительно доказано, что дисфункция правого желудочка является мощным предиктором более высокой смертности [7] у пациентов с COVID-19. Хотя необходимость высокого уровня ПДКВ при ОРДС уже давно не подвергается сомнению, последние данные свиде-

system was previously overlooked. Recent literature, however, reevaluated its contribution and right ventricular dysfunction is now a well-established predictor of mortality in many settings.

COVID19 entails right ventricular dysfunction due to the intrinsic characteristics of the disease, including tendency to pulmonary embolisms, increased pulmonary resistances due to ARDS and negative inotropic effects of cytokine storms. Matters of fact, right ventricular dysfunction was proven as a powerful predictor of higher mortality [7] in patients with COVID-19. While high PEEP in ARDS has been a longstanding dogma, recent findings suggest to use the utmost attention before setting a high level of PEEP even in that setting, or at least to carefully monitor right ventricular function during its use.

We should never, in any patient and at any moment, allow mechanical ventilation to induce hypotension or — worse — low cardiac output syndrome. The perfect management of ventilation should be protective, atraumatic, tolerant with moderate hypoxia and hypercapnia, noninvasive (whenever possible) and synchronized.

Modern-era mechanical ventilation should work towards a holistic approach, in which heart and lungs are so intimately interconnected and explicable that can only be referenced — and treated — as a whole.

тельствуют о том, что даже в таких условиях следует соблюдать предельную осторожность при установке высокого уровня ПДКВ или, по крайней мере, тщательно контролировать функцию правого желудочка во время его применения.

Ни в коем случае и ни при каких условиях не следует допускать развития гипотензии или, тем более, синдрома низкого сердечного выброса при проведении искусственной вентиляции легких. В идеале ИВЛ должна быть щадящей, нетравматичной, устойчивой к умеренной гипоксии и гиперкапнии, неинвазивной (при возможности) и синхронизированной.

Искусственную вентиляцию легких в современных условиях следует проводить в рамках целостного подхода, в соответствии с которым сердце и легкие настолько тесно взаимосвязаны, что могут рассматриваться (в том числе с точки зрения лечения) только как единое целое.

#### Литература/References

1. Writing Committee for the PROBESE Collaborative Group of the Protective VEntilation Network (PROVEnet) for the Clinical Trial Network of the European Society of Anaesthesiology, Bluth T., Neto A.S., Schultz M.J., Pelosi P., de Abreu M.G., Bobek I., Canet J.C., Cinnella G., de Baerdemaeker L., Gama de Abreu M., Gregoretti C., Hedenstierna G., T Hennes S.N., Hiesmayr M., Hollmann M. W., Jaber S., Laffey J., Licker M.J., Markstaller K., Matot I., Mills G.H., Mulier J.P., Pelosi P., Putensen C., Rossaint R., Schmitt J., Schultz M.J., Senturk M., Serpa Ne to A., Severgnini P., Sprung J., Vidal Melo M.F., Wrigge H. Effect of Intraoperative High Positive End-Expiratory Pressure (PEEP) With Recruitment Maneuvers vs Low PEEP on Postoperative Pulmonary Complications in Obese Patients: A Randomized Clinical Trial. *JAMA*. 2019; 321: 2292–2305. PMID: 31157366 PMID: PMC6582260 DOI: 10.1001/jama.2019.7505
2. Devereaux P.J., Mrkobrada M., Sessler D.L., Leslie K., Alonso-Coello P., Kurz A., Villar J.C., Sigamani A., Biccari B.M., Meyhoff C.S., Parlow J.L., Guyatt G., Robinson A., Garg A.X., Rodseth R.N., Boito E., Lurati Buse G., Xavier D., Chan M.T.V., Tiboni M., Cook D., Kumar P.A., Forget P., Malaga G., Fleischmann E., Amir M., Eikelboom J., Mizera R., Torres D., Wang C.Y., VanHelder T., Paniagua P., Berwanger O., Srinathan S., Graham M., Pasin L., Le Manach Y., Gao P., Pogue J., Whitlock R., Lamy A., Kearon C., Baigent C., Chow C., Pettit S., Chrolavicius S., Yusuf S.,

- POISE-2 Investigators*. Aspirin in patients undergoing noncardiac surgery. *N Engl J Med*. 2014; 370: 1494–1503. PMID: 24679062 DOI: 10.1056/NEJMoa1401105
3. *Writing Committee and Steering Committee for the RELAx Collaborative Group, Algera A.G., Pisani L., Serpa Neto A., den Boer S.S., Bosch FFH., Bruin K., Klooster P.M., Van der Meer N.J.M., Nowitzky R.O., Purmer I.M., Slabbekoorn M., Spronk P.E., van Vliet J., Weenink J.J., de Abreu M.G., Pelosi P., Schultz M.J., Paulus F* Effect of a Lower vs Higher Positive End-Expiratory Pressure Strategy on Ventilator-Free Days in ICU Patients Without ARDS: A Randomized Clinical Trial. *JAMA*. 2020; 324 (24): 2509–2520. PMID: 33295981 PMCID: PMC7726701 DOI: 10.1001/jama.2020.23517
  4. *Writing Group for the Alveolar Recruitment for Acute Respiratory Distress Syndrome Trial (ART) Investigators, Cavalcanti A.B., Suzumura É.A., Laranjeira L.N., Paisani D.M., Damiani L.P., Guimarães H.P., Romano E.R., de Moraes Regenga M., Noriko Takahashi Taniguchi L., Teixeira C, Pinheiro de Oliveira R., Ribeiro Machado F, Diaz-Quijano EA., de Alencar Filho M.S., Maia I.S., Caser E.B., de Oliveira Filho W, de Carvalho Borges M., de Aquino Martins P, Matsui M., Ospina-Tascón G.A., Simões Giancursi T, Giraldo-Ramirez N.D., Rios Vieira S.R., da Graça Pasquotto de Lima Asséf M., Shahnaz Hasan M., Szczekliki W, Rios F, Britto Passos Amato M., Berwanger O., Carlos de Carvalho R.R.* Effect of Lung Recruitment and Titrated Positive End-Expiratory Pressure (PEEP) vs Low PEEP on Mortality in Patients With Acute Respiratory Distress Syndrome: A Randomized Clinical Trial. *JAMA*. 2017; 318: 1335–1345. PMID: 28973363 PMCID: PMC5710484 DOI: 10.1001/jama.2017.14171
  5. *Roesthuis L., van den Berg M., van der Hoeven H.* Advanced respiratory monitoring in COVID-19 patients: use less PEEP! *Crit Care*. 2020; 24: 230. PMID: 32414399 PMCID: PMC7228669 DOI: 10.1186/s13054-020-02953-z
  6. *Turkbey E.B., Nacif M.S., Guo M., McClelland R.L., Teixeira P.B., Bild D.E., Barr R.G., Shea S., Post W., Burke G., Budoff M.J., Folsom A.R., Liu C.-Y., Lima J.A., Bluemke D.A.* Prevalence and Correlates of Myocardial Scar in a US Cohort. *JAMA*. 2015; 314: 1945–1954. PMID: 26547466 PMCID: PMC4774246 DOI: 10.1001/jama.2015.14849
  7. *Moody W.E., Mahmoud-Elsayed H.M., Senior J., Gul U., Khan-Kheil A.M., Horne S., Banerjee A., Bradlow W.M., Huggett R., Hothi S.S., Shahid M., Steeds R.P.* Impact of Right Ventricular Dysfunction on Mortality in Patients Hospitalized With COVID-19, According to Race. *CJC Open*. 2021; 3: 91–100. PMID: 32984798 PMCID: PMC7502228 DOI: 10.1016/j.cjco.2020.09.016

Поступила/Received 2021.05.22

## Влияние концентрации хлорида лития на его нейропротекторные свойства при ишемическом инсульте у крыс

Р. А. Черпаков\*, О. А. Гребенчиков

НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского,  
Федеральный научно-клинический центр реаниматологии и реабилитологии,  
Россия, 107031, г. Москва, ул. Петровка, д. 25, стр. 2

## Effect of Lithium Chloride Concentration on Its Neuroprotective Properties in Ischemic Stroke in Rats

Rostislav A. Cherpakov\*, Oleg A. Grebenchikov

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

**Для цитирования:** Р. А. Черпаков, О. А. Гребенчиков. Влияние концентрации хлорида лития на его нейропротекторные свойства при ишемическом инсульте у крыс. *Общая реаниматология*. 2021; 17 (5): 101–110. <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2021-5-101-110> [На русск. и англ.]

**For citation:** Rostislav A. Cherpakov, Oleg A. Grebenchikov. Effect of lithium chloride concentration on its neuroprotective properties in ischemic stroke in rats. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2021; 17 (5): 101–110. <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2021-5-101-110> [In Russ. and Engl.]

### Резюме

На сегодняшний день ряд экспериментальных исследований убедительно доказал наличие нейро-, кардио- и нефропротективных свойств у препаратов на основе лития хлорида.

**Цель исследования.** Оценить влияние различных концентраций хлорида лития на объем ишемического инсульта и перифокального отека у крыс после перенесенной ишемии головного мозга.

**Методы исследования.** В работе использовали беспородных крыс самцов массой 315±13,5 г. За основу взяли модель фокальной ишемии Лонга. Животных ( $n=35$ ) разделили на 5 групп: ложно-оперированные, контрольная группа (модель ишемического инсульта с введением NaCl 0,9%) и три группы с введением хлорида лития в различных концентрациях (4,2 мг/кг, 21 мг/кг и 63 мг/кг). Хлорид лития вводили сразу после прекращения окклюзии средней мозговой артерии и далее каждые 24 ч до момента эвтаназии. Для оценки степени повреждения головного мозга на 2-е сутки животным выполнили магнитно-резонансную томографию (МРТ), а на 7-е сутки после эвтаназии произвели оценку срезов головного мозга, окрашенных 2,3,5-трифенилтетразолия хлоридом. Межгрупповые различия показателей оценивали при помощи критерия Манна–Уитни.

**Результаты.** По данным МРТ, хлорид лития в дозе 4,2 мг/кг значимо не влиял на объем ишемического инсульта и перифокального отека по отношению к контрольной группе через 2 суток ( $p=0,9$ ). При использовании дозы 21 мг/кг объем инсульта ( $p=0,04$ ) и перифокального отека был статистически значимо ниже ( $p=0,03$ ), чем в контрольной группе (на 25 и 18% соответственно). Хлорид лития в дозе 63 мг/кг в большей степени уменьшал объем инсульта (на 45%,  $p=0,004$ ) и перифокального отека (на 35%,  $p=0,007$ ). При определении объема поражения на 7-е сутки данные были сопоставимы с результатами, полученными на 2-е сутки. При использовании дозы 21 мг/кг объем инсульта был ниже на 20% ( $p=0,04$ ), чем в контрольной группе. Хлорид лития в дозе 63 мг/кг на 40% уменьшал объем инсульта ( $p=0,004$ ).

**Закключение.** Таким образом, дозировка хлорида лития влияет на формирование некротического очага и проявления перифокального отека головного мозга после закупорки средней мозговой артерии. Максимальное уменьшение объема ишемического инсульта и перифокального отека отмечали при использовании концентрации 63 мг/кг.

**Ключевые слова:** хлорид лития; ишемический инсульт; нейропротекция; магнитно-резонансная томография; экспериментальное исследование

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Адрес для корреспонденции:

\*Ростислав Александрович Черпаков  
E-mail: Zealot333@mail.ru

Correspondence to:

\*Rostislav A. Cherpakov  
E-mail: Zealot333@mail.ru

## Summary

Currently, a number of experimental studies have demonstrated compelling evidence of neuro-, cardio-, and nephroprotective properties of medications containing lithium chloride.

**Aim of the study.** To evaluate the effect of various concentrations of lithium chloride on ischemic stroke volume and perifocal edema in rats after cerebral ischemia.

**Material and methods.** Male mongrel rats weighing  $315 \pm 13.5$  g were used in the study. The focal ischemia model according to Longa et al. was employed. The animals ( $n=35$ ) were divided into 5 groups: sham-operated, control group (ischemic stroke model with NaCl 0.9% administration) and three groups who received lithium chloride in different concentrations (4.2 mg/kg, 21 mg/kg and 63 mg/kg). Lithium chloride was administered immediately after cessation of middle cerebral artery occlusion and then every 24 h until euthanasia. To assess the degree of brain damage, the animals underwent magnetic resonance imaging (MRI) on day 2, and brain sections stained with 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride were evaluated after euthanasia on day 7. Intergroup differences were assessed using the Mann–Whitney criterion.

**Results.** According to MRI data, lithium chloride at a dose of 4.2 mg/kg had no significant effect on ischemic stroke volume and perifocal edema versus the control group on day 2 ( $P=0.9$ ). With lithium chloride at 21 mg/kg, stroke volume and perifocal edema were significantly lower than in the control group (by 25%,  $P=0.04$  and 18%,  $P=0.03$ , respectively). Lithium chloride at a dose of 63 mg/kg was more likely to reduce stroke volume (by 45%,  $P=0.004$ ) and perifocal edema (by 35%,  $P=0.007$ ). When determining lesion volume on day 7, the data were comparable to those obtained on day 2. With the 21 mg/kg dose, stroke volume was 20% lower than in the control group ( $P=0.04$ ). Lithium chloride, 63 mg/kg, reduced stroke volume by 40% ( $P=0.004$ ).

**Conclusion.** Lithium chloride dose affects necrotic focus formation and manifestations of perifocal cerebral edema after middle cerebral artery occlusion. The maximum reduction in the volume of ischemic stroke and perifocal edema was observed when the 63 mg/kg dose was used.

**Keywords:** *lithium chloride; ischemic stroke; neuroprotection; magnetic resonance imaging; experimental study*

**Conflicts of interest.** The authors declare no conflicts of interest.

DOI:10.15360/1813-9779-2021-5-101-110

## Введение

Из всех болезней сердечно-сосудистой системы именно инсульт привлекает особенно пристальное внимание. Это связано как с высокой смертностью при данном заболевании [1], так и со стойкой инвалидизацией даже в случае своевременно оказанной медицинской помощи [2, 3]. Кроме того, отмечается рост частоты встречаемости данного заболевания как среди лиц молодого возраста, так и пожилого населения [4]. И если в отношении лиц старше 65 лет эскалация числа инсультов связана, прежде всего, с ростом продолжительности жизни населения и увеличением среднего возраста, как в развитых, так и в развивающихся странах [5], то при оценке распространенности данного заболевания среди лиц молодого возраста можно выделить несколько факторов [6]. Основными факторами принято считать поведенческие — низкая физическая активность, курение, злоупотребление алкоголем и психотропными веществами, и возрастные — беременность/послеродовой период, прием пероральных контрацептивов.

Однако независимо от причин, приведших к развитию инсульта [7], прогноз как для молодых, так и для пожилых пациентов остается достаточно сложным и зависящим от целого ряда причин [8], повлиять на которые либо крайне проблематично, либо невозможно. Прежде

## Introduction

Of all the diseases of the cardiovascular system, stroke attracts particular attention. This is due to both high mortality in this disease [1] and persistent disability even in case of timely medical care [2, 3]. In addition, there is an increase in the incidence of this disease, in both young and the elderly population [4]. And if for persons over 65 years old the increase in rates of strokes is primarily related to the rise in life expectancy and average age in developed and developing countries [5], several factors can be identified when estimating the prevalence of this disease in the young age population [6]. Behavioral (low physical activity, smoking, alcohol and substance abuse) and age-related (pregnancy/postpartum period, taking oral contraceptives) ones are considered to be the main factors.

However, regardless of the causes leading to stroke [7], the prognosis for both young and elderly patients remain quite serious and depends on a variety of factors [8], which are either extremely difficult or impossible to control. These include the volume of damaged brain tissue, individual body reserves, collateral blood flow, and tolerance to ischemia [9]. The crucial factors of ischemic stroke outcome are timely diagnosis [10], timing of transportation to tertiary medical centers, and efficiency of reperfusion therapy [11]. The diversity of these issues determines the importance of searching for

всего, это объем поврежденной ткани головного мозга, индивидуальные резервы организма, степень развитости коллатерального кровотока и толерантность к ишемии [9]. Решающими факторами исхода ишемического инсульта являются: своевременная диагностика [10], сроки транспортировки в специализированные медицинские учреждения и эффективность реперфузионной терапии [11]. Разноплановость данных проблем определяет важность поиска препаратов, способных если не предотвратить, то, по крайней мере, значительно снизить процент летальности и инвалидизации.

Из всех препаратов, обладающих выраженным нейропротективным эффектом, отдельно стоит выделить карбонат лития, более 60 лет успешно применяемый при таких заболеваниях, как маниакально-депрессивные психозы и биполярные расстройства [12, 13]. Выявленные в клинической практике нейропротекторные эффекты солей лития нашли подтверждение в недавних экспериментальных исследованиях как *in vitro*, так и *in vivo* (на моделях когнитивной дисфункции у крыс) [14, 15]. Особую значимость представляет работа Ming Ren (2003) и соавт. [16], где впервые коллективом авторов было показано влияние различных дозировок хлорида лития на объем ишемического инсульта. В данной работе применялась модель фокальной ишемии головного мозга с перекрытием средней мозговой артерии в течение часа и дальнейшей реперфузией. Хлорид лития вводился в дозах от 0,5 мEq/кг (~21 мг/кг) до 3 мEq/кг (~127 мг/кг) сразу после реперфузии, после чего спустя 23 часа с момента реканализации поврежденного участка мозга животные подвергались гуманной эвтаназии. Объем повреждения головного мозга оценивали с помощью окрашивания слоев 2% 2,3,5-трифенилтетразолия хлоридом. В контрольной группе объем инсульта составлял  $290 \pm 12,5$  мм<sup>3</sup>, при этом даже применение минимальной из исследуемых концентраций значительно снижало объем повреждения головного мозга. В случае концентрации 21 мг/кг объем инсульта спустя 24 часа от инсульта составлял  $210 \pm 14,5$  мм<sup>3</sup>, что было значительно ниже, чем в контрольной группе ( $p < 0,01$ ). В группах 42 мг/кг, 84 мг/кг и 127 мг/кг зона инсульта была так же значительно ниже, чем в контрольной группе ( $p < 0,001$ ). При изучении влияния хлорида лития на модели глобальной ишемии головного мозга [17] и геморрагического инсульта [18] также были отчетливы показаны его нейропротекторные эффекты.

Однако в ранее проведенных исследованиях объем повреждения оценивали в остром эксперименте посмертно, что не давало полного представления о влиянии хлорида лития на динамику формирования очага инсульта и

drugs that can prevent or at least significantly reduce morbidity and mortality.

Among the drugs with a strong neuroprotective effect, lithium carbonate, which has been successfully used for more than 60 years for such diseases as bipolar disorder, is particularly noteworthy [12, 13]. The neuroprotective effects of lithium salts revealed in clinical practice have been confirmed in recent experimental studies both *in vitro* and *in vivo* (models of cognitive dysfunction in rats) [14, 15]. The work of Ming Ren (2003) et al. [16], who showed for the first time the effect of various doses of lithium chloride on ischemic stroke volume, is particularly relevant. In this study a model of focal cerebral ischemia after 1 hour long middle cerebral artery occlusion with subsequent reperfusion was used. Lithium chloride was administered in doses ranging from 0.5 mEq/kg (~21 mg/kg) to 3 mEq/kg (~127 mg/kg) immediately after reperfusion, followed by humane euthanasia 23 hours after recanalization of the damaged brain area. The volume of brain lesions was assessed by staining with 2% 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride. In the control group, the stroke volume was  $290 \pm 12.5$  mm<sup>3</sup>, and the administration of even lowest of the studied doses significantly reduced the extent of brain damage. At a dose of 21 mg/kg, the stroke volume 24 hours post stroke was  $210 \pm 14.5$  mm<sup>3</sup>, which was significantly lower than in the control group ( $P < 0.01$ ). In the groups receiving 42 mg/kg, 84 mg/kg, and 127 mg/kg, stroke area was similarly significantly lower than in the control group ( $P < 0.001$ ). When studying the effects of lithium chloride in models of global cerebral ischemia [17] and hemorrhagic stroke [18] its neuroprotective effects were also clearly shown.

However, in earlier studies, the extent of damage was assessed postmortem in an acute experiment, which did not provide a complete view of the effect of lithium chloride on the evolution of stroke focus and perifocal edema, and also did not allow to estimate the delayed protective effects. Moreover, in 2003 [16], the 127 mg/kg dose which is nearly 4 times higher than the maximal tolerance dose for human use proved to be the most effective in terms of neuroprotection [19]. The «narrow therapeutic window» of lithium salts is well known, that is why it is so important, knowing their distinct dose-dependent effect, to determine its optimal concentration in blood plasma for neuroprotective properties on the one hand and to avoid toxic effects on the other hand.

Therefore, the aim of our study was to investigate the effect of various concentrations of lithium chloride on the volume of ischemic stroke and perifocal edema in rats post cerebral ischemia.

## Materials and Methods

We used non-pedigreed male white rats weighing  $315 \pm 13.5$  g. The model of endovascular occlusion of the

перифокального отека, а также не позволяло судить об отсроченных защитных эффектах. Кроме того, в работе 2003 года [16] наиболее эффективной в отношении нейропротекции показала себя доза 127 мг/кг, что почти в 4 раза превышало максимально разрешенную к применению дозу у человека [19]. Хорошо известно о достаточно «узком терапевтическом окне» у солей лития, поэтому так важно, зная их отчетливый дозозависимый эффект, определить его оптимальную концентрацию в плазме крови для реализации нейропротекторных свойств, с одной стороны, и возможности избегания токсических эффектов, с другой.

Цель исследования — изучение влияния различных концентраций хлорида лития на объем ишемического инсульта и перифокального отека у крыс после перенесенной ишемии головного мозга.

## Материал и методы

В работе использовали беспородных самцов белых крыс массой 315±13,5 г. За основу взяли модель эндovasкулярной окклюзии средней мозговой артерии (фокальная ишемия) по E. Z. Longa [20]. Для предотвращения влияния субъективного фактора при формировании экспериментальных групп отбор животных осуществляли с помощью метода модифицированной блочной рандомизации. Всех животных, включенных в исследование, случайным образом помещали в ячейки блока рандомизации. После этого, пользуясь генератором случайных чисел, формировали перечень данных с номерами ячеек с и соответствующие им номера групп, куда в дальнейшем были размещены крысы.

В итоговую оценку входили только животные, выжившие на протяжении 7 дней. Животных, погибших в процессе эксперимента, не учитывали при анализе объема поражения головного мозга и исключали из группы.

На всех этапах животных маркировали посредством нанесения перманентным маркером отметки на основание хвоста. В соответствии с отметкой каждому включенному в исследование животному был присвоен соответствующий номер.

Животных разделили на 5 групп. Группа I ( $n=7$ , средняя масса 302,5±12,3 г) была представлена ложнооперированными животными, которым в качестве оперативного вмешательства выполнили срединный разрез кожи по линии проекции трахеи и выделили артерию, после чего послеоперационную рану послойно ушили, а шов обработали антисептиком. Группа II являлась контрольной ( $n=7$ , средняя масса 306±11,2 г), животных подвергали фокальной церебральной ишемии путем окклюзии средней мозговой артерии. Сразу после прекращения ишемии животным внутривенно вводили раствор NaCl 0,9% из расчета 1,5 мл/кг. Группа III ( $n=7$ , средняя масса 304±12,7 г) — одновременно с прекращением ишемии животным внутривенно вводили хлорид лития в дозе 4,2 мг/кг, с дальнейшим введением препарата в исследуемой дозе каждые 24 часа. Группа IV ( $n=7$ , средняя масса 305±11,5 г) — после снятия сосудистого зажима

middle cerebral artery (focal ischemia) according to E. Z. Longa [20] was used. To prevent subjective factor influence when forming experimental groups, animals were selected using modified block randomization method. All animals included in the study were randomly placed in randomization block cells. After that, a random number generator was used to form a data list with the numbers of cells and corresponding numbers of groups where the rats were subsequently placed.

Only animals that survived for 7 days were included in the final evaluation. Animals that died during the experiment were not included in the analysis of brain damage volume and were excluded from the group.

At all stages, animals were labeled by marking the base of the tail with a permanent marker. In accordance with the marking, each animal included in the study was assigned an appropriate number.

The animals were divided into 5 groups. Group 1 ( $n=7$ , mean weight 302.5±12.3 g) included sham-operated animals, which underwent a midline skin incision along the trachea projection line and whose artery was isolated as a surgical intervention with subsequent layered closure of the wound and antiseptic treatment. Group 2 was a control group ( $n=7$ , mean weight 306±11.2 g); the animals underwent focal cerebral ischemia by occluding the middle cerebral artery. Immediately after cessation of ischemia, the animals received intravenous 0.9% NaCl solution 1.5 ml/kg. Group 3 ( $n=7$ , mean weight 304±12.7 g) animals immediately after ischemia cessation animals received intravenous lithium chloride at a dose of 4.2 mg/kg, followed by the same dose of drug every 24 hours. Group 4 ( $n=7$ , mean weight 305±11.5 g) animals after removal of vascular clamp had lithium chloride 21 mg/kg injection, followed by the same dose of drug every 24 hours. Group 5 ( $n=7$ , mean weight 309±10.5 g) animals received intravenous lithium chloride, 63 mg/kg, immediately after cessation of focal ischemia and later once every 24 hours for 7 days.

The dosages of lithium chloride used were selected based on the available data on acute and chronic toxicity of the drug [13].

Induction anesthesia was performed by injecting 12% chloral hydrate solution 300 mg/kg into the peritoneum. The surgical field was sterilized with 0.05% chlorhexidine solution. After that, a midline incision was made in the neck, and the common carotid artery (CCA), external carotid artery (ECA), and internal carotid artery (ICA) were isolated from the right side. The CCA was clamped with a vascular clip, and a 3–0 Vicryl ligature was placed to the ICA. The ECA was cut with scissors 3–5 mm from the bifurcation. A 0.25 mm nylon thread coated with silicone and treated with heparin solution was inserted through a section of ECA into ICA to the depth of 19–21 mm (until the MCA was occluded) and fixed with a vascular clip (MCA occlusion). The blood flow was blocked for 60 min, then the suture was extracted, which restored the blood supply in the MCA region. After that, the ECA stump was coagulated to complete tightness and the vascular clips were subsequently removed. At the end of the operation, the incision was sutured with 4–0 Vicryl and treated with 5% brilliant green dye. After the operation, body temperature monitoring was performed aimed at maintaining physiological values using infrared lamps until independent thermoregulation was restored in the animal. During the operation the body temperature was maintained at 37±0.5°C using an electric heating pad. The av-

крысам вводили хлорид лития в дозе 21 мг/кг с последующим введением указанной дозы раз в 24 часа. Группа V ( $n=7$ , средняя масса  $309\pm 10,5$  г) — животным сразу после прекращения фокальной ишемии, и далее в течение 7 суток один раз в 24 часа вводили хлорид лития в дозе 63 мг/кг.

Применяемые дозировки хлорида лития были подобраны на основании имеющихся данных об острой и хронической токсичности препарата [13].

Вводную анестезию проводили путем инъекции в брюшину 12% раствора хлоралгидрата в дозе 300 мг/кг. Поле операции обрабатывали раствором хлоргексидина 0,05%. После этого выполняли срединный разрез в области шеи, с правой стороны выделяли общую сонную артерию (ОСА), внешнюю сонную артерию (ВНСА) и внутреннюю сонную артерию (ВСА). ОСА пережимали сосудистой клипсой, на ВСА накладывали лигатуру из викрила №3. ВНСА перерезали ножницами на расстоянии 3–5 мм от бифуркации. Нейлоновую нить диаметром 0,25 мм, покрытую силиконом и обработанную раствором гепарина, вводили через отрезок ВНСА во ВСА на глубину 19–21 мм (до момента перекрытия СМА) и фиксировали сосудистой клипсой (ОСМА). Кровоток перекрывали на 60 мин, после чего нить извлекали, что восстанавливало кровоснабжение в бассейне СМА. После этого культю ВНСА закрывали коагуляцией до полной герметичности и в дальнейшем снимали сосудистые клипсы. В конце операции разрез ушивали викрилом №4 и обрабатывали 5% раствором бриллиантового зеленого. После операции выполняли непрерывную термометрию с поддержанием температуры на уровне физиологической нормы с помощью инфракрасных ламп, до восстановления самостоятельной терморегуляции у животного. Во время операции температуру тела поддерживали на уровне  $37\pm 0,5^\circ\text{C}$  с помощью электрической грелки. Среднее время проведения операции составило 7–10 мин. Ложнооперированных животных (ЛО) подвергали тем же процедурам за исключением введения силиконовой нити в просвет ВНСА.

Введение NaCl 0,9% в контрольной группе и хлорида лития в группах III, IV и V осуществляли внутривенно однократно сразу после снятия сосудистых клипс. В последующие дни эксперимента препарат вводили один раз в сутки до момента эвтаназии.

Оценку объема повреждения тканей головного мозга проводили с использованием магнитно-резонансной томографии (на 2-е сутки) и с помощью сканирования срезов головного мозга, окрашенных 2,3,5-трифенилтетразолия хлоридом (ТТС-метод) после эвтаназии (на 7-е сутки).

Перед помещением в аппарат магнитно-резонансной томографии лабораторным животным проводили седацию путем ингалирования 1,5–2,0 об% Изофлурана. Далее животное помещали в устройство позиционирования с системой стереотаксиса и терморегуляции. Все импульсные последовательности предварительно отработали и оптимизировали на фантомах. Для передачи радиочастотного (РЧ) сигнала использовали линейный трансмиттер с внутренним диаметром 72 мм, для детекции РЧ-сигнала — поверхностную приемную катушку для мозга крысы. Использовали следующие импульсные последова-

erage time of the operation was 7–10 minutes. Sham-operated animals underwent the same procedures except for the introduction of a silicone thread into the ECA lumen.

Normal saline in the control group and lithium chloride in groups 3, 4 and 5 were administered intravenously immediately after the vascular clips were removed. On the following days of the experiment the drug was administered once a day until euthanasia.

The extent of brain tissue damage was assessed by magnetic resonance imaging (on day 2) and by scanning the brain sections stained with 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride (TTC-method) after euthanasia (on day 7).

The laboratory animals were sedated by inhalation of 1.5–2.0 vol% Isoflurane before placement in the MRI machine. The animals were then placed in a positioning device with a stereotaxis and thermoregulation system. All pulse sequences were pre-tested and optimized on dummies. A linear transmitter with an internal diameter of 72 mm was used to transmit the radiofrequency (RF) signal, and a surface receiving coil for the rat brain was used to detect the RF signal. The following pulse sequences (PS) were used: RARE - spin echo-based PS with TR 6000 ms, TE 63.9 ms, slice thickness 0.5 mm, matrix size  $256\times 384$ , resolution  $0.164\times 0.164$  mm/pixel. Total scanning time per animal was about 25 minutes.

On day 7 after ischemia, animals were given an increased dose of chloral hydrate and decapitated. The brain was removed from the cranium and rinsed in normal saline, then cut into 2-mm-thick coronal sections using a special mold with grooves for precise cutting. Sections were stained with 1% 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride (TTC, «Sigma») solution in buffer with pH 7.4 for 10 minutes at  $37^\circ\text{C}$  and fixed in 10% formalin solution in buffer. To obtain images, the sections were scanned from both sides on an HP Scanjet 4500c scanner (2400 dpi resolution).

Digital images of brain sections stained with TTC or T2-weighted magnetic resonance images (MR images) were used for morphometric assessment of the ischemic focus area and the volume of ischemic injury. Digital images were analyzed using ImageJ (NIH, Bethesda, USA) medical image analysis freeware. Separate measurements of total infarct area, cortex, and subcortical structures were used for each section. Areas not stained with TTC were considered to be necrotic. The 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride itself is white, but under the action of cellular dehydrogenases it turns red due to reduction, which clearly delineates the dead tissue zone.

The volume of ischemic infarction (V) was determined using the formula:

$$V = \sum A \times d$$

where **V** — volume;  $\sum A$  — sum of the areas of all MR-sections; **d** — width of sections.

Also, percentage of cerebral edema was determined using the formula:

$$\% \text{ cerebral edema} = ((S_{ih} - S_{ch}) / S_{ch}) \times 100$$

where  $S_{ih}$  — area of the ipsilateral hemisphere,  $S_{ch}$  — area of the contralateral hemisphere. The volume of ischemic lesion for each group was normalized to the mean value of infarct volume in the MCA occlusion + normal saline group.

Five minutes after lithium chloride injection and 1, 4, and 24 hours later, the drug concentration in plasma was measured to determine a safe dosage based on the available data on the threshold toxic concentration for humans (2.5 mmol/l).

**Таблица 1. Объем зон повреждения головного мозга на 2-е и 7-е сутки после инсульта при различных концентрациях хлорида лития, Q2 (Q1–Q3).****Table 1. Volume of brain damage zones on day 2 and day 7 after stroke at various doses of lithium chloride, Q2 (Q1–Q3).**

| Group                      | Values on the study stages     |        |   |        |                                |        |
|----------------------------|--------------------------------|--------|---|--------|--------------------------------|--------|
|                            | Day 2                          |        |   | Day 7  |                                |        |
|                            | Stroke volume, mm <sup>3</sup> | P      | Perifocal edema volume, mm <sup>3</sup> | P      | Stroke volume, mm <sup>3</sup> | P      |
| Control                    | 235,0 (180,5–261,0)            | —      | 110,0 (101,5–118,0)                     | —      | 200,0 (170,5–256,0)            | —      |
| Lithium chloride 4.2 mg/kg | 218,0 (199,5–250,5)            | 0,9    | 104,0 (100,5–109,0)                     | 0,9    | 188,5 (168,0–235,0)            | 0,9    |
| Lithium chloride 21 mg/kg  | 175,5 (154,5–180,0)            | 0,04*  | 89,5 (79,5–95,0)                        | 0,03*  | 158,0 (125,0–175,5)            | 0,045* |
| Lithium chloride 63 mg/kg  | 128,5 (119,0–143,5)            | 0,004* | 71,0 (68,0–78,0)                        | 0,007* | 118,0 (102,0–133,0)            | 0,037* |

**Note.** \* Differences versus controls are significant (Mann–Whitney *U*-test) at  $P < 0.05$ .

**Примечание.** Values on the study stages — значения на этапах исследования; stroke volume — объем инсульта; perifocal edema volume — объем перифокального отека. \* — различия в сравнении с контролем статистически значимы (*U*-критерий Манна–Уитни) при  $p < 0,05$ .

тельности (ИП): RARE — ИП на основе спинового эха с параметрами: TR=6000 мс, TE=63,9 мс, толщина среза 0,5 мм, размер матрицы 256×384, разрешение 0,164×0,164 мм/пиксел. Общее время сканирования одного животного составило около 25 минут.

На 7-е сутки после ишемии животным вводили повышенную дозу хлоралгидрата и выполняли декапитацию. Мозг извлекали из черепной коробки и промывали в физиологическом растворе, после чего разрезали на корональные срезы толщиной 2 мм с помощью специальной формы с пазами для точной резки. Срезы окрашивали 1% раствором 2,3,5-трифенилтетразолий хлорида (ТТС, «Sigma») в буферном растворе с pH 7,4 в течение 10 минут при 37°C и фиксировали в растворе 10% формалина в буферном растворе. Для получения изображений срезы сканировали с обеих сторон на сканере hp scanjet 4500c (разрешение 2400 dpi).

Для морфометрического измерения площади очага и объема ишемического повреждения использовали цифровые изображения срезов мозга, окрашенных ТТС или T2-взвешенные магнитно-резонансные изображения (MP-изображение). Анализ цифровых изображений проводили с помощью свободно распространяемой программы анализа медицинских изображений «ImageJ» (НИН, Бетесда, США). Для каждого среза использовали отдельные измерения общей площади инфаркта, коры и подкорковых структур. Неокрашенные ТТС участки принимали как некротические зоны. Сам 2,3,5-трифенилтетразолий хлористый имеет белый цвет, однако под влиянием клеточных дегидрогеназ окрашивается в красный цвет в результате восстановления, что позволяет четко отделить зону погибших тканей.

Объем ишемического инфаркта (*V*) определяли по формуле:

$$V = \sum A \times d$$

где: *V* — объем;  $\sum A$  — сумма площадей всех МР-срезов; *d* — ширина срезов.

Также определили % отека мозга по формуле:

$$\% \text{ отека мозга} = ((S_{ип} - S_{кп}) / S_{кп}) \times 100$$

где: *S<sub>ип</sub>* — площадь ипсилатерального полушария, *S<sub>кп</sub>* — площадь контралатерального полушария. Объем ишемического повреждения для каждой группы нормализовали на среднее значение объема инфаркта в группе ОСМА+Физ р-р.

Спустя 5 минут после введения хлорида лития, а также через 1, 4 и 24 часа оценивали концентра-

цию (Statistica 10.0 (StatSoft, Inc.) and MedCalc 12.5.0.0 (MedCalc Software bvba) were used for statistical analysis. Quantitative data were reported as medians (Q2) and interquartile range (Q3–Q1). Intergroup differences were assessed using the Mann–Whitney test and were considered significant at  $P < 0.05$ .

## Results and Discussion

The MRI performed on day 2 after ischemia episode showed that the stroke volume significantly differed from the control group only when lithium chloride was administered at doses of 21 mg/kg and 63 mg/kg.

The results obtained when assessing the volume of brain damage on day 2 are presented in Table 1. Stroke volume in the 4.2 mg/kg group was 7.8% lower than in the control group, and perifocal edema volume was 5.7% lower. In the group receiving the drug at 21 mg/kg, the stroke volume was reduced by 25.5% and perifocal edema by 18.6%. In the group receiving lithium chloride at a dose of 63 mg/kg, the stroke volume was reduced by 43.5% and perifocal edema by 35.4%.

The brain lesion areas on MRI on day 2 are shown in Figure.

Lithium chloride at doses of 21 mg/kg and 63 mg/kg significantly reduced the volume of the damage, whereas no significant difference was observed, when a dose of 4.2 mg/kg was administered.

The results obtained when assessing the stroke volume on day 7 are presented in Table 1.

In animals receiving lithium chloride at a dose of 4.2 mg/kg, the damaged area was 5.7% smaller than in the control group. The volume of damaged tissue was 21% less with the dose of 21 mg/kg and 41% less when the the dose of 63 mg/kg was used.

When determining the concentration of lithium chloride in the blood of animals, we found that the dose of 63 mg/kg was associated with the borderline toxic blood level (2.5 mmol/L) 5 minutes after administration. However, as early as one hour later, the blood concentration of the drug decreased again to a safe level. Separately, it should

цию препарата в плазме животных с целью определения безопасной дозировки исходя из имеющихся данных о пороговой токсической концентрации для человека (2,5 ммоль/л).

Для статистического анализа использовали программы Statistica 10.0 (StatSoft, Inc.) и MedCalc 12.5.0.0 (MedCalc Software bvba). Количественные данные представляли медианой ( $Q_2$ ) и межквартильным интервалом ( $Q_3-Q_1$ ). Межгрупповые различия показателей оценивали при помощи  $U$ -критерия Уитни-Манна и принимали значимыми при  $p < 0,05$ .

## Результаты и обсуждение

При оценке результатов магнитно-резонансной томографии на 2-е сутки после перенесенной ишемии объем инсульта значимо отличался от контрольной группы только при введении хлорида лития в дозах 21 мг/кг и 63 мг/кг.

Результаты, полученные при оценке объема повреждения головного мозга на 2-е сутки, представили в табл. 1. Объем инсульта в группе 4,2 мг/кг был на 7,8% меньше, чем в контрольной группе, а объем перифокального отека — на 5,7%. При использовании концентрации 21 мг/кг объем инсульта снижался на 25,5%, а перифокальный отек — на 18,6%. В группе хлорида лития в дозе 63 мг/кг объем инсульта снижался на 43,5%, а перифокального отека — на 35,4%.

Зоны поражения головного мозга на МРТ-изображениях через 2 суток представили на рисунке.

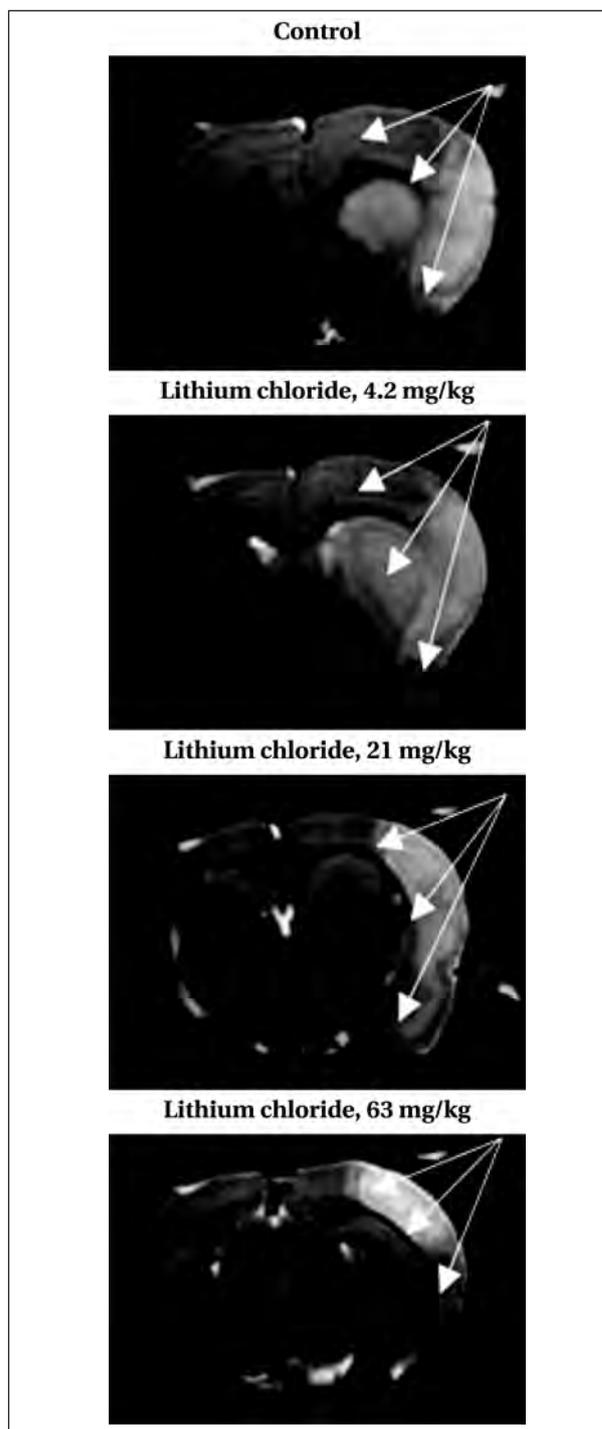
Хлорид лития в дозах 21 мг/кг и 63 мг/кг значимо уменьшал объем повреждения, в то время как при введении дозы 4,2 мг/кг значимой разницы не отмечали.

Результаты, полученные при оценке объема инсульта на 7-е сутки, представили в табл. 1. В группе хлорида лития в дозе 4,2 мг/кг зона повреждения была на 5,7% меньше, чем в контрольной группе. При использовании дозы 21 мг/кг объем поражения был меньше на 21%, а при дозе 63 мг/кг — на 41%.

При определении концентрации хлорида лития в крови животных выявили, что при используемых в рамках эксперимента концентрациях только доза 63 мг/кг через 5 минут после введения достигала пограничного токсического значения (2,5 ммоль/л). Однако уже спустя час концентрация в крови вновь снижалась до безопасной. Отдельно стоит указать, что от применения хлорида лития в дозе 84 мг/кг было решено воздержаться в виду превышения пороговой токсической концентрации как спустя 5 минут, так и спустя 1 час.

Данные по концентрации хлорида лития в плазме представили в табл. 2.

В ходе эксперимента отдельно оценивали летальность в группах, однако ее анализ не



Зона ишемического инсульта через 2-е суток после окклюзии средней мозговой артерии. МРТ (T2-взвешенные изображения).

Ischemic stroke area 2 days post middle cerebral artery occlusion. MRI (T2-weighted images).

Note. White arrows delineate the brain lesion.

Примечание. Белыми стрелками указаны границы повреждения головного мозга.

be noted that we decided to avoid using lithium chloride at a dose of 84 mg/kg due to exceeding the threshold toxic concentration both after 5 minutes and after 1 hour.

**Таблица 2. Концентрация хлорида лития (ммоль/л) в крови после однократного введения, Q2 (Q1–Q3).  
Table 2. Blood lithium chloride concentration (mmol/L) after a single injection of the drug, Q2 (Q1–Q3).**

| Lithium chloride dose | Lithium chloride (mmol/L) in blood at different periods after injection |               |                |                |
|-----------------------|---|---------------|----------------|----------------|
|                       | after 5 min   | after 1 hour  | after 4 hours  | after 24 hours |
| 4.2 mg/kg (0.1 ml/kg) | 0.7 (0.5–0.8)   | 0.5 (0.3–0.6) | Not detectable | Not detectable |
| 21 mg/kg (0.5 ml/kg)  | 1.7 (1.5–1.8)   | 1.2 (1.1–1.3) | 0.5 (1.3–1.6)  | Not detectable |
| 63 mg/kg (1.5 ml/kg)  | 2.5 (2.2–2.6)   | 2.0 (1.8–2.2) | 1.0 (0.8–1.1)  | 0.1 (0–0.2)    |
| 84 mg/kg (2.0 ml/kg)  | 3.7 (3.5–3.9)   | 3.3 (3.1–3.5) | 2.6 (2.1–2.7)  | 0.2 (0.1–0.3)  |

**Примечание.** In blood at different periods after injection — в крови в разное время после введения.

являлся приоритетной целью в данном исследовании. В контрольной группе она составила 58,8% (из 17 животных погибло 10). В группе III из 16 животных погибло 9 (56,25%,  $\chi^2=0,022$ ,  $p=0,882$  по отношению к контрольной группе). Летальность в группе IV составила 36,3% (из 11 животных погибло 4,  $\chi^2=1.348$ ,  $p=0,246$  по отношению к контрольной группе), в группе V она была минимальной и составила 30% (погибло 3 из 10 животных,  $\chi^2=2,095$ ,  $p=0,148$  по отношению к контрольной группе).

На сегодняшний день достаточно хорошо известны молекулярные механизмы нейропротекторного эффекта солей лития. [10]. Первый механизм — это прямое ингибирование основного фермента в реализации механизма ишемического и фармакологического preconditionирования — гликоген-синтазы-киназы 3бета (ГСК-3 $\beta$ ) [21]. Второй механизм — инактивация NMDA-рецепторов, что приводит к снижению активности проапоптотического белка p53 и повышение активности анти-апоптотических белков Bcl2 [13]. Третий механизм — активация сигнального пути PI3K/Akt, отвечающего за выживание клетки [22].

Плейотропный механизм реализации нейропротекторного эффекта солей лития позволяет надеется, что его использование улучшит результаты лечения ишемического инсульта. Так же стоит отметить, что в отношении карбоната лития уже накоплен достаточно обширный клинический опыт. Применения карбоната лития в рамках терапии маниакально-депрессивных состояний позволило весьма подробно оценить его влияние на частоту развития инсультов в данной группе пациентов, которая, по имеющимся данным, значительно выше, нежели у остальных людей [23]. При сравнении с группами пациентов, принимающих стандартную терапию на основе антипсихотиков и антидепрессантов, частота развития инсульта среди получавших терапию карбонатом лития была значимо ниже. По данным проведенных исследований в случае стандартной терапии инсульт развивался у 5,4% пациентов, в то время как на фоне приема карбоната лития его частота не превышала 2,8%, что было статистически

Data on plasma lithium chloride concentration are shown in Table 2.

During the experiment, mortality was evaluated separately in the groups, but its analysis was not a priority of our study. In the control group the mortality rate was 58.8% (10 out of 17 animals died). In group 3, 9 animals out of 16 died (56.25%,  $\chi^2=0.022$ ,  $P=0.882$  versus the control group). The mortality rate in group 4 was 36.3% (4 out of 11 animals died,  $\chi^2=1.348$ ,  $P=0.246$  versus the control group), in group 5 it was minimal and reached 30% (3 out of 10 animals died,  $\chi^2=2.095$ ,  $P=0.148$  versus the control group).

Currently, the molecular mechanisms of the neuroprotective effect of lithium salts are well known [10]. The first mechanism is the direct inhibition of glycogen synthase kinase 3beta (GSK-3 $\beta$ ), the main enzyme in ischemic and pharmacological preconditioning [21]. The second mechanism is inactivation of NMDA-receptors, which leads to decrease of pro-apoptotic protein p53 activity and increase in anti-apoptotic proteins Bcl2 activity [13]. The third mechanism is the activation of PI3K/Akt signaling pathway responsible for cell survival [22].

The multifaceted mechanism of realization of the neuroprotective effect of lithium salts suggests that its use will improve the results of treatment of ischemic stroke. Moreover, there is a considerable clinical experience with lithium carbonate use. Administration of lithium carbonate in bipolar disorders has allowed to estimate its effect on stroke incidence in this group of patients, which, Whitney-according to available data, is much higher than in other populations [23]. When compared with patients on standard therapy based on antipsychotics and antidepressants, the incidence of stroke among those receiving lithium carbonate therapy was significantly lower. According to studies, with standard therapy, stroke developed in 5.4% of patients, while in those on lithium carbonate its incidence did not exceed 2.8%, which was significantly lower ( $P<0.05$ ) [24, 25]. Also, Mohammadianinejad S. E. [26] and Sun Y. R. [27] have shown improvement of motor functions in post stroke patients administered with lithium carbonate.

значимо ( $p < 0,05$ ) меньше. [24, 25]. Так же в работах S. E. Mohammadianinejad [26] и Y. R. Sun [27] было отмечено улучшение моторных функций у пациентов, перенесших инсульт и принимавших после этого карбонат лития.

### Заключение

Полученные результаты позволяют сделать два вывода. Во-первых, хлорид лития обладает нейропротекторным действием, как в раннем (2-е сутки), так и в отсроченном (7-е сутки) постинсультном периоде, значимо уменьшая размер инсульта и перифокального отека. Во-вторых, данный эффект является дозозависимым, в полной мере проявляясь при использовании концентрации 21 мг/кг и 63 мг/кг, и никак не влияя на объем поражения в дозе 4,2 мг/кг.

В то же время при сравнении с ранее исследуемыми концентрациями [16] было показано, что реализация нейропротекторного эффекта хлорида лития возможна без превышения токсической концентрации. Кроме того, в ранее проведенных работах [23, 28, 29] оптимальные дозы для реализации кардио- и нефропротекторного эффекта составили 30 мг/кг. Хорошо известно о достаточно «узком терапевтическом окне» у солей лития, поэтому так важно, зная их отчетливый дозозависимый эффект, определить оптимальную концентрацию солей лития в плазме крови для реализации их нейропротекторных свойств, с одной стороны, и возможности предупреждения токсических эффектов — с другой.

### Литература

1. Thrift A.G., Thayabaranathan T., Howard G., Howard V.J., Rothwell P.M., Feigin V.L., Norrving B., Donnan G.A., Cadilhac D.A. Global stroke statistics. *Int J Stroke*. 2017; 12 (1): 13–32. DOI: 10.1177/1747493016676285 PMID: 27794138
2. Cai W., Mueller C., Li Y.J., Shen W.D., Stewart R. Post stroke depression and risk of stroke recurrence and mortality: A systematic review and meta-analysis. *Ageing Res Rev*. 2019; 50: 102–109. DOI: 10.1016/j.arr.2019.01.013 PMID: 30711712
3. Парфенов А.Л., Петрова М.В., Пичугина И.М., Лугинина Е.В. Формирование коморбидности у пациентов с тяжелым повреждением мозга и исходом в хроническое критическое состояние (обзор). *Общая реаниматология*. 2020; 16 (4): 72–89. DOI 10.15360/1813-9779-2020-4-72-89
4. Hall E.W., Vaughan A.S., Ritchey M.D., Schieb L., Casper M. Stagnating National Declines in Stroke Mortality Mask Widespread County-Level Increases, 2010–2016. *Stroke*. 2019; 50 (12): 3355–3359. DOI: 10.1161/STROKEAHA.119.026695 PMID: 31694505
5. Sharrief A., Grotta J.C. Stroke in the elderly. *Handb Clin Neurol*. 2019; 167: 393–418. DOI: 10.1016/B978-0-12-804766-8.00021-2 PMID: 31753145
6. Hathidara M.Y., Saini V., Malik A.M. Stroke in the Young: a Global Update. *Curr Neurol Neurosci Rep*. 2019; 19 (11): 91. DOI: 10.1007/s11910-019-1004-1 PMID: 31768660
7. Голубев А.М. Модели ишемического инсульта (обзор). *Общая Реаниматология*. 2020; 16 (1): 59–72 DOI: 10.15360/1813-9779-2020-1-59-72
8. Wu Q., Tang A.J., Zeng L., Niu S.Z., Tian M.M., Jin A.P., Yang H.Y., Chen J.J., Xiao-Ping Z., Shi Y. Prognosis of Neurological Improvement in Inpatient Acute Ischemic Stroke Survivors: A Propensity Score Matching Analysis. *J Stroke Cerebrovasc Dis*. 2021; 30 (1): 105437. DOI: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2020.105437 PMID: 33197800
9. Sennfält S., Pihlsgård M., Norrving B., Ullberg T., Petersson J. Ischemic stroke patients with prestroke dependency: Characteristics and long-term prognosis. *Acta Neurol Scand*. 2021; 143 (1): 78–88. DOI: 10.1111/ane.13328 PMID: 32738814

### Conclusion

The results have led us to two conclusions. First, lithium chloride has a neuroprotective effect both in the early (day 2) and in the delayed (day 7) poststroke period, significantly reducing the size of the stroke and perifocal edema. Secondly, this effect is dose-dependent, being fully manifested at doses of 21 mg/kg and 63 mg/kg and having no effect on the brain lesion volume when administered at a dose of 4.2 mg/kg.

At the same time, when comparing with the previously studied plasma concentrations [16], the neuroprotective effect of lithium chloride was shown to develop without exceeding the toxic concentration. Moreover, in earlier studies [23, 28, 29], the optimal doses for implementation of cardio- and nephroprotective effect were 30 mg/kg. The «narrow therapeutic window» of lithium salts is well known, so in view of their distinct dose-dependent effect it is important to determine the optimal plasma concentration of lithium salts to implement their neuroprotective properties on the one hand and prevent toxic effects on the other hand.

The newly obtained knowledge warrants the prospects for developing a novel drug formulation (intravenous lithium chloride) for the treatment of cerebrovascular accidents.

Полученные новые знания позволяют, как нам представляется, рассмотреть перспективы создания нового лекарственного средства (раствор лития хлорида для внутривенного введения) для лечения острых церебральных катастроф.

### References

1. Thrift A.G., Thayabaranathan T., Howard G., Howard V.J., Rothwell P.M., Feigin V.L., Norrving B., Donnan G.A., Cadilhac D.A. Global stroke statistics. *Int J Stroke*. 2017; 12 (1): 13–32. DOI: 10.1177/1747493016676285 PMID: 27794138
2. Cai W., Mueller C., Li Y.J., Shen W.D., Stewart R. Post stroke depression and risk of stroke recurrence and mortality: A systematic review and meta-analysis. *Ageing Res Rev*. 2019; 50: 102–109. DOI: 10.1016/j.arr.2019.01.013 PMID: 30711712
3. Parfenov A.L., Petrova M.V., Pichugina I.M., Lugina E.V. Comorbidity Development in Patients with Severe Brain Injury Resulting in Chronic Critical Condition (Review). *Obshchaya Reanimatologiya=General Reanimatology*. 2020; 16 (4): 72–89 [In Russ.]. DOI 10.15360/1813-9779-2020-4-72-89
4. Hall E.W., Vaughan A.S., Ritchey M.D., Schieb L., Casper M. Stagnating National Declines in Stroke Mortality Mask Widespread County-Level Increases, 2010–2016. *Stroke*. 2019; 50 (12): 3355–3359. DOI: 10.1161/STROKEAHA.119.026695 PMID: 31694505
5. Sharrief A., Grotta J.C. Stroke in the elderly. *Handb Clin Neurol*. 2019; 167: 393–418. DOI: 10.1016/B978-0-12-804766-8.00021-2 PMID: 31753145
6. Hathidara M.Y., Saini V., Malik A.M. Stroke in the Young: a Global Update. *Curr Neurol Neurosci Rep*. 2019; 19 (11): 91. DOI: 10.1007/s11910-019-1004-1 PMID: 31768660
7. Golubev A.M. Models of Ischemic Stroke (Review). *Obshchaya Reanimatologiya=General Reanimatology*. 2020; 16 (1): 59–72 [In Russ.]. DOI: 10.15360/1813-9779-2020-1-59-72
8. Wu Q., Tang A.J., Zeng L., Niu S.Z., Tian M.M., Jin A.P., Yang H.Y., Chen J.J., Xiao-Ping Z., Shi Y. Prognosis of Neurological Improvement in Inpatient Acute Ischemic Stroke Survivors: A Propensity Score Matching Analysis. *J Stroke Cerebrovasc Dis*. 2021; 30 (1): 105437. DOI: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2020.105437 PMID: 33197800
9. Sennfält S., Pihlsgård M., Norrving B., Ullberg T., Petersson J. Ischemic stroke patients with prestroke dependency: Characteristics and long-term prognosis. *Acta Neurol Scand*. 2021; 143 (1): 78–88. DOI: 10.1111/ane.13328 PMID: 32738814

10. Голубев А.М., Петрова М.В., Гречко А.В., Захарченко В.Е., Кузовлев А.Н., Еришов А.В. Молекулярные маркеры ишемического инсульта. *Общая Реаниматология*. 2019; 15 (5): 11–22. DOI: 10.15360/1813-9779-2019-5-11-22
11. D'Alton M., Coughlan T., Cogan N., Greene S., McCabe D.J.H., McCarthy A., Murphy S., Walsh R., O'Neill D., Kennelly S., Ryan D., Collins R. Patterns of mortality in modern stroke care. *Ir Med J*. 2018; 111 (5): 750. PMID: 30489045
12. 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
13. Плотников Е.Ю., Силачев Д.Н., Зорова Л.Д., Певзнер И.Б., Янкаускас С.С., Зоров С.Д., Бабенко В.А., Скулачев М.В., Зоров Д.Б. Соли лития — простые, но магические (обзор). *Биохимия*. 2014; 79 (8): 932–943. DOI: 10.1134/S0006297914080021 PMID: 25365484
14. Kerr F., Bjedov I., Sofola-Adesakin O. Molecular mechanisms of lithium action: switching the light on multiple targets for dementia using animal models. *Frontiers in Molecular Neuroscience*. 2018; 11: 297. DOI: 10.3389/fnmol.2018.00297 PMID: 30210290
15. Wang Y., An X., Zhang X., Liu J., Wang J., Yang Z. Lithium chloride ameliorates cognition dysfunction induced by sevoflurane anesthesia in rats. *FEBS Open Bio*. 2019; 10 (2): 251–258. DOI: 10.1002/2211-5463.12779. PMID: 31867790
16. Ren M., Senatorov V.V., Chen R.W., Chuang D.M. Postinsult treatment with lithium reduces brain damage and facilitates neurological recovery in a rat ischemia/reperfusion model. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2003; 100 (10): 6210–6215. DOI: 10.1073/pnas.0937423100 PMID: 12732732
17. Yan X.B., Wang S.S., Hou H.L., Ji R., Zhou J.N. Lithium improves the behavioral disorder in rats subjected to transient global cerebral ischemia. *Behav Brain Res*. 2007; 177 (2): 282–289. DOI: 10.1016/j.bbr.2006.11.021 PMID: 17210190
18. Liu Z., Li R., Jiang C., Zhao S., Li W., Tang X. The neuroprotective effect of lithium chloride on cognitive impairment through glycogen synthase kinase-3 $\beta$  inhibition in intracerebral hemorrhage rats. *Eur. J. Pharmacol.* 2018; 840: 50–59. DOI: 10.1016/j.ejphar.2018.10.019 PMID: 30336136
19. McKnight R.F., Adida M., Budge K., Stockton S., Goodwin G.M., Geddes J.R. Lithium toxicity profile: a systematic review and metaanalysis. *Lancet*. 2012; 379 (9817): 721–728. DOI: 10.1016/S0140-6736(11)61516-X PMID: 22265699
20. Longa E.Z., Weinstein P.R., Carlson S., Cummins R. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats. *Stroke*. 1989; 20 (1): 84–91. DOI: 10.1161/01.str.20.1.84 PMID: 2643202
21. Juhaszova M., Zorov D.B., Yaniv Y. Role of glycogen synthase kinase-3 $\beta$  in cardioprotection. *Circ Res*. 2009; 104 (11): 1240–1252. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.109.197996 PMID: 19498210
22. Острова И.В., Гребенчиков О.А., Голубева Н.В. Нейропротективное действие хлорида лития на модели остановки сердца у крыс. *Общая реаниматология*. 2019; 15 (3): 73–82. DOI: 10.15360/1813-9779-2019-3-73-82
23. Santos C.O., Caeiro L., Ferro J.M., Figueira M.L. Mania and stroke: a systematic review. *Cerebrovasc Dis*. 2011; 32 (1): 11–21. DOI: 10.1159/000327032 PMID: 21576938
24. Lan C.C., Liu C.C., Lin C.H., Lan T.Y., McInnis M.G., Chan C.H., Lan T.H. A reduced risk of stroke with lithium exposure in bipolar disorder: a population-based retrospective cohort study. *Bipolar Disord*. 2015; 17: 705–714. DOI: 10.1111/bdi.12336 PMID: 26394555
25. Bosche B., Molcanyi M., Rej S., Doepfner T.R., Obermann M., Müller D.J., Das A., Hescheler J., Macdonald R.L., Noll T., Härtel F.V. Low-Dose Lithium Stabilizes Human Endothelial Barrier by Decreasing MLC Phosphorylation and Universally Augments Cholinergic Vasorelaxation Capacity in a Direct Manner. *Front Physiol*. 2016; 7: 593. DOI: 10.3389/fphys.2016.00593 PMID: 27999548
26. Mohammadianinejad S.E., Majdinasab N., Sajedi S.A., Abdollahi F., Moqaddam M., Sadr F. The effect of lithium in post-stroke motor recovery: A double-blind, placebo-controlled, randomized clinical trial. *Clin. Neuropharmacol*. 2014; 37: 73–78. DOI: 10.1097/WNF.000000000000028 PMID: 24824661
27. Sun Y.R., Herrmann N., Scott C.J.M., Black S.E., Swartz R.H., Hopyan J., Lanctôt K.L. Lithium carbonate in a poststroke population: exploratory analyses of neuroanatomical and cognitive outcomes. *Journal of Clinical Psychopharmacology*. 2019; 39 (1): 67–71. DOI: 10.1097/JCP.0000000000000981 PMID: 30566418
28. 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
29. Черпаков Р.А., Гребенчиков О.А., Плотников Е.Ю., Лихванцев В.В. Сравнительная эффективность фармакологического preconditionирования на основе даларгина и лития на модели гентамициновой нефротоксичности. *Анестезиология и реаниматология*. 2015; 60 (1): 58–63. PMID: 26027228
10. Golubev A.M., Grechko A.V., Govorukhina M.A., Zakharchenko V.E., Kuzovlev A.N., Petrova M.V. Molecular Markers of Hemorrhagic Stroke. *Obshchaya Reanimatologiya=General Reanimatology*. 2019; 15 (5): 11–22 [In Russ.]. DOI: 10.15360/1813-9779-2019-5-11-22
11. D'Alton M., Coughlan T., Cogan N., Greene S., McCabe D.J.H., McCarthy A., Murphy S., Walsh R., O'Neill D., Kennelly S., Ryan D., Collins R. Patterns of mortality in modern stroke care. *Ir Med J*. 2018; 111 (5): 750. PMID: 30489045
12. 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
13. Plotnikov E.Y., Silachev D.N., Zorova L.D., Pevzner I.B., Jankauskas S.S., Zorov S.D., Babenko V.A., Skulachev M.V., Zorov D.B. Lithium salts — Simple but magic. *Biokhimiya=Biochemistry (Moscow)*. 2014; 79 (8): 932–943 [In Russ.]. DOI: 10.1134/S0006297914080021 PMID: 25365484
14. Kerr F., Bjedov I., Sofola-Adesakin O. Molecular mechanisms of lithium action: switching the light on multiple targets for dementia using animal models. *Frontiers in Molecular Neuroscience*. 2018; 11: 297. DOI: 10.3389/fnmol.2018.00297 PMID: 30210290
15. Wang Y., An X., Zhang X., Liu J., Wang J., Yang Z. Lithium chloride ameliorates cognition dysfunction induced by sevoflurane anesthesia in rats. *FEBS Open Bio*. 2019; 10 (2): 251–258. DOI: 10.1002/2211-5463.12779. PMID: 31867790
16. Ren M., Senatorov V.V., Chen R.W., Chuang D.M. Postinsult treatment with lithium reduces brain damage and facilitates neurological recovery in a rat ischemia/reperfusion model. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2003; 100 (10): 6210–6215. DOI: 10.1073/pnas.0937423100 PMID: 12732732
17. Yan X.B., Wang S.S., Hou H.L., Ji R., Zhou J.N. Lithium improves the behavioral disorder in rats subjected to transient global cerebral ischemia. *Behav Brain Res*. 2007; 177 (2): 282–289. DOI: 10.1016/j.bbr.2006.11.021 PMID: 17210190
18. Liu Z., Li R., Jiang C., Zhao S., Li W., Tang X. The neuroprotective effect of lithium chloride on cognitive impairment through glycogen synthase kinase-3 $\beta$  inhibition in intracerebral hemorrhage rats. *Eur. J. Pharmacol.* 2018; 840: 50–59. DOI: 10.1016/j.ejphar.2018.10.019 PMID: 30336136
19. McKnight R.F., Adida M., Budge K., Stockton S., Goodwin G.M., Geddes J.R. Lithium toxicity profile: a systematic review and metaanalysis. *Lancet*. 2012; 379 (9817): 721–728. DOI: 10.1016/S0140-6736(11)61516-X PMID: 22265699
20. Longa E.Z., Weinstein P.R., Carlson S., Cummins R. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats. *Stroke*. 1989; 20 (1): 84–91. DOI: 10.1161/01.str.20.1.84 PMID: 2643202
21. Juhaszova M., Zorov D.B., Yaniv Y. Role of glycogen synthase kinase-3 $\beta$  in cardioprotection. *Circ Res*. 2009; 104 (11): 1240–1252. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.109.197996 PMID: 19498210
22. Ostrava I.V., Grebenchikov O.A., Golubeva N.V. Neuroprotective Effect of Lithium Chloride in Rat Model of Cardiac Arrest. *Obshchaya Reanimatologiya=General Reanimatology*. 2019; 15 (3): 73–82 [In Russ.]. DOI: 10.15360/1813-9779-2019-3-73-82
23. Santos C.O., Caeiro L., Ferro J.M., Figueira M.L. Mania and stroke: a systematic review. *Cerebrovasc Dis*. 2011; 32 (1): 11–21. DOI: 10.1159/000327032 PMID: 21576938
24. Lan C.C., Liu C.C., Lin C.H., Lan T.Y., McInnis M.G., Chan C.H., Lan T.H. A reduced risk of stroke with lithium exposure in bipolar disorder: a population-based retrospective cohort study. *Bipolar Disord*. 2015; 17: 705–714. DOI: 10.1111/bdi.12336 PMID: 26394555
25. Bosche B., Molcanyi M., Rej S., Doepfner T.R., Obermann M., Müller D.J., Das A., Hescheler J., Macdonald R.L., Noll T., Härtel F.V. Low-Dose Lithium Stabilizes Human Endothelial Barrier by Decreasing MLC Phosphorylation and Universally Augments Cholinergic Vasorelaxation Capacity in a Direct Manner. *Front Physiol*. 2016; 7: 593. DOI: 10.3389/fphys.2016.00593 PMID: 27999548
26. Mohammadianinejad S.E., Majdinasab N., Sajedi S.A., Abdollahi F., Moqaddam M., Sadr F. The effect of lithium in post-stroke motor recovery: A double-blind, placebo-controlled, randomized clinical trial. *Clin. Neuropharmacol*. 2014; 37: 73–78. DOI: 10.1097/WNF.000000000000028 PMID: 24824661
27. Sun Y.R., Herrmann N., Scott C.J.M., Black S.E., Swartz R.H., Hopyan J., Lanctôt K.L. Lithium carbonate in a poststroke population: exploratory analyses of neuroanatomical and cognitive outcomes. *Journal of Clinical Psychopharmacology*. 2019; 39 (1): 67–71. DOI: 10.1097/JCP.0000000000000981 PMID: 30566418
28. Grebenchikov O.A., Lobanov A.V., Shaykhutdinova E.R., Kuzovlev A.N., Ershov A.V., Likhvansev V.V. Cardioprotective effect of lithium chloride on a rat model of myocardial infarction. *Patologiya krovoobrashcheniya i kardiokhirurgiya*. 2019; 23 (2): 43–49. [In Russ.] DOI: 10.21688/1681-3472-2019-2-43-49
29. Cherpakov R.A., Grebenchikov O.A., Plotnikov E.JU., Likhvansev V.V. Comparison of pharmacological renal preconditioning with dalargin and lithium ions in the model of gentamycin-induced acute renal failure. *Anesthesiol. i reanimatol*. 2015; 60 (1): 58–63 [In Russ.]. PMID: 26027228

Поступила 2021.05.10

Received 2021.05.10

## Проявление отека-набухания сенсомоторной коры большого мозга крыс в зависимости от длительности окклюзии общих сонных артерий (морфометрическое исследование)

С. С. Степанов, Д. Б. Авдеев, В. А. Акулинин\*,  
А. Ю. Шоронова, Л. М. Макарьева, М. С. Коржук

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

## Relation between the Severity of the Sensorimotor Cortical Edema with Cell Swelling and the Duration of Common Carotid Artery Occlusion in Rats (Morphometric Study)

Sergey S. Stepanov, Dmitry B. Avdeev, Victor A. Akulinin\*,  
Anastasia Yu. Shoronova, Lyubov M. Makarieva, Mikhail S. Korzhuk

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

**Для цитирования:** С. С. Степанов, Д. Б. Авдеев, В. А. Акулинин, А. Ю. Шоронова, Л. М. Макарьева, М. С. Коржук. Проявление отека-набухания сенсомоторной коры большого мозга крыс в зависимости от длительности окклюзии общих сонных артерий (морфометрическое исследование). *Общая реаниматология*. 2021; 17 (5): 111–128. <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2021-5-111-128> [На русск. и англ.]

**For citation:** Sergey S. Stepanov, Dmitry B. Avdeev, Victor A. Akulinin, Anastasia Yu. Shoronova, Lyubov M. Makarieva, Mikhail S. Korzhuk. Relation between the severity of the sensorimotor cortical edema with cell swelling and the duration of common carotid artery occlusion in rats (morphometric study). *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2021; 17 (5): 111–128. <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2021-5-111-128> [In Russ. and Engl.]

### Резюме

**Цель исследования.** Изучить структурные изменения и дать морфометрическую характеристику проявлениям отека-набухания сенсомоторной коры (СМК) большого мозга половозрелых белых крыс после окклюзии общих сонных артерий различной продолжительности.

**Методы исследования.** Острую ишемию моделировали на белых взрослых крысах Wistar путем 20, 30 и 40-мин окклюзии общих сонных артерий (ООСА). Использовали гистологические (окраска гематоксилин-эозином и по Нисслю), иммуногистохимические (NSE, MAP-2, GFAP) и морфометрические методы исследования. Морфометрический анализ осуществляли на препаратах, окрашенных гематоксилин-эозином, с помощью плагинов программы ImageJ 1.53 (Find Maxima, Find Foci). Проверку статистических гипотез (непараметрические критерии) проводили в программе Statistica 8.0.

**Результаты.** В СМК головного мозга белых крыс после 20, 30 и 40-мин ООСА появлялись признаки цитотоксического отека-набухания, развивались очаговые деструктивные и адаптивные изменения нейронов и астроглии. Проявления отека-набухания сохранялись на протяжении всего периода наблюдения (7 сут). Статистически значимо увеличивалась относительная площадь, количество зон отека-набухания и степень их гидратации (яркость пикселей). Через 1 и 3 сут после ООСА часть отростков астроцитов СМК разрушалась. В большей степени страдали субпиальная и периваскулярные зоны. После односторонней 30 мин ООСА развивались слабые и умеренные, а после двусторонней 40 мин ООСА — умеренные и выраженные мелкоочаговые структурно-функциональные изменения СМК с появлением больших зон просветления «пористого» нейропиля, выраженного периваскулярного и перинейронального отека отростков астроцитов. Последнее сочеталось с умеренной редукцией общей численной плотности нейронов.

**Заключение.** После ООСА в СМК на фоне дистрофических и некробиотических изменений пирамидных нейронов и активации нейроглиальных клеток появлялись признаки отека-набухания. В большей степени это проявлялось через 3 сут после двусторонней 40 мин окклюзии.

**Ключевые слова:** отек-набухание; острая ишемия; неокортекс; нейроны; астроглия; иммуногистохимия; морфометрия; крысы Wistar

Адрес для корреспонденции:

\*Виктор Александрович Акулинин  
E-mail: akulinin@omsk-osma.ru

Correspondence to:

\*Victor A. Akulinin  
E-mail: akulinin@omsk-osma.ru

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Благодарность.** Данная работа выполнена при поддержке ФГБОУ ВО Омского государственного медицинского университета в рамках подготовки и аттестации научно-педагогических и научных кадров.

## Summary

**The aim of the study.** To examine the changes in structure and morphometry in sensorimotor cortical edema with cell swelling in mature white rats after common carotid artery occlusion of various durations.

**Material and methods.** Acute ischemia was modeled on white adult Wistar rats by 20-, 30- and 40-min occlusion of the common carotid arteries (CCA). Histological (hematoxylin-eosin and Nissl staining), immunohistochemical (NSE, MAP-2, GFAP) and morphometric methods were used. Morphometry was assessed on hematoxylin and eosin-stained specimens using ImageJ 1.53 plug-ins (Find Maxima, Find Foci). Statistical hypothesis testing (nonparametric criteria) was performed using Statistica 8.0 software.

**Results.** In the sensorimotor cortex (SMC) of white rats after 20, 30 and 40 minutes of CCA occlusion the signs of cytotoxic brain edema appeared, focal destructive and adaptive changes of neurons and astroglia evolved. The edema persisted throughout the observation period (7 days). The increase in the relative area, the number of cell swelling zones and their hydration (pixel brightness) was significant. On days 1 and 3 after CCA occlusion, some of the SMC astrocyte processes underwent destruction. Subpial and perivascular zones suffered to a greater extent. Mild and moderate (after unilateral 30-min CCA occlusion) to moderate and severe (after bilateral 40-min CCA occlusion) scattered structural and functional changes of the SMC with large areas of clearing in the «porous» neuropil, severe perivascular and perineuronal edema of the astrocyte processes developed. The latter was associated with a moderate reduction of the total neuronal density.

**Conclusion.** After occlusion of CCA, signs of edema with cellular swelling appeared in the SMC amid dystrophic and necrotic pyramidal neurons and activated neuroglial cells. To a greater extent, the signs of brain swelling were evident three days after bilateral 40-min occlusion of CCA.

**Keywords:** brain edema; acute ischemia; neocortex; neurons; astroglia; immunohistochemistry; morphometry, Wistar rats

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

**Acknowledgements.** This research was supported by the Omsk State Medical University as part of the training and certification of the academic staff program.

DOI:10.15360/1813-9779-2021-5-111-128

## Введение

Цитотоксический отек-набухание головного мозга возникает при отравлении или гипоксии в результате нарушения клеточного метаболизма, удержания в клетках натрия и воды [1–4]. В большинстве случаев эти процессы обратимы. Связанный с гипоксией цитотоксический отек мозга наблюдается, например, при локальной и тотальной острой ишемии, черепно-мозговой травме [4]. Патогенетические механизмы и структурные проявления отека-набухания при ишемии хорошо изучены. Существует тенденция рассматривать отек и набухание как взаимосвязанные проявления дисфункции водно-электролитного обмена, заканчивающиеся либо необратимой гидропической дистрофией, либо восстановлением водно-ионного баланса и гидратации клеточных белков. Тем не менее, отек — это, прежде всего, скопление жидкости в межклеточных пространствах мозга (свободная жидкость). Набухание считается самостоятельным процессом, имеющим в основе прочное связывание интраструктуральной воды с внутриклеточными биocolлоидами [4–8].

Принципиальным механизмом цитотоксического отека-набухания является распро-

## Introduction

Cytotoxic cerebral edema occurs in poisoning or hypoxia as a result of cellular metabolic disorders and sodium and water retention in cells [1–4]. In most cases these processes are reversible. Cytotoxic brain edema associated with hypoxia occurs, for example, in local and total acute ischemia, traumatic brain injury [4]. The pathogenetic mechanisms and structural manifestations of cerebral edema with swelling in ischemia are well studied. There is a tendency to consider edema and swelling as interrelated manifestations of water-electrolyte imbalance, ending either in irreversible hydroptic dystrophy or in restored water-ion balance and hydration of cellular proteins. However, edema is primarily an accumulation of fluid in the intercellular spaces of the brain (free fluid). Swelling is considered to be an independent process with underlying strong binding of the fluid contained in the cellular structures to intracellular biocolloids [4–8].

The main mechanism of cytotoxic edema is spreading depolarization (SD), which is a wave of electrophysiological hyperactivity associated with excitotoxicity of glutamate. Abnormally prolonged SD is a prerequisite for the development of acute cortical lesions. At the same time, SD and cytotoxic edema with swelling largely coincide in terms of lo-

страняющаяся деполяризация (РД) — волна электрофизиологической гиперактивности, связанная с эксцитотоксичностью глутамата. Патологически длительные РД являются необходимым механизмом развития острого поражения коры головного мозга. При этом РД и цитотоксический отек-набухание в значительной степени совпадают по локализации и времени регистрации. РД/отек — это изначально обратимое токсическое состояние, которое, однако, при превышении критических значений приводит к гибели клеток (нейронов, астроцитов, олигодендроцитов). Наиболее распространенной причиной РД/отека является ишемический инсульт. Кратковременные эпизоды РД/отека рассматриваются как относительно безвредные события и регистрируются в мозге контрольных животных. [9, 10].

Острое набухание нейронов характеризуется увеличением его размеров, растворением нуклеопротеиновых комплексов (хроматофильное вещество Ниссля), гиперхромией и смещением ядра нейрона. Дальнейшие гидropические изменения нейронов сопровождаются появлением светлых пространств или вакуолей, прозрачной цитоплазмы. Необратимая гидropическая дистрофия сопровождается сохранением ядра, но полным разрушением цитоплазматических оргanelл [11, 12].

Функционирование, восстановление и гибель нейронов происходит в едином комплексе с астроцитами и микрососудами [13–16]. После острой ишемии дальнейшая судьба нейроглиального комплекса окончательно определяется в течение 24–48 ч. В случае неблагоприятного исхода деструкции подвергаются некробиотически измененные нейроны и связанные с ними отростки астроцитов [12]. Ключевую роль в развитии отека-набухания играет аквапорин-4 [4, 8].

В течение первых 6 ч после начала инсульта повреждение ишемических клеток незаметно и его трудно распознать под микроскопом. Критический порог мозгового кровотока для развития необратимого повреждения составляет ~15 мл/100 г×мин. Ниже этого порога ишемизированная ткань мозга поглощает воду в случае любого остаточного капиллярного потока (ионный отек). Далее развивается типичный цитотоксический отек-набухание [17]. Развитие отека-набухания сопровождается линейным увеличением в тканях содержания воды и может быть зафиксировано физическими (КТБ МРТ), гистологическими и иммуногистохимическими методами изучения нервной системы [17, 18].

Гибель нейронов приводит к высвобождению таких факторов, как связанные с повреждением молекулярные паттерны (DAMPs), которые вызывают воспаление в поврежден-

calization and time of registration. SD/edema is initially a reversible toxic condition, which, however, leads to death of cells (neurons, astrocytes, oligodendrocytes) when exceeding critical values. The most common cause of SD/edema is ischemic stroke. Brief episodes of SD/edema are considered to be relatively harmless and can be recorded in the brains of control animals [9, 10].

Acute neuronal swelling is characterized by an increase in the cellular size, dissolution of nucleoprotein complexes (Nissl chromatophilic substance), hyperchromia, and displacement of the neuronal nucleus. Further hydropic neuronal changes are associated with clearing areas or vacuoles as well as transparent cytoplasm. Irreversible hydropic dystrophy associates with preserved nucleus but completely destructed cytoplasmic organelles [11, 12].

Neuronal functioning, recovery and death occur together with astrocytes and microvessels [13–16]. After acute ischemia, the further fate of neuroglial complex is ultimately determined within 24–48 h. In case of unfavorable outcome, necrobiotic neurons and associated astrocyte processes undergo destruction [12]. Aquaporin-4 plays a key role in the development of this edema-associated swelling [4, 8].

During the first 6 h after stroke onset, ischemic cell damage is subtle and difficult to recognize under a microscope. The critical threshold of cerebral blood flow for the development of irreversible damage is about 15 ml/100 g×min. Below this threshold, ischemic brain tissue absorbs water if any residual capillary flow occurs (ionic edema). Then a typical cytotoxic cerebral edema with swelling develops [17]. The latter is accompanied by a linear increase in tissue fluid content and can be recorded by imaging (CT or MRI), histological and immunohistochemical methods [17, 18].

Neuronal death also leads to the release of factors such as damage-associated molecular patterns (DAMPs), which initiate inflammation in the damaged area of the brain. This exacerbates damage to the blood-brain barrier, microvascular failure, brain edema, oxidative stress, and directly induces neuronal death. The developing global brain inflammation can trigger secondary delayed pathological changes and affect long-term neurological outcome. Thus, the development of brain edema with cell swelling correlates with global brain inflammation and, consequently, with its microglial system [19].

However, it is unknown how the development of brain edema is affected by the duration of the mild ischemia period. Also, it is still unclear which changes in the upper cortex initiate neurodegenerative processes of the underlying neurons and which are predominantly protective through reduced ascending nonspecific activation.

Thus, the hypothesis of the role of brain edema with cell swelling in nerve tissue protection

ной области мозга. Это усугубляет повреждение гематоэнцефалического барьера, микросудистую недостаточность, отек мозга, окислительный стресс и непосредственно вызывает гибель нейронов. Развивающееся глобальное воспаление мозга может формировать вторичные отсроченные патологические изменения и влиять на долгосрочный неврологический исход. Таким образом, развитие отека-набухания коррелирует с глобальным воспалением головного мозга, а, следовательно, с его микроглиоцитарной системой [19].

Однако неизвестно, как на развитие отека-набухания влияет продолжительность периода слабой ишемии и при каких изменениях верхних отделов коры начинаются нейродегенеративные процессы нижележащих нейронов, а при каких происходит преимущественно защита в результате уменьшения восходящей неспецифической активации.

Таким образом, гипотеза о роли отека-набухания в защите нервной ткани имеет право на существование. Поэтому необходимы дальнейшие исследования в этом направлении. В настоящей работе проведено сравнительное гистологическое и морфометрическое исследование проявлений отека-набухания в СМК головного мозга половозрелых белых крыс в норме и после 20, 30 и 40 мин окклюзии общих сонных артерий.

## Материал и методы

Работа выполнена в ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет», одобрена этическими комитетами вуза (протокол № 83 от 14 октября 2016 г.; протокол № 107 от 2 октября 2018 г.). Использовали аутбредных половозрелых крыс стока Wistar (самцы масса 270–350 гр.). Животных содержали в стандартных лабораторных условиях, эксперимент проводили в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к приказу Министерства здравоохранения СССР от 12.08.77 №755) и с рекомендациями Международного комитета по науке о лабораторных животных, поддержанных ВОЗ, директивой Европейского Парламента № 2010/63/EU от 22.09.10 «О защите животных, используемых для научных целей».

Острую неполную ишемию головного мозга моделировали путем 20 (группа I,  $n=24$ ), 40 мин (группа III,  $n=24$ ) двусторонней и 30 мин (группа II,  $n=24$ ) односторонней окклюзии общих сонных артерий (ООСА) без гипотонии. Эксперимент проводили под наркозом: Zoletil 100 (5–7 единиц). Контролем служили интактные крысы ( $n=6$ ). Через 1, 3 и 7 сут после ООСА ( $n=54$ , по 6 крыс на срок) мозг фиксировали перфузией последовательным введением 100–125 мл раствора 0,9% NaCl и Фрагмина (5000 единиц) и 30 мл 4% раствора параформальдегида на фосфатном буфере (pH 7,2–7,4). Полученный материал с помощью автомата «STP 120» заключали в го-

may be valid. Therefore, further research in this direction is necessary. In this study a comparative histological and morphometric examination of brain edema manifestations in the SMC of mature white rats before and after 20, 30 and 40 min occlusion of the common carotid arteries was performed.

## Materials and Methods

The study was performed at the Omsk State Medical University; it had been approved by the ethical committees of the university (Protocol 83, October 14, 2016; Protocol 107, October 2, 2018). Outbred sexually mature Wistar rats (males weighing 270–350 g) were used. Animals were kept in standard laboratory conditions, the experiment was carried out according to the «Rules of work with experimental animals» (Appendix to the order of the Ministry of Health of the USSR from 12.08.77 No.755) and with the International Council for Laboratory Animal Science guidelines, supported by WHO, the directive of the European Parliament No. 2010/63/EU from 22.09.10 «On protection of animals used for scientific purposes».

Acute incomplete cerebral ischemia was simulated by 20 min (group 1,  $n=24$ ), 40 min (group 3,  $n=24$ ) bilateral and 30 min (group 2,  $n=24$ ) unilateral common carotid artery (CCA) occlusion without hypotension. The experiment was performed under anesthesia by Zoletil 100 (tiletamine-zolazepam) (5–7 units). Intact rats ( $n=6$ ) served as a control. On days 1, 3, and 7 after CCA occlusion ( $n=54$ , 6 rats per time period) the brains were perfusion-fixed by sequential injections of 100–125 ml of 0.9% NaCl solution and sodium dalteparin (5000 IU) and 30 ml of 4% paraformaldehyde solution on phosphate buffer (pH 7.2–7.4). The obtained material was embedded in homogenized paraffin (HISTOMIX®) using an STP 120 machine. Serial frontal sections (4  $\mu$ m thickness) were prepared using an HM 450 microtome (Thermo) at the level of the sensorimotor cortex (SMC) [20]. Manipulations related to material sampling were performed under Zoletil 100 anesthesia.

Cell identification (neuron/glia) of SMC was performed on Nissl and hematoxylin and eosin stained preparations, as well as using immunohistochemical typing of NSE, MAP-2 (neurons), and GFAP (astrocytes). The cytoskeleton of neurons (bodies and processes) was studied using the MAP-2 reaction, the cytoskeleton of astrocytes by the GFAP reaction. NSE, MAP-2, and GFAP reactions were used only for typing and localization of the corresponding structures by specific proteins. The total neuronal and glial cell densities (counts per 1 mm<sup>2</sup>) in layers III and V of the SMC were estimated on Nissl-stained preparations; only sections with a visible neuronal nucleus were included to ensure consistency.

Poly- and monoclonal antibodies were used for immunohistochemical study. They included NSE (RAA537Ra01, rabbit polyclonal antibodies to rat antigen with 5–20  $\mu$ g/ml dilution, Cloud-Clone Corp.), MAP-2 (ab32454, rabbit polyclonal antibody, with 1  $\mu$ g/ml dilution, Abcam, USA), and GFAP (PA0026, murine monoclonal antibody, GA5 clone, ready-to-use, Bond Ready-to-Use Primary Antibody; Leica Biosystems Newcastle Ltd, UK).

The immunohistochemical reactions were performed on sections placed on polylysine-coated slides. After reaction with primary antibodies, the sections were incubated with appropriate secondary antibodies, DAB

могенизированный парафин (HISTOMIX®). Серийные фронтальные срезы (толщина 4 мкм) готовили с помощью микротомы HM 450 (Thermo) на уровне сенсомоторной коры (СМК) [20]. Манипуляции, связанные с забором материала, проводили под наркозом Zoletil 100.

Идентификацию клеток (нейрон/глия) СМК проводили на препаратах, окрашенных гематоксилином и эозином, по Нисслию, а также при иммуногистохимическом типировании NSE, MAP-2 (нейроны) и GFAP (астроциты). Цитоскелет нейронов (тела и отростки) изучали с помощью реакции на MAP-2, цитоскелет астроцитов — с помощью реакции на GFAP. Реакции NSE, MAP-2 и GFAP использовали только для типирования и определения локализации соответствующих структур по специфическим белкам. Общую численную плотность нейронов и глиальных клеток (пересчет на 1 мм<sup>2</sup>) в слоях III и V СМК подсчитывали на препаратах, окрашенных по Нисслию; для стандартизации учитывали только срезы нейронов с видимым ядрышком.

Для иммуногистохимического исследования использовали поли- и моноклональные антитела. NSE (PAA537Ra01) — кроличьи поликлональные антитела к крысиному антигену; разведение 5–20 мкг/мл (Cloud-Clone Corp.). MAP-2 (ab32454) — кроличьи поликлональные антитела, разведение 1 мкг/мл (Abcam, США). GFAP (PA0026) — мышьиные моноклональные антитела, клон GA5, готовые к применению (Bond Ready-to-Use Primary Antibody; Leica Biosystems Newcastle Ltd, Великобритания).

Иммуногистохимическую реакцию проводили на срезах, помещенных на полилизиновые предметные стекла. После реакции с первичными антителами срезы инкубировали с соответствующими вторичными антителами, хромогеном DAB (3,3'-диаминобензидин), докрашивали гематоксилином, заключали в полистирол. Для визуализации использовали мультимерный набор Novolink™ (DAB) Polymer Detection System (Leica Biosystems Newcastle Ltd, Великобритания).

Препараты фотографировали на микроскопе Leica DM 1000 (объектив 100, камера GXCAM-DM800 Unique Wrap-Around 8MP AUTOFOCUS USB, pixel size 1,4×1,4 μm), изображение сохраняли в файлах с расширением tiff (2592×1944 пикселей). При окраске гематоксилин-эозином для изучения зон (пиков) максимальной яркости (ЗМЯ) на каждый срок отбирали по 30 случайно выбранных полей зрения (каждое 31400 мкм<sup>2</sup>) СМК. На этих полях зрения выделяли области интереса (ROI) — участки молекулярного слоя размером 20×20 мкм, формировали стеки (100–120 ROI), рассчитывали среднее значение для каждого поля зрения и животного. Далее формировали и сравнивали вариационные ряды по 30 значений на срок. Дальнейшее морфометрическое исследование осуществляли с использованием программы ImageJ 1.52 s.

Для морфометрического изучения изменений зон максимальной яркости (предположительно проявления отека-набухания) на цветных изображениях использовали плагин-фильтр «Find Maxima» M.Schmid из программы ImageJ 1.53c (<https://imagej.nih.gov/ij/docs/menus/process.html#find-maxima>). Предварительно зона интереса (ROI, только

(3,3'-diaminobenzidine) chromogen, stained with hematoxylin, and embedded in polystyrene. A Novolink™ (DAB) Polymer Detection System (Leica Biosystems Newcastle Ltd., United Kingdom) universal kit was used for imaging.

The preparations were photographed using a Leica DM 1000 microscope (×100 objective, GXCAM-DM800 Unique Wrap-Around 8MP AUTOFOCUS USB camera, pixel size 1.4×1.4 μm), and the images were saved as tiff files (2592×1944 pixels). When stained with hematoxylin-eosin, 30 randomly selected visual fields (each 31400 μm<sup>2</sup>) of SMC were selected for each studied time period to evaluate the maximal brightness zones (MBZ). The areas of the molecular layer sized 2020 μm (regions of interest, ROIs) were selected in these visual fields, stacks (100–120 ROIs each) were formed, and the average values for each visual field and the animal were calculated. Next, ordered series of 30 values per time period were generated and compared. Further morphometric study was performed using ImageJ 1.52c software.

For morphometric study of changes in maximal brightness zones (presumably representing edema with cell swelling) on color images we used plugin-filter «Find Maxima» M.Schmid from the ImageJ 1.53c software (<https://imagej.nih.gov/ij/docs/menus/process.html#find-maxima>). The zone of interest (ROI, neuropil only) was preliminarily processed using the algorithm of the «Morphological Filters» plugin from the «MorphoLibJ» package (Radius 1 pix). This allowed morphological segmentation of the study object and consistency of the images. The relative area (S, %) and numerical density (N, per 400 μm<sup>2</sup>) of MBZ were determined on obtained image masks («Analyze Particles»).

The maximal brightness zones in the neuropil of SMC had different shapes, sizes, and intensity levels (see Fig. 6). Individual assessment of the maximum brightest and largest peaks in the visual field of the neuropil of the SMC molecular layer in groups 1, 2, and 3 was performed using the Find Foci plugin (GDSC ImageJ software package for microscopy image analysis). It allows to classify all the MBZs by size and intensity by calculating, in particular, the «total pixel intensity» which is the MBZ size in pixels multiplied by pixel brightness [21].

According to the literature, 6–8 animals per group, 5–6 serial sections, and 5–10 randomized SMC visual fields (areas of interest) per each section are sufficient to obtain reliable results in a morphological study [22, 23]. In this study, we compared 30 randomized SMC visual fields per time period, which is sufficient to obtain reliable results.

Statistical hypothesis testing was performed using nonparametric criteria (Mann–Whitney *U*-test, ANOVA Kruskal–Wallis test) and correlation analysis (based on  $\chi^2$  test) using Statistica 8.0 software (StatSoft). Quantitative data in the study were presented as median (Me, 50% quartile, Q2) and interquartile range (Q1–Q3, or 25–75% quartiles), or percentage (%). Multiple comparisons were performed using Kruskal–Wallis ANOVA [24] test.

## Results and Discussion

No structural signs of cytotoxic edema were found in the SMC of the control group animals. Uniform staining of neuropil with eosin prevailed (Fig. 1, *a*) indicating identical fluid content in the

нейропил) подвергалась обработке алгоритмом плагина «Morphological Filters» из пакета «MorphoLib» (Radius 1 pix). Это позволяло провести морфологическую сегментацию объекта изучения и стандартизовать изображения. На полученных масках изображений определяли («Analyze Particles») относительную площадь (S, %) и численную плотность (N, на 400 мкм<sup>2</sup>) ЗМЯ.

ЗМЯ в нейропиле СМК имели разные формы, размеры и степень яркости (см. рис. 6). Индивидуальную оценку максимально ярких и крупных по площади пиков зрения нейропиля молекулярного слоя СМК в группах I, II, III проводили с помощью плагина Find Foci (набор программ GDSC ImageJ анализа изображений для микроскопии). Он позволяет распределить все ЗМЯ по размерам и степени яркости путем вычисления, в частности, интегрального показателя «общая интенсивность пикселей» — произведение размера ЗМЯ в пикселях на яркость пикселей [21].

По литературным данным, для получения значимых результатов в ходе морфологического исследования достаточно 6–8 животных в группе, 5–6 серийных срезов и 5–10 случайных полей зрения СМК (зоны интереса) на каждом срезе [22, 23]. В настоящем исследовании мы сравнивали по 30 рандомизированных полей зрения СМК на срок, что достаточно для получения значимых результатов.

Проверку статистических гипотез осуществляли непараметрическими критериями (Mann–Whitney *U*-test, ANOVA Kruskal–Wallis) и корреспондентского анализа (соответствий, в основе критерий  $\chi^2$ ) с помощью программы Statistica 8.0 (StatSoft). Количественные данные в исследовании представили как медиану (Me — 50% квартиль, Q2) и интерквартильный разброс (Q1–Q3 — 25–75% квартили), процентную долю (%). Проблему множественного сравнения решали путем использования ANOVA Kruskal–Wallis [24].

## Результаты и обсуждение

В СМК животных контрольной группы не выявили структурных проявлений цитотоксического отека-набухания. Преобладало равномерное окрашивание нейропиля эозином (рис. 1, *a*). Это свидетельствовало о том, что в биокolloидах цитоплазмы его составляющих (аксоны, дендриты, синапсы, отростки астроцитов) было примерно одинаковое содержание воды.

Через 1 и 3 сут после ООСА в молекулярном слое СМК происходило формирование «пористого» нейропиля — набухание микроглии и периваскулярной отекаемости сосудов. В III–V слоях наблюдали нейроны с потемневшей цитоплазмой и пикнотические (красные) нейроны с умеренным перичеселлюлярным отеком, большое количество глиальных клеток (рис. 1, *b, d, e*). Однако в верхнем этаже СМК появлялись GFAP-негативные локальные ишемические зоны или с очень тонкими, прерывистыми отростками астроцитов (рис. 1, *c*). Деструктивные изменения цитоскелета астроцитов преобладали у животных группы III (после 40 мин

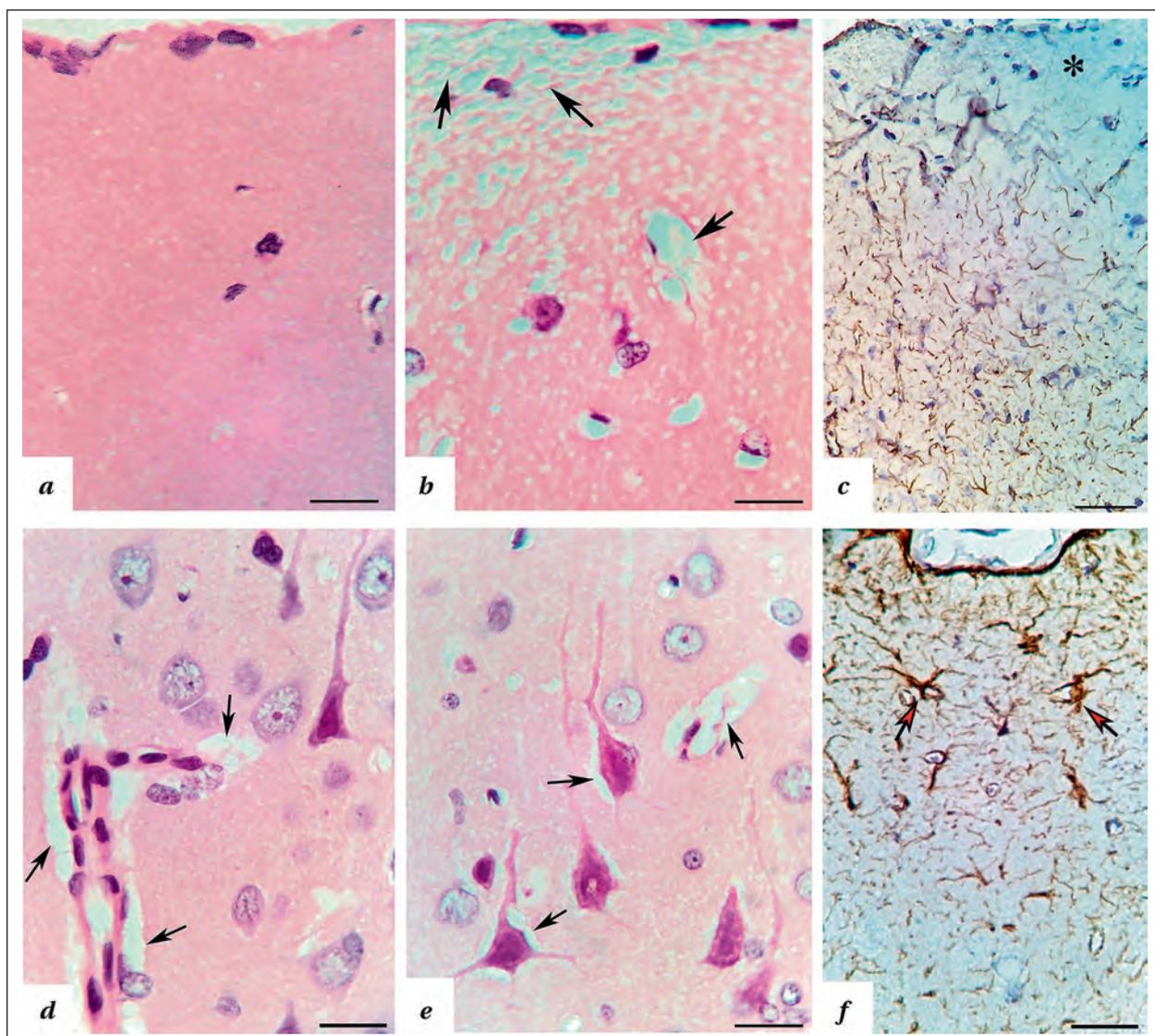
cytoplasmic biocolloids of its components (axons, dendrites, synapses, astrocyte processes).

On days 1 and 3 after CCA occlusion, the «porous» neuropil due to swelling of microglia and perivascular edema of vessels occurred in the molecular layer of SMC. Neurons with dark cytoplasm and shrinking (red) neurons with moderate pericellular edema and numerous glial cells were observed in layers III–V (Fig. 1, *b, d, e*). However, GFAP-negative local ischemic zones or areas with very thin intermittent astrocytic processes appeared in the upper SMC level (Fig. 1, *c*). Destructive changes in the astrocytic cytoskeleton predominated in group 3 animals (after 40 min of occlusion). On day 7 after CCA occlusion, GFAP-negative zones in SMC were barely visible; regeneration and hypertrophy of astrocytic processes were observed indicating moderate reactive astrogliosis (Fig. 1, *f*). Thus, on day 3 following 40 min CCA occlusion, the neuroglial index of the SMC increased from 1.62 (1.53–1.81) to 2.72 (2.48–3.10) (median; Mann–Whitney *U*-test;  $P=0.001$ ).

Hydropic alterations and lucent structures (astrocyte processes, terminals, distal dendrites) predominated in the neuropil, but neurons with distinct perikaryon vacuolization were also encountered (Fig. 2). Dendrite and neuropil vacuolization was easily verified by immunohistochemical typing of NSE, MAP-2, and GFAP (Fig. 3, *a, b, c*). Astrocyte bodies (8–10  $\mu\text{m}$ ) and their processes were displayed as a network filling the space between the SMC perikaryons (Fig. 3, *c*). Some of the processes showed signs of swelling (Fig. 2).

Compared to the control after CCA occlusion, all experimental groups revealed a significant decrease in the total numerical density of neurons in layers III and V of the SMC. Thus, in group 3 on day 7 post occlusion, this parameter in layer III decreased by 26.4% ( $P=0.001$ ), with a normal value of 442 (352–485), and in layer V by 18.5% ( $P=0.01$ ), with a normal value of 290 (244–331) per 1 mm<sup>2</sup> (Mann–Whitney *U*-test). At the same time, multiple comparisons showed intergroup differences ( $H=9.7$ ;  $P=0.02$ ; Kruskal–Wallis one-way analysis of variance). Compared to group 3, the smallest reduction in the total numerical density of neurons was noted in animals with unilateral CCA occlusion (group 2): in layer III it was 16.5% ( $P=0.001$ ), while in layer V it was 9.2% ( $P=0.01$ ; Mann–Whitney *U*-test). However, no differences were found between groups 1 and 3 for this parameter ( $P>0.05$ ; Mann–Whitney *U*-test). Consequently, on day 7 after reperfusion, bilateral CCA occlusion resulted in more severe impact on the population of pyramidal neurons in layers III and V of the SMC.

Hence, the histological and immunohistochemical alterations found in the SMC were indicative of varying impact of 20, 30 and 40 min CCA occlusion on SMC neurons. Similar diffuse and focal



**Рис. 1.** Фрагменты СМК головного мозга белых крыс в норме (*a*) и постинсультном периоде (группа III; *b, c, d, e, f*).  
**Fig. 1.** Fragments of white rat brain SMC in normal (*a*) and postischemic period (group 3; *b, c, d, e, f*).

**Note.** No vacuolization of the molecular layer neuropil in normal SMC (*a*); vacuolization of the neuropil (arrows), perivascular and perikaryonic edema of astrocytic processes (arrows), hyperchromia and shrinkage of perikarya (red neurons); large number of glial cells (*b, d, e*); area of destruction (\*) of astrocytic processes (*c*, day 1); astrocytic hyperplasia (*f*, day 7, arrows). Hematoxylin-eosin staining (*a, b, d, e*), GFAP immunohistochemical typing (*c, f*).  $\times 100$  magnification;  $20\ \mu\text{m}$  scale (*a, b, d-f*);  $\times 40$  magnification;  $50\ \mu\text{m}$  scale (*c*).

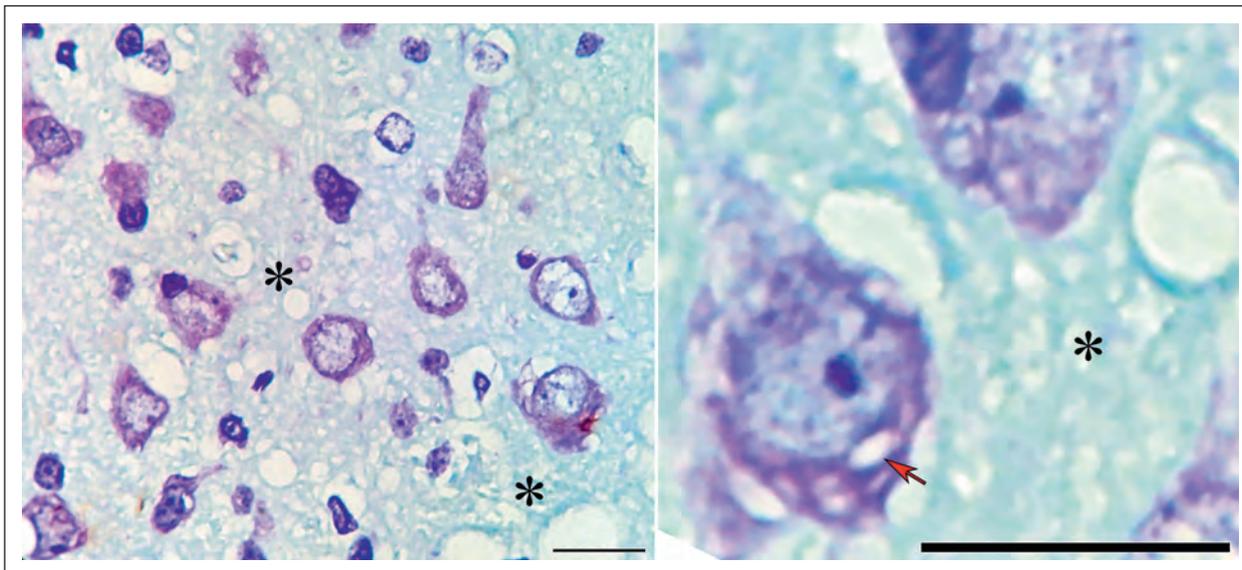
**Примечание.** Отсутствие вакуолизации нейропиля молекулярного слоя в норме (*a*); вакуолизация нейропиля (стрелки), периваскулярный и перикариональный отек астроцитарных отростков (стрелки), гиперхромия и сморщивания перикарионов (красные нейроны); большое количество глиальных клеток (*b, d, e*); зона деструкции (\*) отростков астроцитов (*c*, 1 сут); гиперплазия астроцитов (*f*, 7 сут, стрелки). Окраска гематоксилин-эозином (*a, b, d, e*), иммуногистохимическое типирование GFAP (*c, f*). Объектив  $\times 100$ ; шкала —  $20\ \mu\text{м}$  (*a, b, d-f*); объектив  $\times 40$ ; шкала —  $50\ \mu\text{м}$  (*c*).

окклюзии). Через 7 сут после ООСА GFAP-негативные зоны в СМК практически не встречались, происходило восстановление и гипертрофия астроцитарных отростков — умеренные проявления реактивного астроглиоза (рис. 1, *f*). Так, через 3 сут после 40 мин ООСА нейроглиальный индекс СМК увеличивался от 1,62 (1,53–1,81) до 2,72 (2,48–3,10) (медиана; Mann–Whitney *U*-test;  $p=0,001$ ).

Гидропические изменения, с просветлением структур, преобладали в нейропили (отростки астроцитов, терминали, дистальные денд-

changes have been described in superficial SMC damage by other authors [25] and previously by the authors of this paper [14].

To compare the severity of SMC edema in the studied groups we used the analysis of color images of neuropil areas of the same size ( $20\times 20$  microns) without microvessels by assessing their pixel properties (brightness, number). Bright pixels (against the darker background) corresponded to the areas of SMC with high water content and were considered the maximum brightness zones. We found that on day 1 after CCA occlusion in all groups, the rel-



**Рис. 2.** Фрагменты СМК головного мозга белых крыс в постшемическом периоде (группа III, 3 сут).

**Fig. 2.** Fragments of the brain SMC of white rats in the postischemic period (group 3, day 3).

**Note.** Vacuolization of the neuropil (\*) and perikaryon (arrow), edema of perikaryon of astrocytic processes. Nissl staining.  $\times 100$  magnification; 20  $\mu\text{m}$  scale.

**Примечание.** Вакуолизация нейропиля (\*) и перикариона (стрелка), перикариональный отек астроцитарных отростков. Окраска по Ниссли. Объектив  $\times 100$ ; шкала — 20 мкм.

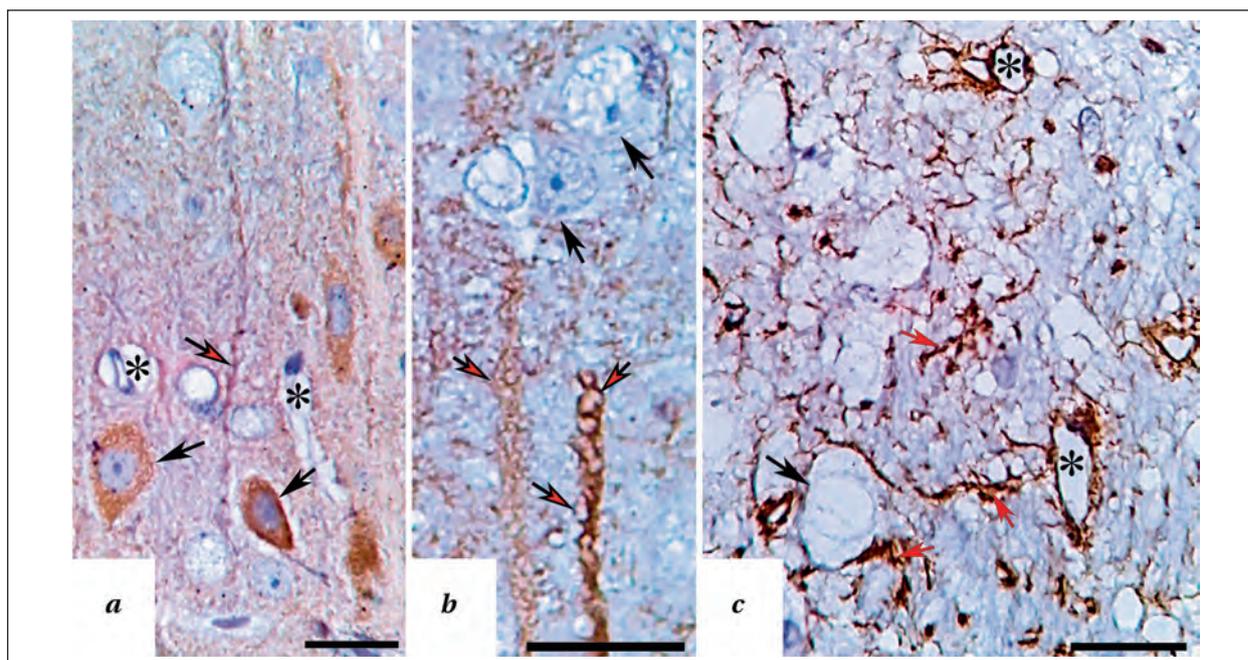
риты), но встречались нейроны с явными признаками вакуолизации перикариона (рис. 2). Вакуолизация дендритов и нейропиля хорошо верифицировалась при иммуногистохимическом типировании NSE, MAP-2 и GFAP (рис. 3, a, b, c). Тела астроцитов (8–10 мкм) и их отростки были представлены в виде сети, которая заполняла пространство между перикарионами СМК (рис. 3, c). Часть отростков имела признаки набухания (рис. 2).

В сравнении с контролем после ООСА во всех экспериментальных группах выявили статистически значимое уменьшение общей численной плотности нейронов слоя III и V СМК. Так, в группе III через 7 сут наблюдения в слоя III этот показатель уменьшался на 26,4% ( $p=0,001$ ), в норме — 442 (352–485), а слое V — на 18,5% ( $p=0,01$ ), в норме 290 (244–331) на 1 мм<sup>2</sup> (Mann–Whitney *U*-test). При этом множественное сравнение показало наличие межгрупповых различий ( $H=9,7$ ;  $p=0,02$ ; Kruskal–Wallis one-way analysis of variance). В сравнении с группой III наименьшую редукцию общей численной плотности нейронов отметили у животных с односторонней ООСА (группа II): в слое III — на 16,5% ( $p=0,001$ ), V — на 9,2% ( $p=0,01$ ; Mann–Whitney *U*-test). Однако, различий между группами I и III по этому показателю не выявили ( $p>0,05$ ; Mann–Whitney *U*-test). Следовательно, через 7 сут после реперфузии двусторонняя ООСА имела более тяжелые последствия для популяции пирамидных нейронов слоев III и V СМК.

ative area of maximum brightness zones (median) was 2–2.5 times higher than the control values. Multivariate testing for equality of medians of this parameter revealed significant differences between the samples of groups 1–3 on day 1 ( $H=37.8$ ;  $P=0.0001$ ), day 3 ( $H=26.6$ ;  $P=0.0001$ ), and day 7 ( $H=8.3$ ;  $P=0.02$ ; Kruskal–Wallis ANOVA) post occlusion. The highest values of the parameter were observed on days 1 and 3 in group 3 (Fig. 4).

In addition, the groups differed in the frequency distribution of visual fields with the same relative volume. Most visual fields with high values of the relative area of maximum brightness zone were detected on day 1 in group 3 (Fig. 5, Table). In this group, the «porous» areas in the upper molecular layer of SMC were 1.5–2.5 times more frequent ( $\chi^2=10.5$ ;  $P=0.01$ ) (Fig. 1, b).

A comparative analysis of the total numerical density of MBZ in the neuropil of the SMC molecular layer in the controls and post CCA occlusion showed a significant increase in the swollen components of the neuropil (Fig. 6). Multivariate testing of the equality of the medians of this parameter revealed significant differences between the samples of groups 1–3 on days 1 ( $H=9.4$ ;  $P=0.01$ ), 3 ( $H=69.6$ ;  $P=0.0001$ ), and 7 ( $H=54.5$ ;  $P=0.0001$ ; Kruskal–Wallis ANOVA). At the same time, small (but more numerous) MBZs were more frequent in group 2 (unilateral CCA occlusion) (Fig. 7; Table). This suggested more intense neuropil swelling or a tendency for the fusion of MBZs to form conglomerates of irreversibly enlarged/changed astrocyte processes after bilateral 40 min CCA occlusion. Cytoplasmic bio-



**Рис. 3. Иммуногистохимическое типирование нейронов (a), цитоскелета нейронов (b) и астроцитов (c), группа III (3 сут). Fig. 3. Immunohistochemical typing of neurons (a), neuronal cytoskeleton (b) and astrocytes (c), group 3 (day 3).**

**Note.** Pericellular and perivascular edema, vacuolization of dendrites and neuropil. Black arrows indicate perikaryons; red-and-black arrows indicate dendrites; red arrows indicate astrocytic processes; \* — capillary lumen. Staining: reaction for NSE (a), MAP-2 (b), and GFAP (c), pre-staining with hematoxylin.  $\times 100$  magnification; 20  $\mu\text{m}$  scale.

**Примечание.** Перичеллюлярный и периваскулярный отек, вакуолизация дендритов и нейропиля. Черные стрелки — перикарионы; красно-черные стрелки — дендриты; красные стрелки — отростки астроцитов; \* — просветы капилляров. Окраска: реакция на NSE (a), MAP-2 (b) и GFAP (c), докраска гематоксилином. Объектив  $\times 100$ ; шкала — 20  $\mu\text{м}$ .

Таким образом, найденные гистологические и иммуногистохимические изменения СМК свидетельствовали о разной степени воздействия 20, 30 и 40 мин ООСА на нейроны СМК. Подобные диффузно-мелкоочаговые изменения описаны при поверхностном повреждении СМК другими авторами [25] и ранее нами [14].

Для сравнения степени проявлений отека-набухания СМК в изученных группах использовали анализ цветных изображений одинаковых по размеру (20 $\times$ 20  $\mu\text{м}$ ) участков нейропиля, не содержащих микрососуды, с помощью оценки их пиксельного состава (яркость, количество). Яркие пиксели (выше более темного фона) соответствовали участкам СМК с высоким содержанием воды — ЗМЯ. Установили, что через 1 сут после ООСА во всех группах относительная площадь ЗМЯ (медиана) статистически значимо превышала контрольное значение в 2–2,5 раза. Многомерная проверка равенства медиан данного показателя выявила наличие статистически значимых различий между выборками групп I–III через 1 сут ( $H=37,8$ ;  $p=0,0001$ ), 3 сут ( $H=26,6$ ;  $p=0,0001$ ) и 7 сут ( $H=8,3$ ;  $p=0,02$ ; Kruskal–Wallis ANOVA). При этом наиболее высокие значения показателей отмечали через 1 и 3 сут в группе III (рис. 4).

Кроме того, группы отличались по частотному распределению полей зрения с одинаково-

colloids no longer retained some part of the fluid, which transformed into a free state with probable migration to the intercellular space as well. This created favorable conditions for interstitial edema development [12].

The maximum brightness zones in neuropil (Fig. 8, a, b) detected using the Find Maxima filter had different shapes, sizes and intensity levels. This was clearly seen when using Find Foci plugin (Fig. 8, c). For example, area of one MBZ in this image varied from 0.8 to 14  $\mu\text{m}^2$ , brightness — from 200 to 252. The largest MBZs in terms of central trend (median) and interquartile range (Q1–Q3) were found in groups 1 and 3 (bilateral CCA occlusion). In group 1, this index was 2.62 (2.43–3.35) on day 1, 2.77 (2.52–3.55) on day 3, and 2.65 (2.12–2.82) on day 7. In group 2 it was 1.98 (1.67–2.51) on day 1, 1.55 (1.43–2.15) on day 3, and 1.56 (1.38–1.90) on day 7. In group III the values were 3.03 (2.87–3.58) on day 1, 2.54 (2.48–3.11) on day 3, and 1.94 (1.76–2.60) on day 7. A multiple comparison (Kruskal–Wallis ANOVA) of the three groups showed significant differences on day 1 ( $H=26.8$ ;  $P=0.0001$ ); day 3 ( $H=22.5$ ;  $P=0.0001$ ); day 7 ( $H=8.3$ ;  $P=0.02$ ).

According to multivariate analysis, the total pixel intensity of maximum brightness in the peaks was significantly different between the groups ( $H=30.6$ ;  $P=0.0002$ ). However, differences were

вым относительным объемом. Больше всего полей зрения с высоким значением относительной площади ЗМЯ выявили через 1 сут в группе III (рис. 5; табл.). В этой группе в 1,5–2,5 раза чаще ( $\chi^2=10,5$ ;  $p=0,01$ ) встречались «пористые» участки в верхнем этаже молекулярного слоя СМК (рис. 1, b).

Сравнительный анализ общей численной плотности ЗМЯ в нейропиле молекулярного слоя СМК в контроле и после ООСА показал наличие статистически значимого увеличения количества набухших компонентов нейропиля (рис. 6). Многомерная проверка равенства медиан данного показателя выявила наличие статистически значимых различий между выборками групп I–III через 1 сут ( $N=9,4$ ;  $p=0,01$ ), 3 сут ( $N=69,6$ ;  $p=0,0001$ ) и 7 сут ( $N=54,5$ ;  $p=0,0001$ ; Kruskal–Wallis ANOVA). При этом мелкие (но более многочисленные) ЗМЯ чаще встречались в группе II (односторонняя ООСА) (рис. 7, табл.). Это свидетельствовало о том, что после двусторонней 40 мин ООСА, вероятно, набухание нейропиля проявлялось сильнее или появлялась тенденция слияния ЗМЯ с образованием конгломератов необратимо расширенных/измененных отростков астроцитов. Биокolloиды цитоплазмы пере-

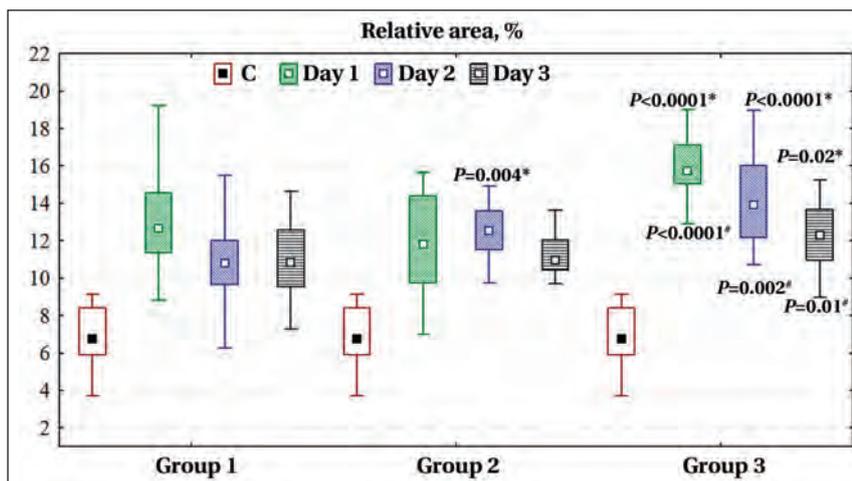


Рис. 4. Относительная площадь зон максимальной яркости в поле зрения нейропиля молекулярного слоя СМК в контроле и после ООСА (1, 3 и 7 сут) в группах I (20 мин), II (30 мин) и III (40 мин).

Fig. 4. Relative area of maximal brightness zones in the visual field of neuropil of the SMC molecular layer in the controls and after CCA occlusion (days 1, 3, and 7) in groups 1 (20 min), 2 (30 min) and 3 (40 min post occlusion).

Note. For fig. 4, 6: c — controls. The differences versus group 1 (\*) and group 2 (#) were significant (Mann–Whitney test). Compared to controls, the differences were significant for all groups and time points at  $P<0.0001$ . Data are presented as median (Me) (Q2), 25–75% quartiles (Q1–Q3), and non-outlier range (Min–Max).

Примечание. Для рис. 4, 6: с — контроль. Различия в сравнении с группой I (\*), с группой II (#) статистически значимы (критерий Манна–Уитни). В сравнении с контролем различия значимы для всех групп и сроков при  $p<0,0001$ . Материал представили как медиану (Me) (Q2), 25–75% квантили (Q1–Q3) и диапазон без выбросов (Min–Max).

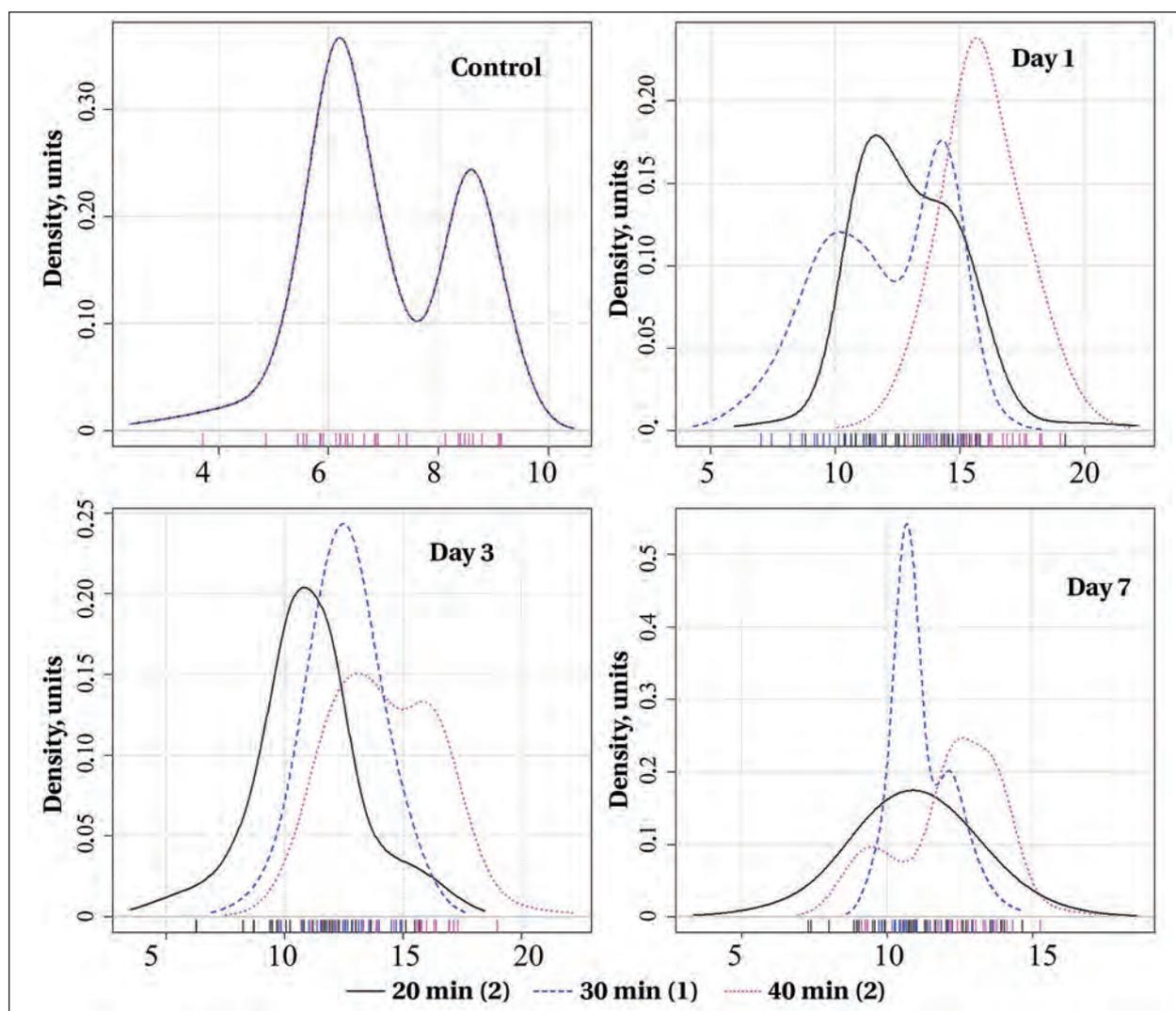
found between time points (days 1, 2, and 3) only in group 3 ( $H=11.5$ ;  $P=0.003$ ), and between groups on the same time points on day 1 ( $H=12.2$ ;  $P=0.002$ ) and day 3 ( $H=10.8$ ;  $P=0.01$ ). On day 7 post CCA occlusion, this parameter was approximately identical in all groups (Fig. 9). Probably, during this period, a decrease in the intracellular water content occurred accompanied by resolution of the structural features of cytotoxic neuropil edema. This was

**Многомерное сравнение частотного распределения полей зрения по относительной площади и количеству зон максимальной яркости в молекулярном слое СМК (корреспондентский анализ).**

**Multivariate comparison of the frequency distribution of visual fields by relative area and number of zones of maximum brightness in the molecular layer of the SMC (correspondence analysis).**

| Comparison   | Result                                  |  |
|--|---|--|
|  | Area                                    | Number                                 |
| Group 1 vs group 2                                 | $\chi^2=84.0$ ; $df=45$ ; $P=0.0004^*$  | $\chi^2=211.6$ ; $df=70$ ; $P=0.000^*$ |
| Group 1 vs group 3                                 | $\chi^2=150.0$ ; $df=65$ ; $P<0.0001^*$ | $\chi^2=150.2$ ; $df=60$ ; $P=0.000^*$ |
| Group 2 vs group 3                                 | $\chi^2=167.0$ ; $df=60$ ; $P<0.0001^*$ | $\chi^2=143.5$ ; $df=55$ ; $P=0.000^*$ |
| Intragroup 1 between various time points           | $\chi^2=29.0$ ; $df=18$ ; $P=0.047$     | $\chi^2=28.4$ ; $df=18$ ; $P=0.06$     |
| Intragroup 2 between various time points           | $\chi^2=39.0$ ; $df=16$ ; $P=0.001^*$   | $\chi^2=51.8$ ; $df=22$ ; $P=0.0003^*$ |
| Intragroup 3 between various time points           | $\chi^2=49.0$ ; $df=22$ ; $P=0.001^*$   | $\chi^2=35.4$ ; $df=16$ ; $P=0.01^*$   |
| Intergroup on day 1                                | $\chi^2=60.0$ ; $df=24$ ; $P=0.0001^*$  | $\chi^2=21.4$ ; $df=18$ ; $P=0.26$     |
| Intergroup on day 3                                | $\chi^2=42.0$ ; $df=11$ ; $P<0.0001^*$  | $\chi^2=113.5$ ; $df=26$ ; $P=0.000^*$ |
| Intergroup on day 7                                | $\chi^2=42.0$ ; $df=11$ ; $P<0.0001^*$  | $\chi^2=76.0$ ; $df=26$ ; $P=0.000^*$  |
| Between the controls and each time point groupwise | $\chi^2>40$ ; $df=11$ ; $P<0.0001^*$    | $\chi^2>40$ ; $df=10$ ; $P<0.0001^*$   |

Примечание. Comparison — сравнение; result — результат; area — площадь; number — количество; group 1 vs group 2 — группа 1 по сравнению с группой 2; intragroup ... between various time points — внутри группы ... между сроками; intergroup on day ... — между группами через ... сут; between the controls and each time point groupwise — между контролем и каждым сроком по группам; the differences were considered significant at ... — различия статистически значимы при...



**Рис. 5.** Частотное распределение полей зрения по относительному объему (площади) зон максимальной яркости в молекулярном слое СМК в контроле и после ООСА (1, 3 и 7 сут) в группах I (20 мин), II (30 мин) и III (40 мин).  
**Fig. 5.** Frequency distribution of visual fields by relative volume (area) of maximum brightness zones in the molecular layer of SMC in the controls and after CCA occlusion (days 1, 3, and 7) in groups I (20 min), 2 (30 min), and 3 (40 min post occlusion).  
**Note.** For fig. 5, 7: X-axis: the relative area of zones with the maximum brightness (ZMB). Common carotid artery occlusion (CBA): (1) — unilateral CBA and (2) — bilateral CBA.

**Примечание.** Для рис. 5, 7: Density, units — плотность, ед. По оси X — относительная площадь зон максимальной яркости (ЗМЯ). (1) — односторонняя и (2) — двусторонняя окклюзия общих сонных артерий (ООСА).

ставали удерживать часть жидкости, и она трансформировалась в свободное состояние, вероятно, переходила и в межклеточное пространство. Возникали условия для формирования интерстициального отека [12].

Выявленные с помощью фильтра Find Maxima ЗМЯ в нейропиле СМК (рис. 8, *a, b*) имели разные формы, размеры и степень яркости. Это отчетливо проявлялось при использовании возможностей плагина Find Foci (рис. 8, *c*). Например, площадь одной ЗМЯ на этом рисунке варьировалась от 0,8 до 14 мкм<sup>2</sup>, яркость — от 200 до 252. Наиболее крупные ЗМЯ по показателю центральной тенденции (медиана) и интерквартильного размах (Q1–Q3) выявлены в группе I и III (дву-

most evident after 40 min of CCA occlusion (Figs. 8, 9). This group had the highest values of the total pixel intensity of the maximal brightest and largest in area peaks of the visual field of the neuropil molecular layer of SMC, which were detected 3 days post ischemia. The maximum amount of bound/free fluid detected by brightness foci was noted in edema of the neuropil of the upper SMC molecular layer and perivascular spaces (Fig. 1, *b, c, d*; Fig. 9). These zones corresponded to the accumulation of GFAP-positive material in the controls seen in the upper level (superficial glial limiting membrane formed by specialized astrocyte processes) and around the vessels (Fig. 1, *c, f*).

The total pixel intensities of the peaks determined using the Find Foci plugin ranged from

сторонняя ООСА). В группе I через 1 сут этот показатель составил 2,62 (2,43–3,35), 3 сут — 2,77 (2,52–3,55), 7 сут — 2,65 (2,12–2,82). В группе II через 1 сут — 1,98 (1,67–2,51), 3 сут — 1,55 (1,43–2,15), 7 сут — 1,56 (1,38–1,90). В группе III через 1 сут — 3,03 (2,87–3,58), 3 сут — 2,54 (2,48–3,11), 7 сут — 1,94 (1,76–2,60). Множественное сравнение (Kruskal–Wallis ANOVA) трех групп показало наличие статистически значимых различий: через 1 сут (N=26,8;  $p=0,0001$ ); через 3 сут (N=22,5;  $p=0,0001$ ); через 7 сут (N=8,3;  $p=0,02$ ).

По данным многомерного анализа, общая интенсивность пикселей максимальной яркости в пиках статистически значимо отличалась между группами (N=30,6;  $p=0,0002$ ). Однако, между сроками (1, 2, и 3 сут) различия были выявлены только в группе III (N=11,5;  $p=0,003$ ), а между группами по одинаковым срокам — через 1 сут (N=12,2;  $p=0,002$ ) и 3 сут (N=10,8;  $p=0,01$ ). Через 7 сут после ООСА этот показатель был примерно на одном уровне во всех группах (рис. 9). Вероятно, в этот период происходило уменьшение содержания внутриклеточной воды, сопровождающееся инволюцией структурных проявлений цитотоксического отека-набухания нейропиля. Наиболее наглядно это проявлялось после 40 мин ООСА (рис. 8, 9). Для этой группы были характерны самые большие значения общей интенсивности пикселей максимально ярких и крупных по площади пиков поля зрения нейропиля молекулярного слоя СМК, которые выявлялись через 3 сут после ишемии. Максимальное количество связанной/свободной воды, выявленной по фокусам яркости, при развитии эдематозных изменений отметили в нейропиле верхнего этажа молекулярного слоя СМК и периваскулярных пространствах (рис. 1, b, c, d; рис. 9). Эти зоны соответствовали скоплению GFAP-позитивного материала в контроле — верхний этаж (поверхностная глиальная пограничная мембрана, образованная отростками специализированных астроцитов) и вокруг сосудов (рис. 1, c, f).

Общая интенсивность пикселей пиков, выявленная при использовании плагина Find Foci, варьировала от 70000 до 2280000. Однако

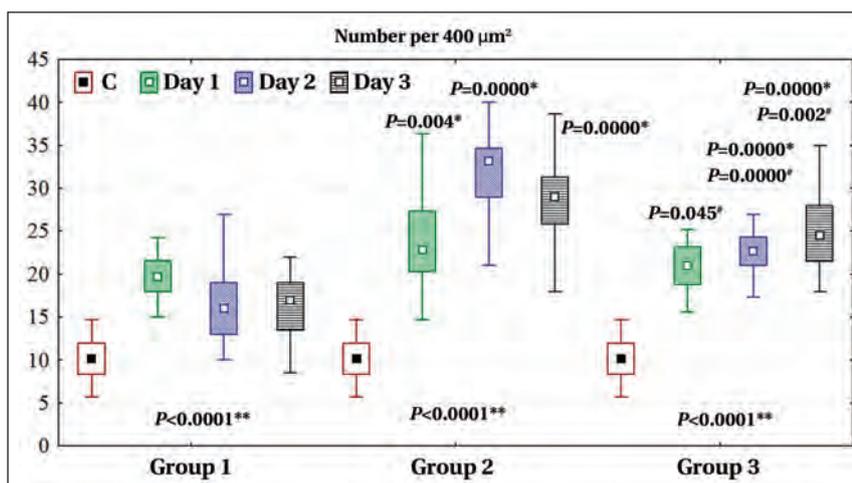


Рис. 6. Общая численная плотность зон максимальной яркости в нейропиле молекулярного слоя СМК в контроле и после ООСА (1, 3 и 7 сут) в группах I (20 мин), II (30 мин) и III (40 мин).

Fig. 6. Total numerical density of maximal brightness zones in the neuropil of SMC molecular layer in the controls and after CCA occlusion (days 1, 3 and 7) in groups 1 (20 min), 2 (30 min) and 3 (40 min post occlusion).

Note. The differences versus group 1 (\*) and group 2 (#) are significant (Mann–Whitney test). Compared to controls, differences were significant for all groups and time points at  $P<0.0001$ . Data are presented as median (Me) (Q2), 25–75% quartiles (Q1–Q3), and non-outlier range (Min–Max).

Примечание. Number per 400  $\mu\text{m}^2$  — количество на 400  $\mu\text{m}^2$ . Различия в сравнении с группой I (\*), с группой II (#) статистически значимы (критерий Манна–Уитни). В сравнении с контролем различия значимы для всех групп и сроков при  $p<0,0001$ . Материал представлен как медиана (Me) (Q2), 25–75% квантили (Q1–Q3) и диапазон без выбросов (Min–Max).

70,000 to 2,280,000. However, for the majority of the detected peaks, the total pixel intensity did not exceed 200,000. Larger peaks were 20.3% (95% CI: 6.7–32.6%;  $\chi^2=8.6$ ;  $P=0.003$ ) more frequent in animals after bilateral CCA occlusion (groups 1 and 3) (Fig. 10).

The results of our study indicate that after 20, 30, and 40 min of OOSA, signs of edema with cell swelling appeared in the SMC. Prevalent features included swelling and vacuolization of dendrites, swelling of astrocytes of the upper molecular layer neuropil where the distal dendrites of the underlying layers of pyramidal neurons were located. These changes were mostly reversible, but associated with destruction of some neurons. The study of morphometric evolution of edema in the SMC showed that edema with cell swelling persisted in varying degrees in all groups during the entire observation period (7 days) after CCA occlusion. The most severe edema with cell swelling occurred after 40 min CCA occlusion. This type of occlusion was also characterized by a more significant reduction in the total numerical density of pyramidal neurons.

The ischemic area looks more pale under mild exposure due to vacuolization of the neuropil, which consists of neuronal processes and glia. The lesion site is localized in the superficial layers of the

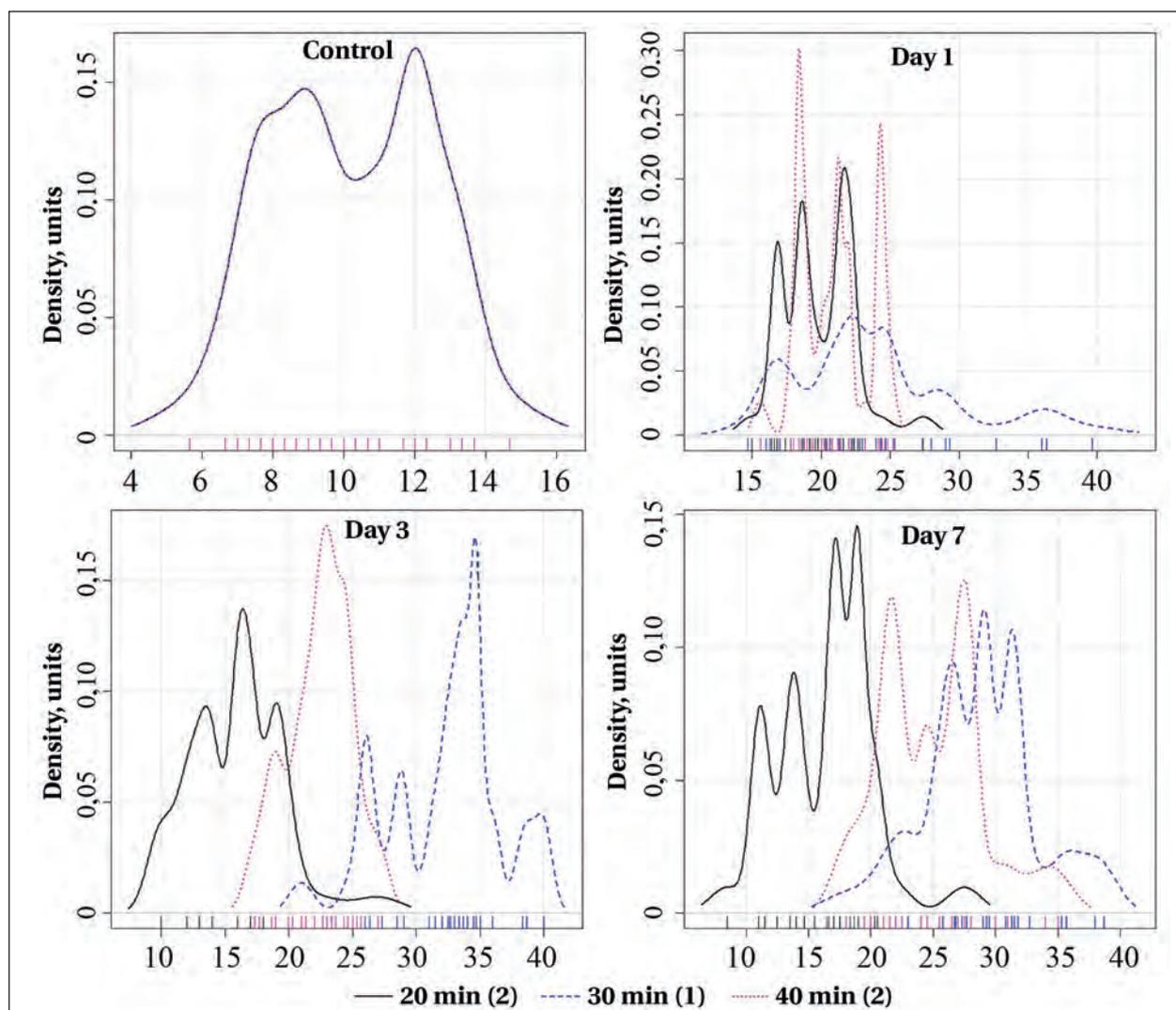


Рис. 7. Частотное распределение полей зрения по количеству зон максимальной яркости в молекулярном слое (МС) сенсомоторной коры в контроле и после ООСА (1, 3 и 7 сут) в группах I (20 мин), II (30 мин) и III (40 мин).  
 Fig. 7. Frequency distribution of visual fields by number of maximum brightness zones in the molecular layer of SMC in the controls and after CCA occlusion (days 1, 3, and 7) in groups 1 (20 min), 2 (30 min), and 3 (40 min post occlusion).

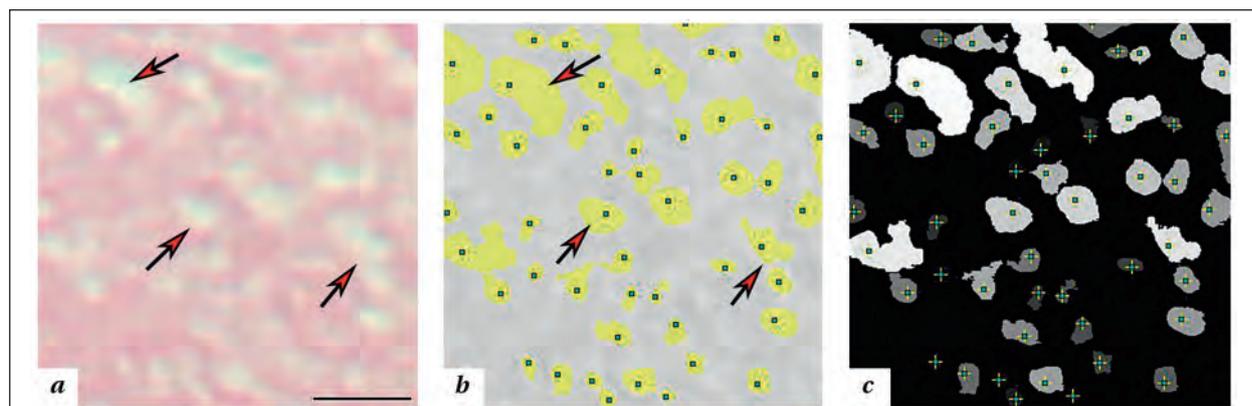


Рис. 8. Участок нейропила верхнего этажа молекулярного слоя СМК через 7 сут после 40 мин ООСА.  
 Fig. 8. A region of the neuropil of the upper SMC molecular layer 7 days post 40 min CCA occlusion.  
 Note. Edema with clearing (*a, b*; arrows) in the neuropil, with varying brightness (*c*; marked by + and ■), shape and size (*b, c*). Hematoxylin-eosin staining (*a*), plot transformation using the Find Maxima filter (*b*) and Find Foci plugin (*c*). A 6 μm scale.  
 Примечание. Эдематозные изменения с появлением на фоне нейропила светлых зон (*a, b*; стрелки), отличающихся яркостью (*c*; отмечено + и ■), формой и размерами (*b, c*). Окраска гематоксилин-эозином (*a*), трансформация графики с помощью фильтра Find Maxima (*b*) и плагина Find Foci (*c*). Шкала — 6 мкм.

для основной массы выявленных пиков общая интенсивность пикселей не превышала 200000. Более крупные пики чаще встречались у животных после двусторонней ООСА (группы I и III) — на 20,3% (95% ДИ: 6,7–32,6%;  $\chi^2=8,6$ ;  $p=0,003$ ) (рис. 10).

Результаты настоящего исследования свидетельствуют о том, что после 20, 30 и 40 мин ООСА в СМК появлялись признаки отека-набухания. Преобладали проявления набухания и вакуолизации дендритов, набухания астроцитов нейропиля верхнего этажа молекулярного слоя, в котором локализовались дистальные дендриты нижележащих слоев пирамидных нейронов. Данные изменения имели в основном обратимый характер, но сопровождалась деструкцией части нейронов. Исследование динамики морфометрических характеристик проявлений эдематозных изменений в СМК показало, что после ООСА во всех группах отек-набухание в той или иной степени сохранялся в течение всего периода наблюдения (7 сут). Наиболее выраженными проявлениями отека-набухания были после 40 мин ООСА. Для данного варианта окклюзии была характерна и более значительная редукция общей численной плотности пирамидных нейронов.

Известно, что при слабом воздействии ишемическая область выглядит бледнее вследствие вакуолизации нейропиля, состоящего из отростков нейронов и глии. Участок повреждения локализуется в поверхностных слоях коры. В основном проявляются структурные перестройки дендритов поверхностных слоев коры. В некоторых случаях на фоне таких набухших дендритов выявляется цитотоксический отек глиальных клеток и перичеллюлярный отек сомы отдельных нервных клеток, редко встречаются тела гиперхромных нейронов. Основная масса тел нейронов поверхностных слоев остается неповрежденной, в нижележащих слоях все нейроны остаются интактными [25].

Сопоставляя эти данные с нашими, можно сделать заключение о том, что после 20, 30 и, особенно, 40 мин ООСА развивались умерен-

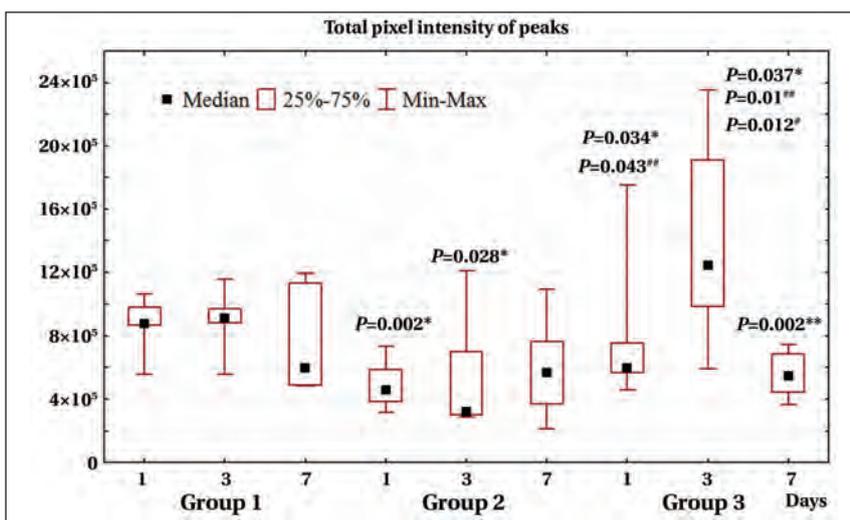


Рис. 9. Общая интенсивность пикселей максимально ярких и крупных по площади пиков поля зрения нейропиля молекулярного слоя СМК в контроле и после ООСА (1, 3 и 7 сут) в группах I (20 мин), II (30 мин) и III (40 мин).

Fig. 9. Total pixel intensity of the maximal brightest and largest by area peaks of the visual field of neuropil molecular layer of SMC in controls and after CCA occlusion (days 1, 3 and 7) in groups 1 (20 min), 2 (30 min) and 3 (40 min post occlusion).

Note. Differences versus groups 1 (\*) and 2 (\*\*), vs day 1 (#) and day 3 (\*\*) were significant (Mann-Whitney test). Data are presented as median (Me) (Q2), 25–75% quartiles (Q1–Q3), and non-outlier range (Min–Max).

Примечание. Total pixel intensity of peaks — общая интенсивность пикселей в пике. Различия в сравнении с группой I (\*), с группой II (\*\*), с 1 сут (#), с 3 сут (\*\*) статистически значимы (критерий Манна-Уитни). Материал представлен как медиана (Me) (Q2), 25–75% квантили (Q1–Q3) и диапазон без выбросов (Min–Max).

cortex. Structural rearrangements of dendrites of superficial cortical layers are the most apparent features. Occasionally, cytotoxic edema of glial cells and pericellular edema of soma of individual nerve cells can be revealed amid such swollen dendrites; hyperchromic neuronal bodies can be rarely found. The majority of neuronal bodies in the superficial layers and all neurons in the underlying layers remain intact [25].

Comparing these data with our own, we can conclude that after 20, 30, and, especially, 40 min CCA occlusion, mostly moderate structural and functional changes developed, whereas in some ischemic areas of the SMC even severe ones could be observed.

According to the literature, astrocytes are obviously damaged by ischemia, and their dysfunction can lead to neuronal death or dysfunction. Heterogeneous degeneration of astrocytic processes around neurons of varying viability causes further neuronal injury and death due to secondary reduction of energy supply to necrotic neurons and disruption of glutamate-glutamine cycle and ionic homeostasis [12]. We assume the linear relationship between these changes and the duration of ischemia based on our findings: the mildest morphometric evidence of edema with cell swelling was obtained after 30 min unilateral CCA occlusion, while the most severe one was seen after 40-min bilateral CCA occlusion.

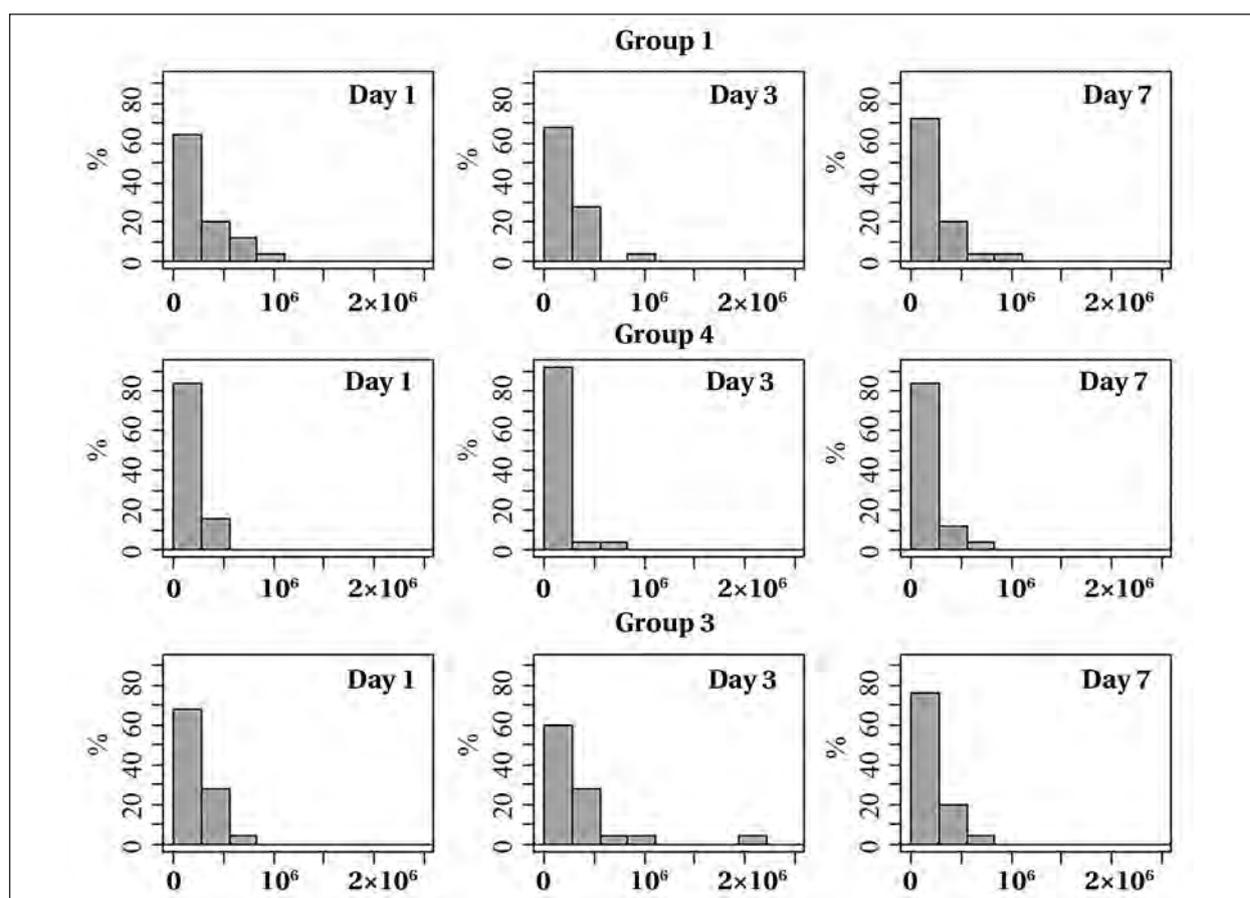


Рис. 10. Гистограмма распределения пиков с разной общей интенсивностью пикселей изображения поля зрения нейропила молекулярного слоя СМК в контроле и после ООСА (1, 3 и 7 сут) в группах I (20 мин), II (30 мин) и III (40 мин). Fig. 10. Histogram of the distribution of peaks with different total pixel intensities of the visual field image of the SMC molecular layer neuropil in the controls and after CCA occlusion (days 1, 3, and 7) in groups 1 (20 min), 2 (30 min), and 3 (40 min post occlusion).

ные структурно-функциональные изменения, а в отдельных ишемизированных зонах СМК — даже сильные.

По данным литературы, очевидно, что астроциты повреждаются ишемией, а их дисфункция может привести к гибели или дисфункции нейронов. Гетерогенная дегенерация астроцитарных отростков вокруг нейронов разной степени жизнеспособности вызывает дальнейшие повреждения и гибель нейронов из-за вторичного снижения энергоснабжения некробиотических нейронов и нарушения глутамат-глутаминового цикла и ионного гомеостаза [12]. Мы предполагаем, что существует линейная зависимость подобных изменений от продолжительности ишемии — наименьшие морфометрические проявления отека-набухания нами получены при 30 мин односторонней, а наибольшие — при 40 мин двусторонней ООСА.

Установили, что после ООСА появлялись «пористые» изменения нейропила СМК, в зоне расположения которых резко уменьшалось содержание GFAP-позитивного материала. В более отдаленном периоде, вероятно, в результате активации механизмов реактивного аст-

We found that after CCA occlusion «porous» changes appeared in the neuropil of SMC associated with a local dramatic reduction in the GFAP-positive material. Later on, probably as a result of reactive astrocytosis mechanisms, there was a partial recovery and even hypertrophy of the astrocytic processes in this area [26].

Swelling of the distal dendrites in the upper layers of the cortex is one of the characteristic morphological alterations in mild ischemic exposure. Neurodegeneration is known to start specifically from distal dendrites. On the other hand, deactivation of the superficial cortical layers disrupts the projections of the thalamic cells into the upper cortical layers, thus resulting in delta activity [25].

One may suppose that edema with cell swelling and varicose dilation of the distal dendrites of the molecular layer of the cortex after acute ischemia leads to increased inhibition in the cortex, manifested by delta activity. The intensification of inhibitory processes is apparently due to attenuated influences arriving to the cortex from nonspecific subcortical systems. This can be considered as one of the mechanisms of natural protection of neurons after ischemia [25].

роцитоза, происходило частичное восстановление и даже гипертрофия отростков астроцитов этой зоны [26].

При слабом ишемическом воздействии одной из характерных морфологических перестроек является набухание дистальных отделов дендритов в верхних слоях коры. Известно, что именно с дистальных дендритов начинается нейродегенерация. С другой стороны, выключение поверхностных слоев коры нарушает проекции клеток таламуса в верхние слои коры, благодаря этому появляется дельта-активность [25].

Можно полагать, что отек-набухание и варикозное расширение дистальных дендритов молекулярного слоя коры после острой ишемии приводит к усилению торможения в коре, что выражается в дельта-активности. Усиление тормозных процессов происходит, по-видимому, за счет ослабления активирующих влияний, приходящих в кору от неспецифических подкорковых систем. Это можно рассматривать как один из механизмов естественной защиты нейронов после ишемии [25].

По литературным данным, гидропические изменения в нейропиле молекулярного слоя после острой ишемии сопровождаются редукцией значительной части межнейронных синапсов по светлому типу деструкции, что также свидетельствует о нарушениях коммуникации нейронов неокортекса и неспецифических ядер таламуса [27]. «Жертвуют» дендритами и синапсами в остром постишемическом периоде, нейроны, вероятно, спасают себя от гиперактивации и необратимого эксайтотоксического повреждения, а система коммуникации восстанавливается уже через 3–7 сут реперфузии в результате активации механизмов нейропластичности.

### Заключение

В сенсомоторной коре головного мозга белых крыс после перенесенной 20, 30 и 40 мин ООСА появлялись признаки цитотоксического отека-набухания, развивались очаговые деструктивные и адаптивные изменения нейронов и астроглии. Проявления отека-набухания сохранялись на протяжении всего периода наблюдения (7 сут).

Через 1 и 3 сут после ООСА часть отростков астроцитов СМК разрушалась, а у других появлялись признаки адаптивных и компенсаторных реактивных изменений. В большей степени страдали структуры верхнего этажа молекулярного слоя — в субпиальной зоне под наружной пограничной глиальной мембраной мозга.

После односторонней 30 мин ООСА развивались слабые и умеренные, а после двусто-

According to the literature data, hydroptic changes in the molecular layer neuropil after acute ischemia are accompanied by reduction of a significant part of interneuronal synapses via «clear» destruction mechanism, which also indicates disturbances in communication between neocortex neurons and nonspecific thalamic nuclei [27]. By «sacrificing» dendrites and synapses in the acute postischemic period, neurons probably protect themselves from hyperactivation and irreversible excitotoxic damage, and the communication system is restored after 3–7 days of reperfusion as a result of neuroplasticity mechanisms activation.

### Conclusion

In the sensorimotor cerebral cortex of white rats post 20, 30, and 40 min CCA occlusion, signs of cytotoxic edema were observed, and focal destructive and adaptive changes in neurons and astroglia developed. Edema persisted throughout the entire observation period (7 days).

On days 1 and 3 after CCA occlusion, some of the SMC astrocyte processes were destructed, while others showed adaptive and compensatory reactive changes. The structures of the upper level of the molecular layer, located in the subpial zone under the external glial limiting membrane of the brain, suffered to a greater extent.

Mild and moderate (after unilateral 30 min CCA occlusion) to moderate and severe (after bilateral 40 min CCA occlusion) focal structural and functional changes of the SMC with large zones of neuropil clearing, severe perivascular and perineuronal edema of the astrocytic processes developed.

Thus, new quantitative data were obtained on the patterns of neocortical edema with cell swelling development after 20, 30 and 40 min CCA occlusion. These data might help understand the structural basis for the transition of reactive/protective changes into pathological ones due to the reorganization of neuroglial interrelations. The 40 min CCA occlusion could serve as a sort of borderline ischemia period which induces this transition. Specifically after this period the most severe manifestations of post-ischemic cytotoxic edema such as failure of homeostatic and adaptive mechanisms, dysfunction of astrocytes, large number of shranked neurons and their death were revealed.

**Authors' contribution.** The authors personally and equally participated in the implementation of a comprehensive methodological approach, including experimental, anatomical, histological, morphometric and computational methods, as well as observation, description and analysis of the obtained data.

ронней 40 мин ООСА — умеренные и даже сильные мелкоочаговые структурно-функциональные изменения СМК с появлением боль-

ших зон просветления нейропиля, выраженно-го периваскулярного и перинейронального отека отростков астроцитов.

Таким образом, получены новые количественные данные об особенностях развития отека-набухания неокортекса после 20, 30 и 40 мин ООСА. Эти данные могут быть использованы для понимания структурных основ перехода реактивных/защитных изменений в патологические за счет реорганизации нейроглиальных взаимоотношений. Своеобразным пограничным сроком продолжительности ишемии, вероятно, является 40 мин ООСА.

Именно после нее выявили наибольшие проявления постишемического цитотоксического отека-набухания — срыв гомеостатических и адаптационных механизмов, дисфункцию астроцитов, образование большого количества и гибель пикноморфных нейронов.

**Участие авторов.** Авторы лично и в равном количестве принимали участие в реализации комплексного методологического подхода, включающего экспериментальный, анатомический, гистологический, морфометрический и информационно-математический методы, а также методы наблюдения, описания и анализа.

#### Литература

1. Баширова А.Р., Сундуков Д.В., Бабкина А.С., Голубев М.А., Телипов И.Н. Морфометрические изменения клеток коры головного мозга при острых отравлениях клозапином в сочетании с этиловым спиртом. *Общая реаниматология*. 2020; 16 (6): 19–30. DOI: 10.15360/1813-9779-2020-6-19-30
2. Bailey D.M., Bärtsch P., Knauth M., Baumgartner R.W. Emerging concepts in acute mountain sickness and high-altitude cerebral edema: from the molecular to the morphological. *Cell Mol Life Sci*. 2009; 66 (22): 3583–3594. DOI: 10.1007/s00018-009-0145-9.
3. Adeva M.M., Souto G., Donapetry C., Portals M., Rodriguez A., Lamas D. Brain edema in diseases of different etiology. *Neurochem Int*. 2012; 61 (2): 166–174. DOI: 10.1016/j.neuint.2012.05.007
4. Wang Y.F., Pappas V. Astroglial modulation of hydromineral balance and cerebral edema. *Front Mol Neurosci*. 2018; 11: 204. DOI: 10.3389/fnfmol.2018.00204.
5. Slivka A., Murphy E., Horrocks L. Cerebral edema after temporary and permanent middle cerebral artery occlusion in the rat. *Stroke*. 1995; 26 (6): 1061–1065. DOI: 10.1161/01.str.26.6.1061.
6. Keep R.F., Jones H.C., Drewes L.R. This was the year that was: brain barriers and brain fluid research in 2019. *Fluids Barriers CNS*. 2020; 17 (1): 20. DOI: 10.1186/s12987-020-00181-9.
7. Krueger M., Mages B., Hobusch C., Michalski D. Endothelial edema precedes blood-brain barrier breakdown in early time points after experimental focal cerebral ischemia. *Acta Neuropathologica Communications*. 2019; 7: 17. <https://doi.org/10.1186/s40478-019-0671-0>
8. Ding Y., Liu J., Xu Y., Dong X., Shao B. Evolutionary adaptation of Aquaporin-4 in Yak (Bos grunniens) brain to high-altitude hypoxia of Qinghai-tibetan plateau. *High altitude medicine & biology*. 2020; 21 (2). DOI: 10.1089/ham.2019.0076
9. Hinzman J.M., DiNapoli V.A., Mahoney E.J., Gerhardt G.A., Hartings J.A. Spreading depolarizations mediate excitotoxicity in the development of acute cortical lesions. *Exp Neurol*. 2015; 267: 243–253. DOI: 10.1016/j.expneurol.2015.03.014.
10. Dreier J.P., Lemale C.L., Kola V., Friedman A., Schoknecht K. Spreading depolarization is not an epiphenomenon but the principal mechanism of the cytotoxic edema in various gray matter structures of the brain during stroke. *Neuropharmacol*. 2018; 15 (134): 189–207. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2017.09.027.
11. Квитницкий-Рыжов Ю.Н. Отек и набухание головного мозга. Киев: «Здоров'я»; 1978: 184.
12. Ito U., Hakamata Y., Kawakami E., Oyanagi K. Degeneration of astrocytic processes and their mitochondria in cerebral cortical regions peripheral to the cortical infarction: heterogeneity of their disintegration is closely associated with disseminated selective neuronal necrosis and maturation of injury. *Stroke*. 2009; 40 (6): 2173–2181. DOI: 10.1161/STROKEAHA.108.534990.
13. Моргунов А.В., Малиновская Н.А., Комлева Ю.К., Лопатина О.Л., Кувачева Н.В., Панина Ю.А., Таранушенко Т.Е., Солончук Р.Ю., Салмина А.Б. Структурная и функциональная гетерогенность астроцитов головного мозга: роль в нейродегенерации и нейровоспалении. *Бюлл. сибирской медицины*. 2014; 13 (5): 138–148. DOI: 10.20538/1682-0363-2014-5-138-148
14. Степанов А.С., Акулинин В.А., Мыцик А.В., Степанов С.С., Авдеев Д.Б. Нейро-глио-сосудистые комплексы головного мозга после острой ишемии. *Общая реаниматология*. 2017; 13 (6): 6–17. DOI: 10.15360/1813-9779-2017-6-6-17
15. Pekny M., Pekna M. Astrocyte reactivity and reactive astrogliosis: costs and benefits. *Physiol Rev*. 2014; 94: 1077–1098. DOI: 10.1152/physrev.00041.2013.
16. Bai J., Lyden P.D. Переосмысленная постишемическая реперфузионная повреждение головного мозга: новые взгляды на понимание механизмов нарушения реперфузии, кровоизлияния и отека. *International J. Stroke*. 2015; 10 (2): 143–152. DOI: 10.1111/ij.s.12434

#### References

1. Bashirova A.R., Sundukov D.V., Babkina A.S., Golubev M.A., Telipov I.N. Morphometry of cortical neurons in acute clozapine and ethanol poisoning. *Obshchaya Reanimatologiya=General Reanimatology*. 2020; 16 (6): 19–30 [In Russ.]. DOI: 10.15360/1813-9779-2020-6-19-30
2. Bailey D.M., Bärtsch P., Knauth M., Baumgartner R.W. Emerging concepts in acute mountain sickness and high-altitude cerebral edema: from the molecular to the morphological. *Cell Mol Life Sci*. 2009; 66 (22): 3583–3594. DOI: 10.1007/s00018-009-0145-9.
3. Adeva M.M., Souto G., Donapetry C., Portals M., Rodriguez A., Lamas D. Brain edema in diseases of different etiology. *Neurochem Int*. 2012; 61 (2): 166–174. DOI: 10.1016/j.neuint.2012.05.007
4. Wang Y.F., Pappas V. Astroglial modulation of hydromineral balance and cerebral edema. *Front Mol Neurosci*. 2018; 11: 204. DOI: 10.3389/fnfmol.2018.00204.
5. Slivka A., Murphy E., Horrocks L. Cerebral edema after temporary and permanent middle cerebral artery occlusion in the rat. *Stroke*. 1995; 26 (6): 1061–1065. DOI: 10.1161/01.str.26.6.1061.
6. Keep R.F., Jones H.C., Drewes L.R. This was the year that was: brain barriers and brain fluid research in 2019. *Fluids Barriers CNS*. 2020; 17 (1): 20. DOI: 10.1186/s12987-020-00181-9.
7. Krueger M., Mages B., Hobusch C., Michalski D. Endothelial edema precedes blood-brain barrier breakdown in early time points after experimental focal cerebral ischemia. *Acta Neuropathologica Communications*. 2019; 7: 17. <https://doi.org/10.1186/s40478-019-0671-0>
8. Ding Y., Liu J., Xu Y., Dong X., Shao B. Evolutionary adaptation of Aquaporin-4 in Yak (Bos grunniens) brain to high-altitude hypoxia of Qinghai-tibetan plateau. *High altitude medicine & biology*. 2020; 21 (2). DOI: 10.1089/ham.2019.0076
9. Hinzman J.M., DiNapoli V.A., Mahoney E.J., Gerhardt G.A., Hartings J.A. Spreading depolarizations mediate excitotoxicity in the development of acute cortical lesions. *Exp Neurol*. 2015; 267: 243–253. DOI: 10.1016/j.expneurol.2015.03.014.
10. Dreier J.P., Lemale C.L., Kola V., Friedman A., Schoknecht K. Spreading depolarization is not an epiphenomenon but the principal mechanism of the cytotoxic edema in various gray matter structures of the brain during stroke. *Neuropharmacol*. 2018; 15 (134): 189–207. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2017.09.027.
11. Kvitnitskiy-Ryzhov Yu.N. Swelling and swelling of the brain. Kiev: «Zdorov'ya»; 1978: 184 [In Russ.].
12. Ito U., Hakamata Y., Kawakami E., Oyanagi K. Degeneration of astrocytic processes and their mitochondria in cerebral cortical regions peripheral to the cortical infarction: heterogeneity of their disintegration is closely associated with disseminated selective neuronal necrosis and maturation of injury. *Stroke*. 2009; 40 (6): 2173–2181. DOI: 10.1161/STROKEAHA.108.534990.
13. Morgun A.V., Malinovskaya N.A., Komleva Yu.K., Lopatina O.L., Kuvacheva N.V., Panina Yu.A., Taranushenko T.E., Solonchuk R.Yu., Salmina A.B. Structural and functional heterogeneity of astrocytes in the brain: role in neurodegeneration and neuroinflammation. *Byulleten' sibirskoy meditsiny*. 2014; 13 (5): 138–148 [In Russ.]. DOI: 10.20538/1682-0363-2014-5-138-148
14. Stepanov A.S., Akulinin V.A., Mysik A.V., Stepanov S.S., Avdeev D.B. Neuro-Glio-Vascular Complexes of the Brain After Acute Ischemia. *Obshchaya Reanimatologiya=General Reanimatology*. 2017; 13 (6): 6–17. [In Russ.]. DOI: 10.15360/1813-9779-2017-6-6-17
15. Pekny M., Pekna M. Astrocyte reactivity and reactive astrogliosis: costs and benefits. *Physiol Rev*. 2014; 94: 1077–1098. DOI: 10.1152/physrev.00041.2013
16. Bai J., Lyden P.D. Revisiting cerebral postischemic reperfusion injury: new insights in understanding reperfusion failure, hemorrhage, and edema. *International J. Stroke*. 2015; 10 (2): 143–152. DOI: 10.1111/ij.s.12434

17. Von Kummer R., Dzialowski I. Imaging of cerebral ischemic edema and neuronal death. *Neuroradiology*. 2017; 59 (6): 545–553. DOI: 10.1007/s00234-017-1847-6.
18. Бабкина А.С., Баева А.А., Баширова А.Р., Благодрагов М.Л., Голубев А.М., Гребенчиков О.А., Гречко А.В., Ершов А.В., Захарченко В.Е., Кузовлев А.Н., Муслимов Б.Г., Острова И.В., Перепелица С.А., Петрова М.В., Романова О.Л., Саидов Ш.Х., Силачев Д.Н., Сундукков Д.В., Телипов И.Н., Усманов Э.Ш., Хаджиева М.Б., Чурилов А.А., Шабанов А.К., Шевелев О.А. Биологические маркеры повреждения и регенерации центральной нервной системы. Москва: ООО «ВЦИ»; 2021: 432. ISBN 9785604415900.
19. Shi K., Tian De-Cai, Li Zhi-Guo, Ducruet A.F., Lawton M.T., Shi Fu-Dong. Global brain inflammation in stroke. *Lancet Neurol*. 2019; 18 (11): 1058–1066. DOI: 10.1016/S1474-4422 (19)30078-X.
20. Paxinos G., Watson C. The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates. 5th ed. San Diego: Elsevier Academic Press. 2005.
21. Herbert A.D., Carr A.M., Hoffmann E. FindFoci: a focus detection algorithm with automated parameter training that closely matches human assignments, reduces human inconsistencies and increases speed of analysis. *PLoS One*. 2014; 9 (12): e114749. DOI: 10.1371/journal.pone.0114749
22. Bolon B., Garman R., Jensen K., Krinke G., Stuart B. Best practices approach to neuropathologic assessment in developmental neurotoxicity testing. *Toxicol. Pathol.* 2006; 34 (3): 296–313. DOI: 10.1080/01926230600713269
23. Ooigawa H., Nawashiro H., Fukui S., Otani N, Osumi A, Toyooka T, Shima K. The fate of Nissl-stained dark neurons following traumatic brain injury in rats: difference between neocortex and hippocampus regarding survival rate. *Acta Neuropathol.* 2006; 112 (4): 471–481. DOI: 10.1007/s00401-006-0108-2
24. Боровиков В. Statistica. Искусство анализа данных на компьютере. Изд-во Питер; 2003: 2-ое изд.: 688.
25. Волкова Д.А., Косицын Н.С., Голобородько Е.В., Логинова Н.А., Свинов М.М. Электрофизиологические корреляты морфологических перестроек при моделировании локальной ишемии разной степени тяжести в сенсомоторной коре крыс. *Бюлл. Эксперим. Биол. Медиц.* 2013; 155 (2): 233–236. DOI: 10.1007 / s10517-013-2128-y
26. Степанов С.С., Акулинин В.А., Авдеев Д.Б., Степанов А.С., Горбунова А.В. Реорганизация астроцитов неокортекса белых крыс после 20-минутной окклюзии общих сонных артерий. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 2019; 105 (5): 578–590. DOI: 10.1134/S086981391905011X
27. Семченко В.В., Степанов С.С., Боголепов Н.Н. Синаптическая пластичность головного мозга (фундаментальные и прикладные аспекты). М.: Директ-Медиа; 2014.
17. Von Kummer R., Dzialowski I. Imaging of cerebral ischemic edema and neuronal death. *Neuroradiology*. 2017; 59 (6): 545–553. DOI: 10.1007/s00234-017-1847-6.
18. Babkina A.S., Baeva A.A., Bashirova A.R., Blagoravov M.L., Golubev A.M., Grebenchikov O.A., Grechko A.V., Ershov A.V., Zakharchenko V.E., Kuzovlev A.N., Muslimov B.G., Oстрова I.V., Perepelitsa S.A., Petrova M.V., Romanova O.L., Saidov Sh.Kh., Silachev D.N., Sundukov D.V., Teli-pov I.N., Usmanov E.Sh., Khadzhieva M.B., Churilov A.A., Shabanov A.K., Shevelev O.A. Biological markers of damage and regeneration of the central nervous system. Moscow: ООО «VTsi»; 2021: 432. ISBN 9785604415900 [In Russ.].
19. Shi K., Tian De-Cai, Li Zhi-Guo, Ducruet A.F., Lawton M.T., Shi Fu-Dong. Global brain inflammation in stroke. *Lancet Neurol*. 2019; 18 (11): 1058–1066. DOI: 10.1016/S1474-4422 (19)30078-X.
20. Paxinos G., Watson C. The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates. 5th ed. San Diego: Elsevier Academic Press. 2005.
21. Herbert A.D., Carr A.M., Hoffmann E. FindFoci: a focus detection algorithm with automated parameter training that closely matches human assignments, reduces human inconsistencies and increases speed of analysis. *PLoS One*. 2014; 9 (12): e114749. DOI: 10.1371/journal.pone.0114749.
22. Bolon B., Garman R., Jensen K., Krinke G., Stuart B. Best practices approach to neuropathologic assessment in developmental neurotoxicity testing. *Toxicol. Pathol.* 2006; 34 (3): 296–313. DOI: 10.1080/01926230600713269
23. Ooigawa H., Nawashiro H., Fukui S., Otani N, Osumi A, Toyooka T, Shima K. The fate of Nissl-stained dark neurons following traumatic brain injury in rats: difference between neocortex and hippocampus regarding survival rate. *Acta Neuropathol.* 2006; 112 (4): 471–481. DOI: 10.1007/s00401-006-0108-2
24. Bоровиков V. Statistica. The art of analyzing data on a computer. Publishing House «Piter»; 2003: 2<sup>nd</sup> ed.: 688 [In Russ.].
25. Volkova D.A., Kositsyn N.S., Goloborod'ko E.V., Loginova N.A., Svinov M.M. Electrophysiological correlations of morphological restructuring in experimental local ischemia of different severity in the rat sensorimotor cortex. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny= Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2013; 155 (2): 233–236 [In Russ.]. DOI: 10.1007 / s10517-013-2128-y
26. Stepanov S.S., Akulinin V.A., Avdeev D.B., Stepanov A.S., Gorbunova A.V. Reorganization of astrocytes of the neocortex of white rats after 20-minute occlusion of the common carotid arteries *Rossiiskij fiziologicheskij zhurnal im. I.M. Sechenova*. 2019; 105 (5): 578–590 [In Russ.]. DOI: 10.1134/S086981391905011X
27. Semchenko V.V., Stepanov S.S., Bogolepov N.N. Brain synaptic plasticity (fundamental and applied aspects). M.: Direct Media; 2014 [In Russ.].

Поступила 2021.06.10

Received 2021.06.10

## Памяти ОЛЬГИ АНАТОЛЬЕВНЫ ДОЛИНОЙ

13 сентября 2021 года на 92-м году ушла из жизни известный ученый, выдающийся анестезиолог-реаниматолог, заслуженный деятель науки Российской Федерации, доктор медицинских наук, профессор Ольга Анатольевна Долина.

Вся творческая жизнь Ольги Анатольевны связана с Первым Московским государственным медицинским университетом им. И. М. Сеченова. Научная и медицинская биография О.А. Долиной — это, по сути, биография становления и развития российской анестезиологии-реаниматологии. Профессор Ольга Анатольевна Долина своим многолетним творческим служением медицинской науке и практике внесла неоценимый вклад в ее дальнейшее развитие.

Ольга Анатольевна родилась 8 марта 1928 г. После окончания в 1951 году Харьковского медицинского института работала хирургом в медсанчасти металлургического завода «Красный октябрь» (г. Волгоград), на базе которой располагалась кафедра известного профессора Г. С. Топровера. Здесь она получила первые уроки в приобретении практических навыков и проведении научных исследований по профилактике осложнений спинальной анестезии.

В 1954 г. О. А. Долина поступает в клиническую ординатуру (1954–1957 гг.) от Мосгорздраотдела при больнице № 23, хирургическую службу которой возглавлял заведующий кафедрой общей хирургии 1-го Московского медицинского института им. И. М. Сеченова профессор В. И. Стручков. Будучи главным хирургом МЗ СССР и пионером легочной хирургии В. И. Стручков особое внимание уделяет подготовке кадров анестезиологов-реаниматологов. В 1957 г. при кафедре общей хирургии выделена аспирантура по анестезиологии, а в 1960 г. впервые в СССР утверждена штатная единица для преподавания основ анестезиологии-реаниматологии студентам 3-го курса. О. А. Долина осваивает новую специальность и после окончания аспирантуры (1957–1960 гг.) и защиты кандидатской диссертации, посвященной оптимизации методов анестезии при опера-



циях на легких, избирается в 1960 году первым преподавателем новой специальности студентам ВУЗа. В 1968 году она защищает докторскую диссертацию «Обезболивание и регуляция основных функций организма при оперативных вмешательствах на легких».

С 1960 г. О. А. Долина работает в Московском медицинском Университете им. И. М. Сеченова, последовательно занимая должности ассистента, доцента, профессора кафедры общей хирургии, с 1987 по 1999 гг. — заведующей кафедрой анестезиологии и реаниматологии, с 1999 г. — профессор этой же кафедры. Основными направлениями научных исследований О. А. Долиной являлись патофизиологическое обоснование, разработка методов общей анестезии и реанимации в хирургии легких, при экстренных хирургических вмешательствах у больных с высокой степенью операционного риска и пациентов в критических состояниях.

О. А. Долина одна из первых в нашей стране начала заниматься проблемами торакальной анестезиологии, впервые изучила влияние общих анестетиков и различных режимов искусственной вентиляции легких на кровообращение малого круга, обосновала и разработала показания к применению однологочной и двулегочной вентиляции в торакальной хирургии.

Широкую известность получили исследования О. А. Долиной по проблеме острой дыхательной недостаточности. Она считается пионером в теоретическом обосновании и практической разработке применения инертного газа гелия в комплексном лечении острой дыхательной недостаточности. В настоящее время предложенный О. А. Долиной метод гелиокислородной терапии применяется при реанимации новорожденных, у больных бронхиальной астмой, в горноспасательной службе, при различных критических состояниях.

Большое теоретическое и практическое значение имеют работы О. А. Долиной по разработке новых методов общей анестезии с применением адренергических средств, антагонистов кальция, препаратов агонического и антагонистического действия у больных с заболеваниями сердечно-сосудистой системы, что позволило снизить процент послеоперационных осложнений. Особого внимания заслуживают исследования по обоснованию и разработке программ инфузионно-трансфузионной терапии при шоке, острой кровопотере, по применению методов детоксикации, коррекции метаболических процессов. Внедрение предложенных методов в клиническую практику способствовало снижению осложнений и летальности у больных с нарушениями гомеостаза.

Результаты научных исследований О. А. Долиной нашли отражение в трех монографиях «Анестезиология и реаниматология в хирургии легких» (1975), «Клиническая патофизиология при хирургических заболеваниях» (1977), «Хронические нагноительные заболевания легких, осложненные кровотечением» (1985), в крупных разделах руководств БМЭ (1982–2015 гг.), справочниках, в 390 опубликованных работ, в докладах на различных конгрессах, в том числе Международных и Европейских. Целый ряд научных работ отмечен дипломами, медалями, грамотами (серебряная медаль на 48-м Всемирном салоне изобретений и открытий (Брюссель, 1999), две серебряные медали Европейской академии естественных наук (2006 и 2009).

На кафедре анестезиологии-реаниматологии под руководством О. А. Долиной продолжались научные исследования по совершенствованию методов анестезии и интенсивной терапии в специализированных разделах хирургии при неотложных состояниях в клинике внутренних болезней, эндокринологии, акушерстве и гинекологии, неврологии. В 1998 году под ее редакцией коллективом кафедры анесте-

зиологии и реаниматологии издан учебник «Анестезиология и реаниматология» для студентов медицинских ВУЗов, который получил высокую оценку, дополнен и переиздан в 2002, 2006 и 2009 гг. При научном консультировании и руководстве О. А. Долиной защищено 15 докторских и 59 кандидатских диссертаций, многие ее ученики возглавляют кафедры, институты, отделы научно-исследовательских учреждений, крупных многопрофильных больниц.

Большую роль в развитии анестезиологии-реаниматологии в нашей стране сыграла организационно-методическая работа О. А. Долиной. Она была главным специалистом — анестезиологом Горздравотдела г. Москвы с 1960 по 1968 гг., в течение 25 лет (1968–1993) — главным специалистом-анестезиологом Минздрава РСФСР, с 1993 по 2006 гг. — председателем проблемной учебно-методической комиссии по анестезиологии-реаниматологии при Всероссийском УНМЦ МЗ РФ. В течение длительного времени (1972–2006 гг.) выполняла большую работу в качестве члена и Ученого секретаря Экспертного совета ВАК РФ. Ольга Анатольевна принимала активное участие в создании и работе Правления Всесоюзного, Всероссийского и Московского научных обществ анестезиологов и реаниматологов. Она была избрана Почетным членом ряда научных обществ как в России, так и за рубежом, О. А. Долина активно работала в течение многих лет в редколлегии журналов «Хирургия», «Анестезиология и реаниматология», «Общая реаниматология».

Неутомимая самоотверженная деятельность Ольги Анатольевны, ее смелость и решительность в науке и медицинской практике — образец беззаветного служения делу и Отечеству. Ее талант Ученого, Клинициста, Наставника, Организатора и личное обаяние, снискали признание, уважение и любовь всех, кому посчастливилось общаться и работать с ней.

В памяти коллег и друзей Ольга Анатольевна остается доброжелательным, исключительно порядочным, высоко эрудированным человеком, одаренным ученым и педагогом.

*НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского  
Федерального научно-клинического центра реаниматологии и реабилитологии и редакция журнала «Общая реаниматология»  
выражают искренние соболезнования родным и близким Ольги Анатольевны Долиной и скорбят вместе с ними.*

---

**Памяти  
ИВАНА ВАСИЛЬЕВИЧА  
ЯРЕМЫ**

---

17 октября 2021 года на 84-м году жизни скончался доктор медицинских наук, член-корреспондент РАН, почетный декан лечебного факультета и профессор кафедры госпитальной хирургии Ярема Иван Васильевич (16.05.1938 — 17.10.2021).

Иван Васильевич с сентября 1970 года по настоящее время работал на кафедре госпитальной хирургии Московского государственного медико-стоматологического университета им. А. И. Евдокимова (МГМСУ им. А. И. Евдокимова), был членом редколлегии рецензируемого научно-практического журнала «Общая реаниматология» и членом диссертационного совета на базе Федерального научно-клинического центра реаниматологии и реабилитологии (ФНКЦ РР).

Иван Васильевич более 30 лет являлся деканом лечебного факультета МГМСУ им. А. И. Евдокимова. Под его руководством подготовлено 117 кандидатов медицинских наук и 42 доктора медицинских наук, он являлся автором свыше 500 научных работ по хирургии и лимфологии.

Ивана Васильевича отличали человеколюбие и доброжелательность, неизменные жизнелюбие и чувство юмора. Он трепетно относился к памяти своих учителей, любил учеников и был проводником знаний и традиций для коллег и студентов.



Иван Васильевич навсегда останется в памяти коллег и учеников как мудрый, светлый и отзывчивый человек и наставник.

*Редакция журнала «Общая реаниматология», коллектив Федерального научно-клинического центра реаниматологии и реабилитологии (ФНКЦ РР) выражают искренние соболезнования родным, близким и коллегам Ивана Васильевича и скорбят вместе с ними.*

## 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](http://www.reanimatology.com)).

— Рукописи публикуются с соблюдением норм авторского права и конфиденциального отношения к персональным данным авторов.

— Рукописи публикуются бесплатно.

— Рукописи, принятые в журнал, проходят рецензирование на оригинальность, этичность, значимость, адекватность статистической обработки данных на условиях конфиденциальности за исключением выявления фальсификации данных.

— Редколлегия оставляет за собой право сокращать и редактировать рукописи.

#### Причины снятия с печати и задержки публикации рукописи

— Рукописи, не соответствующие профилю журнала, не принимаются.

— Рукописи, ранее опубликованные, а также направленные в другой журнал или сборник, не принимаются. 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](mailto:journal_or@mail.ru); [www.reanimatology.com](http://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.

Далее см. на сайте [www.reanimatology.com](http://www.reanimatology.com).



Федеральное государственное бюджетное  
научное учреждение «Федеральный  
научно-клинический центр реаниматологии  
и реабилитологии» (ФНКЦ РР)

# Симуляционный центр ФНКЦ РР

## Лаборатория перспективных симуляционных технологий

### СИМУЛЯЦИОННЫЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНЫЕ ПРОГРАММЫ:

- / Первая помощь
- / Подготовка инструкторов первой помощи
- / Базовая сердечно-легочная реанимация
- / Расширенная сердечно-легочная реанимация
- / Ультразвуковой мониторинг и навигация в анестезиологии-реаниматологии
- / Трудный дыхательный путь
- / Респираторная поддержка
- / Критические состояния в анестезиологии-реаниматологии
- / Подготовка к первичной специализированной аккредитации
- / Обучение преподавателей симуляционных центров

*Все образовательные программы обеспечены баллами НМО  
Возможно формирование образовательных циклов по требованию*



Тел.: 8(495)650-96-77  
[www.fnkcr.ru/edu](http://www.fnkcr.ru/edu)  
[edu@fnkcr.ru](mailto:edu@fnkcr.ru)



Федеральный научно-клинический центр реаниматологии и реабилитологии (ФНКЦ РР)



Научно-исследовательский институт общей реаниматологии имени В.А. Неговского ФНКЦ РР



XXIII Всероссийская конференция с международным участием

# ЖИЗНЕОБЕСПЕЧЕНИЕ ПРИ КРИТИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЯХ

12-13 ноября 2021 | Москва

## ТЕМАТИКИ КОНФЕРЕНЦИИ

- острая дыхательная недостаточность, ИВЛ, внелегочная оксигенация;
- острые расстройства гемодинамики, вспомогательное кровообращение;
- структурно-функциональные изменения ЦНС при критических состояниях;
- инфекционные осложнения в реаниматологии. Сепсис;
- экстракорпоральные методы детоксикации в реаниматологии;
- проблема гемостаза в анестезиологии-реаниматологии;
- механизмы развития критических состояний
- травма, кровопотеря, шок;
- анестезиология-реаниматология в специализированных областях (педиатрия, акушерство-гинекология, сердечно-сосудистая хирургия, нейрохирургия и др.);
- экспериментальные исследования в анестезиологии-реаниматологии;
- генетические и молекулярные механизмы критических состояний;
- образовательные технологии в анестезиологии-реаниматологии;
- ранняя реабилитация в реаниматологии.

## ФОРМАТ И МЕСТО ПРОВЕДЕНИЯ

Очно - на площадке РУДН  
г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6

Онлайн - на платформе  
<https://criticalconf.ru>

## CRITICALCONF.RU

Тел.: +7 (499) 390 34 38  
E-mail: [criticalconf@confreg.org](mailto:criticalconf@confreg.org)



Федерация анестезиологов и реаниматологов



Ассоциация акушерских анестезиологов-реаниматологов



Кафедра анестезиологии и реаниматологии с курсом медицинской реабилитации Российского университета дружбы народов



Кафедра анестезиологии и реаниматологии Московского государственного медико-стоматологического университета имени А.И. Евдокимова



Общество по изучению шока (Россия)



Национальный совет по реанимации



Ассоциация анестезиологов и реаниматологов Узбекистана