



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

ОБЩАЯ РЕАНИМАТОЛОГИЯ

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

GENERAL REANIMATOLOGY

Scientific-and-Practical Journal

Том 21

Volume 21

№ 3

2025

Директор Федерального научно-клинического центра реаниматологии и реабилитологии (ФНКЦ РР) А. В. Гречко избран Академиком РАН

Директор Федерального научно-клинического центра реаниматологии и реабилитологии (ФНКЦ РР) Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, член-корреспондент РАН Андрей Вячеславович Гречко избран Академиком РАН по специальности медико-социальная реабилитация и медико-социальная экспертиза!

Академик РАН — член высшей ступени РАН, ученый, внесший значительный вклад в науку трудами первостепенного научного значения в различных областях знания.

В Академики РАН на выборах 2025 г. было избрано 84 человека, членами-корреспондентами РАН стали 165 ученых. Средний возраст избранных Академиков РАН составил 64,27 лет, членов-корреспондентов РАН — 58,22 лет.

Гречко Андрей Вячеславович — российский ученый, врач высшей категории, доктор медицинских наук, профессор, Академик РАН, специалист в области медико-социальной реабилитации и медико-социальной экспертизы, заведующий кафедрой медико-социальной экспертизы и медико-социальной реабилитации Российского государственного социального университета (РГСУ), член диссертационного совета 24.1246.02 ФНКЦ РР, автор 390 научных работ, из них 18 монографий, суммарное количество цитирований которых в настоящее время превышает 7576 (индекс Хирша РИНЦ — 41, Scopus — 34), имеет 28 патентов, в том числе 5 свидетельств о государственной регистрации программ для ЭВМ и 1 базы данных.

Основные научные результаты А. В. Гречко:

- реализована научно обоснованная разработанная инновационная национальная система этапной нейрореабилитации реанимационных пациентов с тяжелым повреждением головного мозга, нуждающихся в длительном протезировании жизненно-важных функций, позволяющая снизить летальность с доказанной экономической эффективностью;
- сформировано новое научное направление — ранняя медико-социальная реабилитация пациентов с тяжелым повреждением головного мозга, нуждающихся в замещении жизненно важных функций, в том числе ветеранов СВО и лиц, пострадавших на линии боевого соприкосновения;
- разработаны новые методы лечения и реабилитации (новые органопротекторы, технологии фагопрофилактики и фаготерапии, инвазивной нейрореабилитации) на основе изучения общепатологических механизмов развития хронических критических состояний.

Гречко А. В. является экспертом РАН, членом Экспертного совета Министерства Обороны Российской Федерации, Экспертного совета при Комитете Государственной Думы по охране здоровья, Экспертного



совета по здравоохранению при Комитете Совета Федерации по социальной политике, Экспертного совета по здравоохранению Совета Федерации Федерального Собрания Российской Федерации, Общественного совета при Росздравнадзоре, Общественного совета при Росотрудничестве МИД России, Общероссийской общественной организации «Федерация анестезиологов и реаниматологов», входит в состав Президиума Союза реабилитологов России, редколлегии 6 научных медицинских журналов.

Гречко А. В. удостоен многих государственных наград и знаков отличия, в числе которых Почетный работник науки и высоких технологий Российской Федерации, лауреат Премии Правительства Российской Федерации, Медаль ордена «За заслуги перед Отечеством» II степени, Орден Мужества, Орден Пирогова.

В 2023 г. совместно с Общероссийским Народным фронтом и Государственным фондом «Защитники отечества» А. В. Гречко создана программа «Возвращение», имеющая целью создание системы эффективной медицинской помощи ветеранам СВО с тяжелыми ранениями головного мозга и максимальную их адаптацию к мирной жизни.

В настоящее время ФНКЦ РР оказывает практическую помощь и поддержку по решению вопросов оказания качественной первичной медико-санитарной и специализированной, в том числе высокотехнологичной, медицинской помощи пострадавшим в ходе проведения СВО. Применение уникальной системы маршрутизации позволяет не только сохранить качество жизни нашим ветеранам, но и обеспечить их эффективную социализацию.

Решение об избрании А. В. Гречко Академиком РАН было поддержано подавляющим большинством на Общем собрании РАН в знак признания его значительного вклада в развитие медицинской науки.

Поздравляем Андрея Вячеславовича с заслуженным высшим научным званием, желаем новых побед и свершений на благо нашей Родины!

С глубоким уважением,
Редакция журнала «Общая реаниматология»

ОБЩАЯ РЕАНИМАТОЛОГИЯ

OBŠAĀ REANIMATOLOGIĀ

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, 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 журнал «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 (ФНКЦ РР), Москва, Россия

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 Resuscitologists

GENERAL REANIMATOLOGY

OBŠCHAYA REANIMATOLOGIYA

Scientific-and-Practical Peer-Reviewed Journal
Since 2005

- Covers issues of critical care medicine
- Manuscripts in Russian and English are published free-of-charge
- Included in SCOPUS (since 2015), RINTs, RSCI, DOAJ, and other databases, as well as in the Official list of editions recommended for publication of dissertations (PhD, DSci) by the Russian Higher Attestation Commission

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 (ФНКЦ РР), Москва, Россия

Publisher:

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

РЕДАКТОРЫ

В. В. МОРОЗ, главный редактор, член-корр. РАН, профессор, Федеральный научно-клинический центр реаниматологии и реабилитологии (г. Москва, Россия)

А. Н. КУЗОВЛЕВ, заместитель главного редактора, д. м. н., НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского ФНКЦ РР (г. Москва, Россия)

А. М. ГОЛУБЕВ, заместитель главного редактора, д. м. н., профессор, НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского ФНКЦ РР (г. Москва, Россия)

В. Т. ДОЛГИХ, заместитель главного редактора, д. м. н., профессор, НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского ФНКЦ РР (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 РР (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, Приволжский исследовательский медицинский университет (г. Нижний Новгород, Россия)

Ж.-Л. ВИНСЕНТ, профессор, Больница Эрасме Университета Либре (г. Брюссель, Бельгия)

А. В. ГРЕЧКО, Академик РАН, профессор, Федеральный научно-клинический центр реаниматологии и реабилитологии (г. Москва, Россия)

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

EDITORS

Viktor V. MOROZ, Editor-in-Chief, MD, PhD, DSci, 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, DSci, V. A. Negovsky Research Institute of Reanimatology, Federal Research and Clinical Center of Intensive Care Medicine and Rehabilitation (Moscow, Russia)

Arkady M. GOLUBEV, Deputy Editor-in-Chief, MD, PhD, DSci, Professor, Federal Research and Clinical Center of Intensive Care Medicine and Rehabilitation (Moscow, Russia)

Vladimir T. DOLGIH, Deputy Editor-in-Chief, MD, PhD, DSci, 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, DSci, N. I. Pirogov Moscow City Hospital №1 (Moscow, Russia)

Vladimir M. PISAREV, Scientific Editor, MD, PhD, DSci, 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, DSci, Professor, Privolzhsky Research Medical University (Nizhniy Novgorod, Russia)

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

Andrey V. GRECHKO, PhD, DSci, Professor, Member of RAS, Federal Research and Clinical Center of Intensive Care Medicine and Rehabilitation (Moscow, Russia)

Evgeny V. GRIGORYEV, MD, PhD, DSci, Professor, Corr. Member of RAS, Research Scientific Institute of Clinical Studies of complex problems of cardiovascular diseases, Siberian Branch, RAS (Kemerovo, Russia)

А. Ш. ЖУМАДИЛОВ, д. м. н., профессор, Национальный координационный центр экстренной медицины (г. Астана, Казахстан)
И. Б. ЗАБОЛОТСКИХ, д. м. н., профессор, Кубанский государственный медицинский университет (г. Краснодар, Россия)
М. Н. ЗАМЯТИН, д. м. н., профессор, Институт усовершенствования врачей Национального медико-хирургического Центра им. Н. И. Пирогова Минздрава России (г. Москва, Россия)
Б. ЗАУГЕЛЬ, д. м. н., профессор, клиника анестезиологии-реаниматологии Гамбургского Университета (г. Гамбург, Германия)
Н. А. КАРПУН, д. м. н., Городская клиническая больница № 68 (г. Москва, Россия)
М. Ю. КИРОВ, член-корр. РАН, 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 (г. Питтсбург, США)
Дж. ЛАНДОНИ, профессор, Университет Вита-Салуте 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)
С. С. ПЕТРИКОВ, Академик РАН, д. м. н., профессор, Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н. В. Склифосовского Департамента здравоохранения г. Москвы, (Москва, Россия)
В. И. РЕШЕТНЯК, д. м. н., профессор, Российский Университет Медицины Минздрава России (г. Москва, Россия)
В. В. РИМАСHEВСКИЙ, д. м. н., доцент, Белорусский Государственный медицинский университет (г. Минск, Беларусь)
Д. М. САБИРОВ, д. м. н., профессор, Ташкентский институт усовершенствования врачей (г. Ташкент, 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)

М. В. ПИСАРЕВ, к. м. н., доцент, НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского ФНКИЦ РР, переводчик и редактор английских текстов (г. Москва, Россия)
М. Я. ЯДГАРОВ, к. м. н., НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского ФНКИЦ РР рецензент методов статистической обработки данных (г. Москва, Россия)
О. Н. СЫТНИК, к. м. н., библиограф, НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского ФНКИЦ РР (г. Москва, Россия)
Н. В. ГОЛУБЕВА, к. б. н., НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского ФНКИЦ РР, ответственный секретарь (г. Москва, Россия)

Оригинал-макет: Н. В. Голубева

Верстка: С. В. Шишков

Типография: отпечатано в ООО «Авансед солюшнз». 119071, г. Москва, Ленинский пр-т, д. 19, стр. 1. www.aov.ru

Контакты с редакцией:

Россия, 107031, г. Москва, ул. Петровка, д. 25, стр. 2.

Тел.: +7-495-694-17-73.

E-mail: journal_or@mail.ru;

сайт: www.reanimatology.com

Доступ к контенту: открытый под лицензией Creative Commons Attribution 4.0 License

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

Цена свободная

Подписано в печать: 23.06.2025

Agzam Sh. ZHUMADILOV, MD, Professor, National Coordination Center for Emergency Medicine (Astana, Kazakhstan)

Igor B. ZABOLOTSKIИ, MD, PhD, DSci, Professor, Kuban State Medical University (Krasnodar, Russia)

Michael N. ZAMYATIN, MD, PhD, DSci, Professor, Institute for Advanced Medical Studies, N. I. Pirogov National Medical Surgical Center, Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

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

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

Mikhail Yu. KIROV, MD, DSci, Professor, Corr. Member of RAS, Northern State Medical University (Arkhangelsk, Russia)

Igor A. KOZLOV, MD, PhD, DSci, Professor, M. F. Vladimirovsky 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, DSci, Professor, I. I. Mechnikov North-Western Medical University (St. Petersburg, Russia)

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

Svetlana A. PEREPELTSА, MD, DSci, I. Kant Baltic Federal University (Kaliningrad, Russia)

Sergey S. PETRIKOV, DSci, Professor, Member of RAS, N.V. Sklifosovsky Research Institute of Emergency Medicine, Moscow City Health Department (Moscow, Russia)

Vasily I. RESHETNYAK, MD, PhD, DSci, Professor, Russian University of Medicine, Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Vladislav V. RIMASHEVSKY, MD, PhD, Associate Professor, Belarusian State Medical University (Minsk, Belarus)

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

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

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

Mikhail V. PISAREV, Translator and English Text Editor, MD, PhD, associate professor, V. A. Negovsky Scientific Research Institute of General Reanimatology, Federal Research and Clinical Center of Intensive Care Medicine and Rehabilitology (Moscow, Russia)

Mikhail Ya. YADGAROV, Statistical Data Reviewer, PhD, MD with advanced diploma in computer science, V. A. Negovsky Scientific Research Institute of General Reanimatology, Federal Research and Clinical Center of Intensive Care Medicine and Rehabilitology (Moscow, Russia)

Oksana N. SYTNIK, Bibliographer, PhD, V. A. Negovsky Scientific Research Institute of General Reanimatology, Federal Research and Clinical Center of Intensive Care Medicine and Rehabilitology (Moscow, Russia)

Natalya V. GOLUBEVA, Managing Editor, PhD, V. A. Negovsky Scientific Research Institute of General Reanimatology, Federal Research and Clinical Center of Intensive Care Medicine and Rehabilitology (Moscow, Russia)

Artwork: Natalia V. Golubeva

Page-proof: Sergey V. Shishkov

Printing House: Printed at LLC «Advanced Solutions». 19, Leninsky prospekt, build. 1, Moscow, 119071. www.aov.ru

Contacts: 25 Petrovka Str., Bldg. 2, 107031 Moscow, Russia. Tel. +7-495-694-17-73.

E-mail: journal_or@mail.ru;

Web: www.reanimatology.com

Open Access Journal under a Creative Commons Attribution 4.0 License

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

Signed for printing: 23.06.2025

СОДЕРЖАНИЕ

CONTENTS

КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

CLINICAL STUDIES

- Влияние инфузионной терапии на развитие метаболических нарушений и длительность пребывания в ОРИТ пациентов детского возраста, оперируемых по поводу врожденных пороков сердца
Н. А. Соловьев, М. М. Рыбка, Д. А. Дибин, Г. Е. Горбунов, С. М. Цой, З. А. Кодзокова, А. А. Гончаров
- 4 The Effect of Fluid Therapy on the Development of Metabolic Disturbances and ICU Length of Stay in Pediatric Patients Undergoing Surgery for Congenital Heart Defects
Nikolay A. Solovyov, Mikhail M. Rybka, Denis A. Dibin, Gleb E. Gorbunov, Sofya M. Tsoi, Zera A. Kodzokova, Andrey A. Goncharov

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

EXPERIMENTAL STUDIES

- Параметры микроциркуляции в коже как диагностические маркеры нарушения центрального и церебрального кровообращения при геморрагическом шоке
И. А. Рыжков, Н. В. Голубова, К. Н. Лапин, С. Н. Калабушев, В. В. Дрёмин, Е. В. Потاپова, А. В. Дунаев, В. Т. Долгих, В. В. Мороз
- 11 Skin Microcirculatory Parameters as Diagnostic Markers of Central and Cerebral Circulatory Disorders in Hemorrhagic Shock
Ivan A. Ryzhkov, Nadezhda V. Golubova, Konstantin N. Lapin, Sergey N. Kalabushev, Viktor V. Dremmin, Elena V. Potapova, Andrey V. Dunaev, Vladimir T. Dolgikh, Viktor V. Moroz
- Влияние ксенона на содержание ГСК-3 β , NF- κ B и Nrf2 в головном мозге крыс (экспериментальное исследование)
Е. Е. Беда, М. В. Габитов, И. В. Редкин, И. А. Крюков, О. А. Гребенчиков
- 26 The Effects of Xenon on GSK-3 β , NF- κ B, and Nrf2 Levels in the Rat Brain: An Experimental Study
Evgeniy E. Beda, Mikhail V. Gabitov, Ivan V. Redkin, Ivan A. Kryukov, Oleg A. Grebenchikov
- Влияние интерлейкина-6 и гипоксии на экспрессию белков-маркеров повреждения головного мозга в клеточной модели нейроваскулярной единицы
А. А. Ивкин, Е. В. Григорьев, Е. Д. Хилашьева
- 32 The Impact of Interleukin-6 and Hypoxia on the Expression of Brain Injury Marker Proteins in a Cellular Model of the Neurovascular Unit
Artem A. Ivkin, Evgeniy V. Grigoriev, Elena D. Khilazheva
- Оценка структурных изменений мембран нейтрофилов под действием сыворотки от новорожденных пациентов с воспалительным процессом
В. А. Иноземцев, И. В. Образцов, Е. А. Шерстюкова, С. С. Кандрашина, М. А. Шведов, М. Е. Докукин, В. А. Сергунова
- 41 Changes in Neutrophil Membranes Induced by Plasma from Newborns with Infection
Vladimir A. Inozemtsev, Igor V. Obraztsov, Ekaterina A. Sherstyukova, Snezhanna S. Kandrashina, Mikhail A. Shvedov, Maxim E. Dokukin, Viktoria A. Sergunova

ОБЗОРЫ И КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

REVIEWS & SHORT COMMUNICATIONS

- Сепсис — краткий обзор основных понятий
П. Г. Мальков, Г. А. Франк
- 51 Sepsis: A Brief Overview of the Key Concepts
Pavel G. Malkov, Georgy A. Frank

Влияние инфузионной терапии на развитие метаболических нарушений и длительность пребывания в ОРИТ пациентов детского возраста, оперируемых по поводу врожденных пороков сердца

Н. А. Соловьев^{1,2*}, М. М. Рыбка¹, Д. А. Дибин¹,
Г. Е. Горбунов¹, С. М. Цой¹, З. А. Кодзокова¹, А. А. Гончаров¹

¹ Национальный медицинский исследовательский центр сердечно-сосудистой хирургии им. А. Н. Бакулева Минздрава России,

Россия, 121552, г. Москва, Рублевское шоссе, д. 135

² Детская городская клиническая больница № 9 им. Г. Н. Сперанского Департамента здравоохранения г. Москвы, Россия, 123317, г. Москва, Шмитовский пр., д. 29

Для цитирования: Н. А. Соловьев, М. М. Рыбка, Д. А. Дибин, Г. Е. Горбунов, С. М. Цой, З. А. Кодзокова, А. А. Гончаров. Влияние инфузионной терапии на развитие метаболических нарушений и длительность пребывания в ОРИТ пациентов детского возраста, оперируемых по поводу врожденных пороков сердца. *Общая реаниматология*. 2025; 21 (3): 4–10. <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2025-3-2555> [На русск. и англ.]

*Адрес для корреспонденции: Николай Александрович Соловьев, N.A.Solovev@yandex.ru

Резюме

Цель работы. Сравнить влияние рестриктивного и либерального подхода к инфузионной терапии на длительность искусственной вентиляции легких (ИВЛ), общее время пребывания в ОРИТ, потребность в кардиотонической и вазопрессорной поддержке в постперфузионном периоде и в течение 1-х суток после операции у детей раннего возраста, оперируемых по поводу врожденных пороков сердца (ВПС).

Материал и методы. Выполнили рандомизированное, проспективное, одноцентровое исследование. В него включили пациентов с врожденными пороками сердца (ВПС), разделенных на две группы: в 1-й группе пациенты получали инфузионную терапию по рестриктивному протоколу (группа РП, $n=65$) — 8 мл/кг/ч, во 2-й группе использовали либеральный протокол (группа ЛП, $n=67$) — 16 мл/кг/ч. Изучали динамику метаболических нарушений, продолжительность респираторной поддержки, постоперационную прибавку в весе и сроки пребывания больных в ОРИТ.

Результаты. Продолжительность ИВЛ и общее время нахождения в ОРИТ были больше в группе РП по сравнению с группой ЛП: 14 ± 5 ч vs 10 ± 3 ч ($p=0,035$) и 23 ± 2 ч vs 27 ± 4 ч ($p=0,036$), соответственно. При этом среднее значение процентного прироста веса в группе ЛП составило 2,00%, vs 0,32% в группе РП ($p=0,001$). В обеих группах не отмечали значимых метаболических и электролитных нарушений, за исключением уровня ионов K^+ в группе ЛП.

Заключение. Результаты противоречат данным, полученным при исследовании взрослых пациентов с ВПС. При либеральном подходе к инфузионной терапии у детей раннего возраста продолжительность ИВЛ и общее время нахождения в ОРИТ оказались меньше, чем при рестриктивном. Дети раннего возраста наиболее чувствительны к объему инфузионной терапии, потребность в преднагрузке жидкостью у детей выше, чем у взрослых.

Ключевые слова: инфузионная терапия; интенсивная терапия; детская кардиохирургия; искусственное кровообращение; врожденные пороки сердца

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов. Предварительные результаты были опубликованы в сборнике тезисов XVII Международной (XXVI Всероссийской) Пироговской научной медицинской конференции студентов и молодых ученых — Москва: ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н. И. Пирогова Минздрава России, 2022; 138 с. С. 22. ISBN 978-5-88458-591-1

The Effect of Fluid Therapy on the Development of Metabolic Disturbances and ICU Length of Stay in Pediatric Patients Undergoing Surgery for Congenital Heart Defects

Nikolay A. Solovyov^{1,2*}, Mikhail M. Rybka¹, Denis A. Dibin¹, Gleb E. Gorbunov¹,
Sofya M. Tsoi¹, Zera A. Kodzokova¹, Andrey A. Goncharov¹

¹ A. N. Bakulev National Medical Research Center for Cardiovascular Surgery, Russian Ministry of Health, 135 Rublevskoe shosse, 121552 Moscow, Russia

² G. N. Speransky Children's City Clinical Hospital No. 9, Moscow Health Department, 29 Shmitovskiy pr., 123317 Moscow, Russia

Summary

Aim: to compare the effects of restrictive versus liberal fluid therapy on the duration of mechanical ventilation (MV), total intensive care unit (ICU) stay, and the need for inotropic and vasopressor support during

the post-perfusion period and the first 24 hours after surgery in young children undergoing surgical correction of congenital heart defects (CHD).

Materials and Methods. A prospective, randomized, single-center study included pediatric patients (toddlers) with CHD who were assigned to one of two groups. Group 1 received fluid therapy according to a restrictive protocol (RP group, $N=65$) at 8 mL/kg/h, while group 2 received therapy according to a liberal protocol (LP group, $N=67$) at 16 mL/kg/h. The study evaluated the dynamics of metabolic disturbances, duration of ventilatory support, postoperative weight gain, and total ICU stay.

Results. Mechanical ventilation time and total ICU stay were longer in the RP group compared to the LP group: 14 ± 5 hours vs. 10 ± 3 hours ($P=0.035$) and 27 ± 4 hours vs. 23 ± 2 hours ($P=0.036$), respectively. Mean postoperative weight gain in the LP group was 2.00% vs 0.32% in the RP group ($P=0.001$). No clinically significant metabolic or electrolyte disturbances were observed in either group, except for elevated K^+ ion levels in the LP group.

Conclusion. These findings contradict previously reported data in adult population with CHD. In toddlers, a liberal approach to fluid therapy resulted in shorter duration of ventilation and ICU stay compared to a restrictive approach. Toddlers are more sensitive to fluid volume and their preload requirements are higher than those of adults.

Keywords: *fluid therapy; intensive care; pediatric cardiac surgery; cardiopulmonary bypass; congenital heart defects*

Funding. This study did not receive any external funding.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest. Preliminary results were published in the Abstract Book of the XVII International (XXVI All-Russian) Pirogov Scientific Medical Conference for Students and Young Scientists. Moscow: Pirogov Russian National Research Medical University, Ministry of Health of Russia; 2022. p. 22. ISBN: 978-5-88458-591-1.

Информация об авторах/Information about the authors:

Николай Александрович Соловьев/Nikolay A. Solovyov: <http://orcid.org/0000-0002-8409-7254>

Михаил Михайлович Рыбка/Mikhail M. Rybka: <http://orcid.org/0000-0001-8206-8794>

Денис Андреевич Дибин/Denis A. Dibin: <http://orcid.org/0000-0002-4161-7416>

Глеб Евгеньевич Горбунов/Gleb E. Gorbunov: <http://orcid.org/0000-0003-3274-4517>

Софья Михайловна Цой/Sofya M. Tsoi: <http://orcid.org/0000-0002-2733-0355>

Зера Аниуаровна Кодзокова/Zera A. Kodzokova: <http://orcid.org/0000-0003-3330-9971>

Андрей Андреевич Гончаров/Andrey A. Goncharov: <http://orcid.org/0000-0003-2122-7813>

Read the full-text English version at www.reanimatology.com

Введение

В исследованиях последних лет доказано существенное влияние инфузионной терапии на непосредственные результаты оперативного лечения и клинические исходы у больных в различных областях хирургии [1–3]. В настоящее время выделяют три стратегии инфузионной терапии: с ограничением внутривенного введения жидкости (рестриктивный), не подразумевающий строго лимита внутривенной инфузии (либеральный), и целенаправленный «goal-directed» — это избегание как гиповолемии, так и гиперволемии [4, 5].

У каждого из этих подходов есть свои недостатки. У рестриктивного подхода — это необходимость в применении вазопрессоров, которые, согласно ряду исследований, вызывают нарушения периферического кровотока и в ряде случаев это приводит к дисфункции анастомоза [6, 7]. Либеральный подход не учитывает толерантность к анемии, также при гиперволемии высока вероятность возникновения ятрогенных отеков [8]. При целенаправленной инфузионной терапии возникает потребность в применении инвазивных методов (PICCO, Swan–Ganz, установка левопредсердного катетера, мониторинг ЦВД), либо специальных неинвазивных методов (USCOM), требующих от анестезиолога специальных навыков. Все

ранее перечисленное является предметом дискуссий и сложной, нерешенной проблемой в анестезиологии-реаниматологии [9, 10].

В зарубежных рекомендациях для оценки степени волемии делается акцент на инструментальных методах, основанных на определении линейной или объемной скорости кровотока, правда, с оговоркой «при наличии технической возможности» [11]. У детей раннего возраста возможность применения инструментальных, в особенности инвазивных, методов ограничена, хотя исследования подтверждают, что разница показателей, полученных инвазивными методами и ЭхоКГ, составляет не менее 30% [12]. В то же время такие физикальные методы, как взвешивание и строгий учет потерянной и перелитой жидкости, могут существенно упростить диагностику волемического статуса.

В большом количестве исследований уделяется внимание инфузионной терапии в неонатологии и педиатрии, в то время как дети раннего возраста по трофическим потребностям намного опережают неонатальную категорию, но еще не достигают возраста тех, кого обычно включают в педиатрические исследования.

Цель работы — сравнить влияние рестриктивного и либерального подхода к инфузионной терапии на длительность искусственной вентиляции легких (ИВЛ), общее время пребывания

в ОРИТ, потребность в кардиотонической и вазопрессорной поддержке в постперфузионном периоде и в течение 1-х суток после операции у детей раннего возраста, оперируемых по поводу врожденных пороков сердца (ВПС).

Материал и методы

После одобрения локального этического комитета (Протокол №001 от 30.01.2020) провели одноцентровое, проспективное, рандомизированное исследование. Предварительную регистрацию проспективного исследования на Clinical Trials не проводили.

Данное исследование являлось рандомизированным, проспективным, наблюдательным. В него включили пациентов раннего детского возраста, оперированных по поводу септальных пороков сердца в период с февраля 2020 г. по февраль 2022 г. в отделении детей раннего возраста (ДРВ) Национального медицинского исследовательского центра сердечно-сосудистой хирургии им. А. Н. Бакулева Минздрава России. Для анализа применяли только рег-protocol (PP). Все пациенты имели 3–4-ю группу риска по шкале ASA, I–II класс функциональной недостаточности кровообращения по NYHA, оценку сложности по Aristotel 1–2 балла из 6, ожидаемое время в ОРИТ 1–3 суток. Пациентам, включенным в данное исследование, выполняли радикальную коррекцию пороков: пластику/ушивание дефекта межпредсердной перегородки (ДМПП), пластику/ушивание дефекта межжелудочковой перегородки (ДМЖП).

Критериями включения в исследование являлись:

- Возраст от 11 до 36 месяцев, отсутствие соматических заболеваний.
- Наличие информированного согласия родителей или иного представителя, установленного законом, на участие в исследовании.
- Наличие врожденного порока сердца, требующего хирургической коррекции в условиях искусственного кровообращения.
- Отсутствие предшествующих операций на открытом сердце (перед коррекцией ДМЖП не производили суживание (операция Muller) легочной ар-

терии (ЛА), в анамнезе не было попыток эндоваскулярного закрытия дефекта).

Критериями исключения из исследования являлись:

- Наличие тяжелой генетической патологии.
- Массивная кровопотеря.
- Экстренное оперативное вмешательство.
- Тяжелые сопутствующие заболевания.
- Рестернотомия в течении 1-х п/о суток.
- Повторное начало искусственного кровообращения, ввиду низкого сердечного выброса в постперфузионном периоде.

Авторами была выдвинута гипотеза, что либеральная стратегия инфузионной терапии не менее эффективна, чем рестриктивная.

Пациентов разделили на две группы, в зависимости от объема интраоперационной инфузии. В 1-й группе пациенты получали инфузионную терапию по рестриктивному протоколу — 8 мл/кг/ч (группа РП, $n=65$), во 2-й группе использовали либеральный протокол — 16 мл/кг/ч (группа ЛП, $n=67$) (рис. 1). Рандомизацию проводили методом конвертов за день до оперативного вмешательства.

В ходе исследования 8 пациентов исключили по следующим причинам: потребность в инфузии адреналина (4), нарушение ритма после сведения грудины (2), АВ-блокада и потребность в ЭКС после ИК (1), анафилактическая реакция на введение протамина (1).

Восстановление и стабилизацию гемодинамики после окончания ИК осуществляли путем адекватной волемической нагрузки и подбором дозы инотропного препарата, при этом допамин применяли в дозировках от 3 мкг/кг/мин до 6 мкг/кг/мин. В группе РП после перфузии всем пациентам требовалось применение норадреналина в дозировке от 0,03 мкг/кг/мин до 0,05 мкг/кг/мин. В 31% случаев вазопрессорная поддержка сохранялась до перевода в ОРИТ.

Анестезиологическое обеспечение у исследуемых больных осуществляли по принятому в клинике протоколу в обеих группах:

Индукция анестезии — мидазолам 0,2 мг/кг, пропофол 2 мг/кг, рокуроний 1 мг/кг, фентанил 5 мкг/кг.

Поддержание анестезии — севофлуран 1–1,2 МАК, фентанил 5 мкг/кг/ч, рокуроний 0,5 мг/кг/ч.

Перед началом перфузии пациенты обеих групп получали натрия оксидат в дозировке 80–120 мг/кг.

Поддержание анестезии во время ИК — инсуффляция Изофлорана 2 об% в оксигенатор аппарата ИК, фентанил 3 мкг/кг/ч, рокуроний 0,5 мг/кг/ч.

ИК проводили согласно протоколу, принятому в Центре, с поддержанием перфузионного индекса — 2,8–3,2 л/мин/м², нормотермии — 36°C. Для остановки сердечной деятельности и защиты миокарда использовали кровяную кардиopleгию.



Рис. 1. Схема включения пациентов в исследование.

Всем больным проводили забор артериальной крови с определением концентрации глюкозы, лактата, показателей кислотно-основного (рН, ВЕ, HCO_3^-), электролитного (Na^+ , K^+ , Cl^-) и газового (PO_2 , PCO_2 , SO_2) состава крови после интубации трахеи, после начала экстракорпоральной перфузии и после ее окончания, после сведения грудины, при поступлении в ОРИТ и каждые последующие 3 ч в течение первых 12 ч после окончания операции, к 18 ч послеоперационного периода и в конце 1-х послеоперационных суток.

Всем пациентам для учета баланса жидкости проводили трехкратное взвешивание, для анализа принимали среднее значение. Взвешивание производили в операционной перед кожным разрезом, после интубации трахеи и постановки всех катетеров, а также перед выездом пациентов в ОРИТ. После первого взвешивания, полученный вес сравнивали с весом, указанным в истории болезни.

Для обработки полученных данных применяли пакет прикладной статистики SPSS version 11.5 for Windows (SPSS Inc, Chicago, IL), а также аналитические приложения к программе Excel 2016. Размер выборки предварительно не рассчитывали. Нормальность распределения данных проверяли с помощью критерия Шапиро–Уилка. Для описательной статистики использовали параметрические методы: среднее значение, стандартное отклонение (*SD*); две независимые группы по одному признаку сравнивали по *t*-критерию Стьюдента для независимых выборок, использовали *t*-критерий Стьюдента для парных наблюдений, одновыборочный *t*-Стьюдента для сравнения выборки с нормативными значениями, критерий Манна–Уитни для сравнения двух независимых групп, критерий Фридмана для множественного сравнения связанных выборок, качественные переменные (пол) сравнивали с использованием критерия χ^2 Пирсона. Данные считали статистически значимыми при значении $p \leq 0,05$. Результаты представили в виде диаграмм и графиков.

Результаты

Пациенты обеих групп были сопоставимы по полу, времени искусственного кровообращения, времени пережатия аорты, сложности хирургического вмешательства, срокам восстановления сердечной деятельности в постперфузионном периоде (табл. 1, 2).

В постперфузионном и раннем послеоперационном периодах оценивали КОС ($\text{pH} < 7,36$, $\text{BE} < -2,5$ ммоль/л, $\text{HCO}_3^- < 22$ ммоль/л). При меж-

Таблица 1. Сравнительная характеристика больных двух групп по полу.

Пол, n (%)	РП, n=65	ЛП, n=67	p (критерий χ^2)
Мужской	32 (49)	33 (49)	0,876
Женский	33 (51)	34 (51)	

групповом сравнении на всех этапах наблюдения не обнаружили статистически значимых отличий в частоте развития метаболических нарушений ($p > 0,05$). Различия содержания электролитов и электролитов в крови, кроме ионов K^+ , при межгрупповом сравнении на каждом этапе наблюдения оказались не значимы ($p > 0,05$). Значимые различия содержания K^+ в крови выявили между РП и ЛП группами на исходном этапе ($p = 0,007$) и в ОРИТ ($p = 0,002$) (табл. 3).

Таким образом, использование стерофундина для сохранения электролитного состава крови может быть вполне достаточно при условии использования препаратов крови для заполнения контура аппарата ИК, так как он полностью сбалансирован по своему электролитному составу, что подтверждают более ранние исследования [13–14]. В группе ЛП выявили значимую динамику изменений PO_2/FiO_2 ($p = 0,002$): самые низкие значения PO_2/FiO_2 регистрировали после ИК — 3,8, а самые высокие — исходные (4,3) и через 3 ч после ОРИТ — 4,23. В группе РП динамика изменений PO_2/FiO_2 была незначима ($p = 0,289$). При межгрупповом сравнении изменения оказались статистически не значимы (табл. 4).

Умеренная гиперволемиа не нарушала оксигенирующую функцию легких, хотя скорость инфузионной терапии в группах отличалась в 2 раза (8 мл/кг/ч против 16 мл/кг/ч). Режимы и параметры вентиляции были одинаковы в сравниваемых группах. Продолжительность ИВЛ и общее время нахождения в ОРИТ были больше в группе РП по сравнению с группой ЛП: 14 ± 5 ч против $10,3 \pm 4$ ч ($p = 0,022$) и $27,5 \pm 4$ ч против 23 ± 2 ч ($p = 0,036$), соответственно (критерий Манна–Уитни).

Отдельного внимания требует правильное определение веса у пациентов. Детей раннего возраста стоит взвешивать в операционной для избегания ошибок между фактической массой тела и массой тела, указанной в истории болезни. На вес рассчитывается объем вентиляции, дозировка кардиотоников, миорелаксантов, опиоидных анальгетиков, антибиотиков

Таблица 2. Сравнительная характеристика больных двух групп.

Показатели	Значения показателей в группах		p
	РП, n=65	ЛП, n=67	
Возраст, мес	19,4±8,6	19,8±8,8	0,920
Рост, см	82,5±7,9	80,5±7,0	0,903
Массы тела, кг по истории ИБ	10,17±1,9	10,7±2,1	0,518
Массы тела, кг интраоперационно	10,1±1,7	9,8±1,7	0,801
Время ИК, мин	48,12±3,15	43,07±10,2	0,735
Время пережатия аорты, мин	23,6±8,7	20,06±8,1	0,013**
Объем кровопотери, мл	148,1±27,2	150,2±31,2	0,638

Примечание. ** — различия значимы на уровне $p \leq 0,01$ (критерий Манна–Уитни).

и других препаратов, скорость перфузии и инфузии, диуреза и кровопотери. Среднее значение процентного прироста веса в группе ЛП было выше, чем в группе РП: 2,00% vs 0,32% ($p=0,001$) (табл. 5).

Линейную отрицательную связь выявили только между разницей в весе и временем ИВЛ в ОРИТ ($r=-0,160$; $p=0,039$): при прибавке веса уменьшалась длительность ИВЛ в ОРИТ (табл. 6).

Для исследования отбирали пациентов с септальными пороками, так как они широко распространены в популяции пациентов с ВПС, сопровождаются, как правило, гемодинамической стабильностью и в преобладающем большинстве случаев поддаются успешной радикальной коррекции (рис. 2).

Изменения волемического статуса по типу гиповолемии являются одной из главных причин

Таблица 3. Анализ различий и изменений содержания метаболитов и электролитов в артериальной крови.

Показатели	Группа	Значения показателей на этапах исследования				<i>p</i>
		исходно	после ИК	в ОРИТ	через 3 часа	
рН	РП	7,44±0,05	7,41±0,15	7,44±0,08	7,39±0,09	1,1×10 ^{-5**}
	ЛП	7,39±0,06	7,41±0,05	7,45±0,06	7,40±0,05	1,1×10 ^{-5**}
<i>p</i>		0,375*	0,681*	0,458*	0,301*	
НСО ₃ ⁻ , ммоль/л	РП	20,94±2,46	23,49±2,40	23,76±2,96	22,59±2,50	1,3×10 ^{-12**}
	ЛП	20,90±2,65	24,56±2,50	24,53±2,59	23,07±2,75	5,6×10 ^{-13**}
<i>p</i>		0,875*	0,116*	0,305*	0,477*	
O _{см}	РП	283,55±35,65	294,28±6,00	296,43±6,60	296,63±6,71	6,4×10 ^{-13**}
	ЛП	288,18±4,90	293,07±7,02	295,85±7,13	297,38±15,55	6,8×10 ^{-10**}
<i>p</i>		0,766*	0,436*	0,608*	0,311*	
ВЕ, ммоль/л	РП	-3,2±1,8	-0,3±2,1	0,5±2,3	-1,3±0,7	1,2×10 ^{-15**}
	ЛП	-3,1±0,17	-0,3±0,19	1,18±0,4	-0,7±0,19	1,2×10 ⁻¹¹
<i>p</i>		0,982*	0,338*	0,309*	0,104*	
Na ⁺ , ммоль/л	РП	135,68±18,32	139,67±3,10	141,31±3,53	140,46±3,70	3,9×10 ^{-7**}
	ЛП	135,11±5,19	137,16±2,07	139,13±2,19	138,21±3,16	1,8×10 ^{-10**}
<i>p</i>		0,940*	0,647*	0,809*	0,395*	
K ⁺ , ммоль/л	РП	3,82±0,39	4,1±0,31	3,77±0,35	3,78±0,28	3,0×10 ^{-6**}
	ЛП	3,65±0,29	4,16±0,29	4,04±0,36	3,51±0,29	9,4×10 ^{-7**}
<i>p</i>		0,007**	0,246*	0,002**	0,568*	
Cl ⁻ , ммоль/л	РП	113,23±3,97	111,06±2,68	111,76±3,77	110,19±2,90	3,6×10 ^{-8**}
	ЛП	112,35±3,08	110,57±3,47	110,98±3,35	110,33±3,00	7,6×10 ^{-4**}
<i>p</i>		0,395*	0,480*	0,377*	0,579*	
Лактат, ммоль/л	РП	1,01±0,30	1,69±0,64	1,49±0,73	1,70±1,02	3,5×10 ^{-13**}
	ЛП	0,94±0,30	1,60±0,57	1,32±0,61	1,55±0,89	3,7×10 ^{-15**}
<i>p</i>		0,198*	0,351*	0,238*	0,426*	
Глюкоза, ммоль/л	РП	4,54±0,92	6,72±1,28	6,24±1,57	8,14±2,60	1,2×10 ^{-22**}
	ЛП	4,61±0,89	6,72±1,22	6,00±1,31	9,34±3,91	5,2×10 ^{-18**}
<i>p</i>		0,651*	0,936*	0,445*	0,065*	

Примечание. Различия значимы на уровне $p \leq 0,05$ (* — критерий Манна-Уитни; ** — критерий Фридмана).

Таблица 4. Динамика изменений отношения PO₂/FiO₂ в крови между группами.

Показатели	Группа	Значения показателей на этапах исследования				<i>p</i>
		исходно	после ИК	в ОРИТ	через 3 часа	
PO ₂ /FiO ₂	РП	4,60±0,82	4,05±0,53	4,14±0,4	4,23±0,41	0,289**
	ЛП	4,30±1,10	3,80±0,41	4,10±0,42	4,21±0,45	0,002**
<i>p</i>		0,174*	0,307*	0,280*	0,151*	

Примечание. * — критерий Манна-Уитни; ** — критерий Фридмана.

Таблица 5. Прибавка в весе после операции в двух группах.

Показатели	Значения показателей в группах		<i>p</i>
	РП, <i>n</i> =65	ЛП, <i>n</i> =67	
Вес исходный, кг	11,22±2,80	11,04±2,89	0,396
Вес после операции, кг	11,26±2,89	11,26±2,92	0,704
<i>p</i> критерий Уилкоксона	0,332	3,1×10 ^{-7*}	
Разница в весе абсолютная	0,05±0,03	0,22±0,03	0,002*
Прирост веса, %	0,32±0,29	2,00±0,27	0,001*

Примечание. * — различия значимы на уровне $p \leq 0,01$ (критерий Манна-Уитни).

Таблица 6. Анализ связи прироста веса с длительностью ИВЛ и общим временем пребывания в ОРИТ.

Показатели в ОРИТ	Статистический критерий	Показатели веса	
		Прирост	Процент прибавки
Время на ИВЛ, ч	<i>r</i> Спирмена	-0,160*	-0,119
	<i>p</i>	0,039	0,128
Длительность пребывания, ч	<i>r</i> Спирмена	0,047	0,041
	<i>p</i>	0,551	0,603

Примечание. Связь значима на уровне $p \leq 0,05$.

нестабильной гемодинамики у пациентов, оперируемых по поводу септальных и других врожденных пороков сердца. Поскольку операции на открытом сердце сопряжены со значимыми изменениями волемии, сосудистого тонуса, то оптимизация периоперационной инфузионной терапии и учета кровопотери занимает важное место в работе анестезиолога–реаниматолога. Излишняя волемическая нагрузка, как и гиповолемиа увеличивают риск развития послеоперационных осложнений. Дефицит жидкости также может возникать при отсутствии очевидных потерь, вследствие вазодилатации, перспирации, гемодилюции.

Исследование показало, что при либеральном подходе снижается время нахождения в ОРИТ пациентов раннего детского возраста. Компенсаторные системы у детей недостаточно сформированы, а противоположные результаты в исследованиях подходов к ИТ у больных с приобретенными пороками сердца (ППС) можно объяснить тяжестью их исходной патологии. В одном из ретроспективных исследований [15] пациенты получали рестриктивную инфузионную терапию ввиду наличия отеков, застойной сердечной недостаточности.

Оксигенирующая функция легких статистически значимо не отличалась при обоих подходах к инфузионной терапии, при этом в обеих группах сохранялись одинаковые параметры вентиляции. Исходя из полученных данных, инфузионная терапия по либеральному типу не приводит к нарушению оксигенирующей функции легких, не ограничивает раннюю активизацию и экстубацию трахеи у данной категории пациентов.

При выборе стратегии инфузионной терапии у детей раннего возраста мнения противоречивы. В послеоперационном периоде у детей с врожденными пороками сердца всегда есть риски перегрузки жидкостью, которая, как известно, связана с неблагоприятными исходами. Исследователи указывают, что прирост баланса жидкости на более, чем 10% от исходного веса после кардиохирургических операций связан с неблагоприятными исходами [16–19]. Так, в одноцентровом исследовании M. R. Hudkins и соавт. [19] накопление жидкости на ранних стадиях послеоперационного пребывания в ОРИТ связано с большей смертностью и продолжительностью искусственной вентиляции легких. В метаанализе Ioannis Bellos [20], в которое было включено двенадцать исследований из электронных баз: Edline, Scopus, CENTRAL, Clinicaltrials.gov и Google Scholar (в общей сложности 3111 педиатрических пациентов) получены схожие данные.

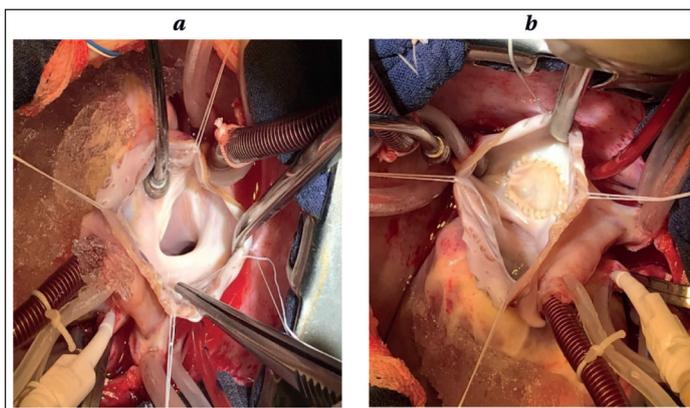


Рис. 2. ДМПП до коррекции (а) и после пластики (б).

В исследовании M. R. Delpachitra [21] из 1 996 детей с положительным гидробалансом 46 умерли (2,3%), среди которых у 45 (98%) по данным многофакторного анализа летальный исход был связан с увеличением времени искусственного кровообращения (10-минутное увеличение, отношение шансов [95% ДИ] 1,06 [1,00–1,12]; $p=0,03$), а также с потребностью в экстракорпоральной мембранной оксигенации в течение раннего послеоперационного периода. Таким образом, данная перегрузка жидкостью не связана с летальностью, но связана с увеличением продолжительности искусственной вентиляции легких и продолжительности пребывания в отделении ОРИТ. В многоцентровом исследовании, включавшем 2223 пациента [22], время до первого отрицательного суточного баланса жидкости, но не процентная перегрузка жидкостью, оказалось связано с улучшением результатов послеоперационного периода у детей после операции на сердце. Специальные методы лечения, направленные на деэскалацию жидкости, могут сократить продолжительность послеоперационного наблюдения таких пациентов в ОРИТ. Все авторы сходятся во мнении, что для диагностики перегрузки жидкостью на ранних сроках после кардиохирургических вмешательств необходимо ежедневное взвешивание пациентов. При этом практика различных медицинских учреждений в данном вопросе значительно различается. Пациенты с повышенной тяжестью заболевания реже подвергаются взвешиванию [23]. Ключевыми рекомендациями являются использование изотонических сбалансированных растворов и регулярный мониторинг концентрации электролитов и глюкозы в плазме крови, баланса жидкости [24].

Заключение

У больных с ВПС, получающих инфузионную терапию по либеральному протоколу, в постперфузионном и раннем послеоперационном периоде не нарушается оксигени-

рующая функция легких, а также отсутствуют значимые метаболические и электролитные нарушения по сравнению с группой, получавших инфузионную терапию по рестриктив-

Литература

1. Mathew A., Rai E. Pediatric perioperative fluid management. *Saudi J Anaesth.* 2021; 15 (4): 435–440. DOI: 10.4103/sja.sja_140_21. PMID: 34658733.
2. Myles P. S., McLroy D. R., Bellomo R., Wallace S. Importance of intraoperative oliguria during major abdominal surgery: findings of the Restrictive versus Liberal Fluid Therapy in Major Abdominal Surgery trial. *Br J Anaesth.* 2019; 122 (6): 726–733. DOI: 10.1016/j.bja.2019.01.010. PMID: 30916001.
3. Anker A. M., Ruelle M., Prantl L., Baringer M., Pawlik M. T., Zeman F., Goetze L., et al. Biomarker-guided acute kidney injury risk assessment under liberal versus restrictive fluid therapy — the prospective-randomized MAYDAY-trial. *Sci Rep.* 2024; 14 (1): 17094. DOI: 10.1038/s41598-024-68079-2. PMID: 39048691.
4. Mathew P. J., Sharma S., Bhardwaj N., Ashok V., Malik M. A. Goal-directed fluid therapy guided by Plethysmographic Variability Index (PVI) versus conventional liberal fluid administration in children during elective abdominal surgery: a randomized controlled trial. *J Pediatr Surg.* 2023; 58 (4): 735–740. DOI: 10.1016/j.jpedsurg.2022.11.015. PMID: 36631313.
5. Feng J., Kant S., Sellke F. W. Microvascular dysfunction following cardioplegic arrest and cardiopulmonary bypass. *Vessel Plus.* 2021; 5: 30. DOI: 10.20517/2574-1209.2021.57.
6. Guarracino F., Habicher M., Treskatsch S., Sander M., Szekely A., Paternoster G., Salvi L., et al. Vasopressor therapy in cardiac surgery — an Experts' Consensus Statement. *J Cardiothorac Vasc Anesth.* 2021; 35 (4): 1018–1029. DOI: 10.1053/j.jvca.2020.11.032. PMID: 33334651.
7. Zieg J., Narla D., Gonsorcikova L., Raina R. Fluid management in children with volume depletion. *Pediatr Nephrol.* 2024; 39 (2): 423–434. DOI: 10.1007/s00467-023-06080-z. PMID: 37452205.
8. Старостин Д. О., Кузовлев А. Н. Роль ультразвука в оценке волемического статуса пациентов в критических состояниях. *Вестник интенсивной терапии имени А. И. Салтанова.* 2018; 4: 42–50. *Starostin D. O., Kuzovlev A. N.* Role of ultrasound in diagnosing volume status in critically ill patients. *Ann Crit Care = Vestnik Intenzivnoy Terapii im A. I. Saltanova.* 2018; 4: 42–50. (In Russ.). DOI: 10.21320/1818-474X-2018-4-42-50.
9. Lobdell K. W., Chatterjee S., Sander M. Goal-directed therapy for cardiac surgery. *Crit Care Clin.* 2020; 36 (4): 653–662. DOI: 10.1016/j.ccc.2020.06.004. PMID: 32892819.
10. Habicher M., Perrino A. Jr., Spies C. D., von Heymann C., Wittkowski U., Sander M. J. Contemporary fluid management in cardiac anesthesia. *J Cardiothorac Vasc Anesth.* 2011; 25 (6): 1141–1153. DOI: 10.1053/j.jvca.2010.07.020. PMID: 20947379.
11. Кодзюкова З. А., Ломакин М. В., Рыбка М. М., Дибин Д. А. Интраоперационное измерение центральной гемодинамики методом термодилуции с использованием катетера Swan–Ganz у пациента с исправленной транспозицией магистральных артерий. *Клиническая физиология кровообращения.* 2020; 17 (2): 142–147. *Kodzokova Z. A., Lomakin M. V., Rybka M. M., Dibin D. A.* Intraoperative central hemodynamics measurement by thermodilution technique using a Swan–Ganz catheter in a patient with corrected transposition of the great arteries. *Clinical Physiology of Blood Circulation = Klinicheskaya Fiziologiya Krovoobrashcheniya.* 2020; 17 (2): 142–147. (In Russ.). DOI: 10.24022/1814-6910-2020-17-2-142-147.
12. Langer T., D'Oria V., Spolidoro G. C. I., Chidini G., Catenacci S., Marchesi T., Guerrini M., et al. Fluid therapy in mechanically ventilated critically ill children: the sodium, chloride and water burden of fluid creep. *BMC Pediatr.* 2020; 20 (1): 424. DOI: 10.1186/s12887-020-02322-3. PMID: 32891127.
13. Сулайманова Ж. Д., Лазарев В. В. Кристаллоидные препараты в инфузионной терапии периоперационного периода у детей. *Российский вестник детской хирургии, анестезиологии и реаниматологии.* 2019; 4: 99–107. *Sulaimanova Z. D., Lazarev V. V.* Crystalloid agents used in perioperative infusion therapy in children. *Russian Bulletin of Pediatric Surgery, Anesthesia and Intensive Care = Rossiyskiy Vestnik Detskoy Khirurgii Anesteziologii i Reanimologii.* 2019; 4: 99–107. (In Russ.). DOI: 10.30946/2219-4061-2019-9-4-99-107.
14. Ушкалова Е. А., Зырянов С. К., Затолочина К. Э., Бутранова О. И. Инфузионные растворы: взгляд клинического фармаколога.

ному протоколу. Прибавка в весе не удлиняет время ИВЛ и общее время нахождения в ОРИТ у пациентов после радикальной коррекции септальных пороков.

- Анестезиология и реаниматология.* 2021; (6): 100–106. *Ushkalova E. A., Zyryanov S. K., Zatolochina K. E., Butranova O. I.* Infusion fluids: a clinical pharmacologist's view. *Russian Journal of Anaesthesiology and Reanimatology = Anesteziologiya i Reanimatologiya.* 2021; (6): 100–106. (In Russ.) DOI: 10.17116/anaesthesiology2021061100.
15. Белоусова Е. И., Матинян Н. В., Мартынов Л. А. Стратегия инфузионно-трансфузионной терапии при операциях с массивной кровопотерей у детей с опухолями торакоабдоминальной локализации. *Российский вестник детской хирургии, анестезиологии и реаниматологии.* 2018; 8 (2): 56–64. *Belousova E. I., Matinyan N. V., Martynov L. A.* Strategy of infusion-transfusion therapy in operations with massive bloodwork in children with tumor abomalomal localization tumors. *Russian Bulletin of Pediatric Surgery, Anesthesia and Intensive Care = Rossiyskiy Vestnik Detskoy Khirurgii Anesteziologii i Reanimologii.* 2018; 8 (2): 56–64. (In Russ.). DOI: 10.30946/2219-4061-2018-8-2-56-64.
 16. Хинчагов Д. Я., Рыбка М. М., Мумладзе К. В., Голубев Е. П., Юдин Г. В., Айдашев Ю. Ю., Ворожжа И. В. Выбор стратегии инфузионной терапии при операциях аортокоронарного шунтирования без искусственного кровообращения. *Клиническая физиология кровообращения.* 2022; 19 (4): 338–48. *Khinchagov D. Ya., Rybka M. M., Mumladze K. V., Golubev E. P., Yudin G. V., Aidashv Yu. Y., Vorozhka I. V.* Choosing an infusion therapy strategy for coronary artery bypass surgery without artificial circulation. *Clinical Physiology of Blood Circulation = Klinicheskaya Fiziologiya Krovoobrashcheniya.* 2022; 19 (4): 338–48. (In Russ.). DOI: 10.24022/1814-6910-2022-19-4-338-348.
 17. Sümpelmann R., Zander R., Witt L. Perioperative Infusionstherapie bei Kindern. *Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther.* 2020; 55 (5): 324–333. DOI: 10.1055/a-1068-8566. PMID: 32434263.
 18. Brandewie K. L., Selewski D. T., Bailly D. K., Bhat P. N., Diddle J. W., Ghbeis M., Krawczeski C. D., et al; NEPHRON investigators. Early postoperative weight-based fluid overload is associated with worse outcomes after neonatal cardiac surgery. *Pediatr Nephrol.* 2023; 38 (9): 3129–3137. DOI: 10.1007/s00467-023-05929-7. PMID: 36973562.
 19. Hudkins M. R., Miller-Smith L., Evers P. D., Muralidaran A., Orwoll B. E. Nonresuscitation fluid accumulation and outcomes after pediatric cardiac surgery: single-center retrospective cohort study. *Pediatr Crit Care Med.* 2023; 24 (12): 1043–1052. DOI: 10.1097/PCC.0000000000003373. PMID: 37747301.
 20. Bellos I., Iliopoulos D. C., Perrea D. N. Association of postoperative fluid overload with adverse outcomes after congenital heart surgery: a systematic review and dose-response meta-analysis. *Pediatr Nephrol.* 2020; 35 (6): 1109–1119. DOI: 10.1007/s00467-020-04489-4. PMID: 32040627.
 21. Delpachitra M. R., Namachivayam S. P., Millar J., Delzoppo C., Butt W. W. A case-control analysis of postoperative fluid balance and mortality after pediatric cardiac surgery. *Pediatr Crit Care Med.* 2017; 18 (7): 614–622. DOI: 10.1097/PCC.0000000000001170. PMID: 28492405.
 22. Bailly D. K., Alten J. A., Gist K. M., Mah K. E., Kwiatkowski D. M., Valentine K. M., Diddle J. W., et al; NEPHRON Investigators. Fluid accumulation after neonatal congenital cardiac operation: clinical implications and outcomes. *Ann Thorac Surg.* 2022; 114 (6): 2288–2294. DOI: 10.1016/j.athoracsur.2021.12.078. PMID: 35245511.
 23. Neumayr T. M., Alten J. A., Bailly D. K., Bhat P. N., Brandewie K. L., Diddle J. W., Ghbeis M., et al; NEPHRON Investigators. Assessment of fluid balance after neonatal cardiac surgery: a description of intake/output vs. weight-based methods. *Pediatr Nephrol.* 2023; 38 (4): 1355–1364. DOI: 10.1007/s00467-022-05697-w. PMID: 36066771.
 24. Brossier D. W., Tume L. N., Briant A. R., Chaparro C. J., Moullet C., Rooze S., Verbruggen S. C. A. T., et al; Metabolism Endocrinology and Nutrition section of the European Society of Pediatric and Neonatal Intensive Care (ESPNIC). ESPNIC clinical practice guidelines: intravenous maintenance fluid therapy in acute and critically ill children — a systematic review and meta-analysis. *Intensive Care Med.* 2022; 48 (12): 1691–1708. DOI: 10.1007/s00134-022-06882-z. PMID: 36289081.

Поступила 18.12.2024

Принята 11.04.2025

Принята в печать 19.05.2025

Параметры микроциркуляции в коже как диагностические маркеры нарушения центрального и церебрального кровообращения при геморрагическом шоке (экспериментальное исследование)

И. А. Рыжков^{1*}, Н. В. Голубова^{1,2}, К. Н. Лапин¹, С. Н. Калабушев¹, В. В. Дрёмин², Е. В. Потапова², А. В. Дунаев², В. Т. Долгих¹, В. В. Мороз¹

¹ НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского
Федерального научно-клинического центра реаниматологии и реабилитологии,
Россия, 107031, г. Москва, ул. Петровка, д. 25, стр. 2

² Орловский государственный университет им. И. С. Тургенева,
Россия, 302026, г. Орел, ул. Комсомольская, д. 95

Для цитирования: И. А. Рыжков, Н. В. Голубова, К. Н. Лапин, С. Н. Калабушев, В. В. Дрёмин, Е. В. Потапова, А. В. Дунаев, В. Т. Долгих, В. В. Мороз. Параметры микроциркуляции в коже как диагностические маркеры нарушения центрального и церебрального кровообращения при геморрагическом шоке (экспериментальное исследование). *Общая реаниматология*. 2025; 21 (3): 11–25. <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2025-3-2559> [На русск. и англ.]

*Адрес для корреспонденции: Иван Александрович Рыжков, riamed21@gmail.com

Резюме

Цель исследования — оценить связь параметров микроциркуляции в коже с параметрами центрального и церебрального кровообращения при прогрессирующей кровопотере.

Материалы и методы. Рандомизированное проспективное контролируемое экспериментальное исследование *in vivo*. Эксперименты провели на крысах-самцах линии Wistar (250–350 г, $n=23$), которых разделили на две группы: «геморрагический шок» (ГШ, $n=13$) с кровопотерей сначала 15% ОЦК, затем 35% от расчетного объема циркулирующей крови (ОЦК), и «ложно-оперированные» животные (ЛО, $n=10$). После комбинированной анестезии, катетеризации бедренной артерии и краниотомии на этапе 1 измеряли среднее артериальное давление ($АД_{cp}$), перфузию коры головного мозга ($LSCI_{brain}$) и кожи задней конечности ($LSCI_{skin}$) методом лазерной спекл-контрастной визуализации (ЛСКВ). Измерения повторяли после кровопотери 15% ОЦК (этап 2) и 35% ОЦК (этап 3). Рассчитывали индексы церебральной ($CVC_{brain}=LSCI_{brain}/АД_{cp}$) и кожной ($CVC_{skin}=LSCI_{skin}/АД_{cp}$) сосудистой проводимости, а на этапе 3 дополнительно оценивали параметр постокклюзионной реактивной гиперемии (PORH) в коже задней конечности. Статистический анализ данных проводили в программе STATISTICA 13.0 с применением непараметрических методов. Взаимосвязь исследуемых параметров кровообращения оценивали с помощью коэффициента корреляции Спирмена (r).

Результаты. Кровопотеря 15% ОЦК привела к снижению $LSCI_{skin}$ на 26% ($p=0,003$ vs ЛО) без существенного изменения $LSCI_{brain}$. При утяжелении кровопотери и снижении $LSCI_{skin}$ на 43% ($p<0,001$ vs ЛО) $LSCI_{brain}$ уменьшался на 14% ($p<0,001$ vs ЛО). Эти изменения сопровождались устойчивым повышением CVC_{brain} ($p<0,001$ vs ЛО на этапе 3) без компенсаторных реакций кожной сосудистой проводимости на кровопотерю (CVC_{skin} значимо не изменялась на протяжении эксперимента). В группе ГШ после кровопотери снизилась амплитуда PORH в коже ($p=0,003$ vs ЛО), но увеличился резерв микрососудистого кровотока ($p=0,036$ vs ЛО). До кровопотери обнаружили положительную корреляцию средней силы параметров $LSCI_{skin}$ и CVC_{skin} с параметром CVC_{brain} . При ГШ $LSCI_{brain}$ коррелировала ($r=0,57$, $p=0,041$) со степенью снижения $LSCI_{skin}$, а резерв кожного микрососудистого кровотока имел сильную положительную корреляцию ($r=0,84$, $p=0,001$) с уровнем pH и BE артериальной крови. Характер корреляции $LSCI_{skin}$ и $АД_{cp}$ менялся со средней отрицательной на этапе 1 до сильной положительной на этапе 3.

Закключение. Параметры кожной микроциркуляции ($LSCI_{skin}$, CVC_{skin} и параметры PORH), оцененные методом ЛСКВ, являются перспективными диагностическими маркерами нарушения центрального и церебрального кровообращения при прогрессирующей кровопотере, требующие дальнейшей валидации.

Ключевые слова: микроциркуляция; кожа; головной мозг; кровопотеря; лазерная спекл-контрастная визуализация

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование выполнено при поддержке Российского научного фонда в рамках проекта № 24-25-00310.

Skin Microcirculatory Parameters as Diagnostic Markers of Central and Cerebral Circulatory Disorders in Hemorrhagic Shock (An Experimental Study)

Ivan A. Ryzhkov^{1*}, Nadezhda V. Golubova^{1,2}, Konstantin N. Lapin¹,

Sergey N. Kalabushev¹, Viktor V. Dremin², Elena V. Potapova²,
Andrey V. Dunaev², Vladimir T. Dolgikh¹, Viktor V. Moroz¹

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

² Orel State University,
95 Komsomolskaya Str., 302026 Orel, Russia

Summary

The aim of the study was to evaluate the relationship between skin microcirculatory parameters and central and cerebral hemodynamic parameters during progressive blood loss.

Materials and Methods. A randomized, prospective, controlled in vivo experimental study was performed using male Wistar rats (250–350 g, $N=23$) divided into two groups: «hemorrhagic shock» (HS, $N=13$), with blood loss of 15% and subsequently 35% of estimated circulating blood volume (CBV), and «sham-operated» controls (SO, $N=10$). After combined anesthesia, femoral artery catheterization, and craniotomy, the following were measured at baseline (stage 1): mean arterial pressure (MAP), cortical cerebral perfusion ($LSCI_{brain}$), and skin perfusion in the hindlimb ($LSCI_{skin}$) using laser speckle contrast imaging (LSCI). These measurements were repeated after 15% CBV loss (stage 2) and 35% CBV loss (stage 3). Cerebral ($CVC_{brain}=LSCI_{brain}/MAP$) and cutaneous ($CVC_{skin}=LSCI_{skin}/MAP$) vascular conductance indices were calculated. At stage 3, parameters of post-occlusive reactive hyperemia (PORH) in hindlimb skin were additionally assessed. Statistical analysis was performed using STATISTICA 13.0 with non-parametric methods. Spearman's correlation coefficient (R) was used to assess associations between circulatory parameters.

Results. A 15% CBV loss led to a 26% reduction in $LSCI_{skin}$ ($P=0.003$ vs SO), with no significant change in $LSCI_{brain}$. With further blood loss and a 43% reduction in $LSCI_{skin}$ ($P<0.001$ vs SO), $LSCI_{brain}$ decreased by 14% ($P<0.001$ vs SO). These changes were accompanied by a sustained increase in CVC_{brain} ($P<0.001$ vs SO at stage 3), while CVC_{skin} remained unchanged throughout the experiment. In the HS group, blood loss led to a significant decrease in PORH amplitude ($P=0.003$ vs SO), while microvascular flow reserve increased ($P=0.036$ vs SO). Before blood loss, moderate positive correlations were found between $LSCI_{skin}$, CVC_{skin} , and CVC_{brain} . In HS, $LSCI_{brain}$ correlated with the degree of $LSCI_{skin}$ reduction ($R=0.57$, $P=0.041$), and skin microvascular flow reserve showed a strong positive correlation with arterial blood pH and base excess (BE) ($R=0.84$, $P=0.001$). The correlation between $LSCI_{skin}$ and MAP shifted from a moderate negative correlation at stage 1 to a strong positive correlation at stage 3.

Conclusion. Skin microcirculation parameters ($LSCI_{skin}$, CVC_{skin} , and PORH), as assessed by laser speckle contrast imaging, are promising diagnostic markers of central and cerebral hemodynamic impairment during progressive blood loss and warrant further validation.

Keywords: microcirculation; skin; brain; blood loss; laser speckle contrast imaging

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

Funding. This study was supported by the Russian Science Foundation (Project No. 24-25-00310).

Информация об авторах/Information about the authors:

Рыжков Иван Александрович/Ivan A. Ryzhkov:

AuthorID (РИНЦ): 781730, <http://orcid.org/0000-0002-0631-5666>

Голубова Надежда Владимировна/Nadezhda V. Golubova:

AuthorID (РИНЦ): 1144542, <http://orcid.org/0000-0001-5175-1486>

Лапин Константин Николаевич/Konstantin N. Lapin:

AuthorID (РИНЦ): 1061143, <http://orcid.org/0000-0002-7760-3526>

Калабушев Сергей Николаевич/Sergey N. Kalabushev:

AuthorID (РИНЦ): 992594, <http://orcid.org/0000-0001-7017-7897>

Дремин Виктор Владимирович/Viktor V. Dremin:

AuthorID (РИНЦ): 787806, <http://orcid.org/0000-0001-6974-3505>

Потапова Елена Владимировна/Elena V. Potapova:

AuthorID (РИНЦ): 240669, <http://orcid.org/0000-0002-9227-6308>

Дунаев Андрей Валерьевич/Andrey V. Dunaev:

AuthorID (РИНЦ): 212404, <http://orcid.org/0000-0003-4431-6288>

Долгих Владимир Терентьевич/Vladimir T. Dolgikh:

AuthorID (РИНЦ): 540900, <http://orcid.org/0000-0001-9034-4912>

Мороз Виктор Васильевич/Viktor V. Moroz:

AuthorID (РИНЦ): 168246

Read the full-text English version at www.reanimatology.com

Введение

Геморрагический шок (ГШ) представляет собой острую циркуляторную недостаточность, возникающую в результате тяжелой кровопотери, и характеризуется нарушением кровоснабжения и оксигенации тканей с высоким риском развития органной дисфункции [1]. Пусковым звеном патогенеза острой кровопотери

тери, и характеризуется нарушением кровоснабжения и оксигенации тканей с высоким риском развития органной дисфункции [1]. Пусковым звеном патогенеза острой кровопотери

и геморрагического шока является тяжелая гиповолемия с последующим снижением сердечного выброса, развитием артериальной гипотензии и периферической гипоперфузии [1, 2], поэтому изучение параметров центральной гемодинамики при кровопотере, а также их оценка и своевременная коррекция в клинической практике имеют большое значение [3]. Тем не менее, именно нарушения микроциркуляции, перфузии и оксигенации являются ключевыми патогенетическими факторами органной дисфункции при геморрагическом и других видах шока [4, 5].

Нарушения микрогемодициркуляции, несмотря на общие проявления в разных органах (снижение плотности перфузируемых капилляров, гетерогенность перфузии, замедление капиллярного кровотока, повышение вязкости крови и проницаемости эндотелия и др.), тем не менее, имеют свою специфику в зависимости от сосудистого региона. Данная специфика определяется различной выраженностью сосудистых реакций в отдельных органах, возникающих в ответ на кровопотерю и связанные с ней патологические процессы [6]. При кровопотере кровоснабжение жизненно важных органов (головной мозг, сердце) некоторое время может поддерживаться на достаточном уровне за счет хорошо развитой ауторегуляции кровообращения в этих органах и централизации кровообращения, в то время как перфузия других органов (кожа, мышцы, органы брюшной полости) будет существенно снижена [5,7]. Но при прогрессировании кровотечения и шока возникает декомпенсация кровообращения, сопровождающаяся гипоперфузией и гипоксическим повреждением жизненно важных органов [6, 8, 9]. В декомпенсации церебрального кровообращения при шоке важное патогенетическое значение имеет не только объем и скорость кровопотери, но и общее состояние организма, внутричерепное давление, газовый состав крови и баланс симпатической и парасимпатической активности вегетативной нервной системы [10].

Таким образом, нарушения микроциркуляции именно во внутренних органах имеют наибольшее патофизиологическое значение в определении тяжести и исхода кровопотери. Однако большинство жизненно важных органов (сердце, головной мозг, легкие) труднодоступны для визуализации, что создает методические сложности как при проведении научных исследований, так и при клинической оценке кровоснабжения этих органов при шоке и других заболеваниях [4]. Применение экспериментальных моделей кровопотери и ГШ, с одной стороны, дает возможность с помощью хирурги-

ческого доступа оценить перфузию во многих внутренних органах [11, 12].

С другой стороны, покровные ткани (кожа и слизистые оболочки) легкодоступны для неинвазивной оценки микроциркуляции и часто выступают объектом исследования при различных сердечно-сосудистых, эндокринных и воспалительных заболеваниях [13, 14]. Несмотря на то, что эти ткани обладают большой устойчивостью к гипоксии, при кровопотере и шоке нарушения микроциркуляции в них (а также в скелетных мышцах и органах брюшной полости) обычно выражены в большей степени, чем в головном мозге и миокарде [5].

В этой связи особый научный и клинический интерес представляет изучение связи кожной микроциркуляции с параметрами центрального и регионального кровообращения. Остается дискуссионным вопрос, насколько выявленные при неинвазивном исследовании расстройства кожного кровообращения отражают нарушения центрального или периферического кровообращения в различных органах [15–17]. В медицине критических состояний этот вопрос стоит особенно остро, поскольку от своевременного распознавания тяжести нарушений кровообращения и органной дисфункции зависит объем и направленность интенсивной терапии [3, 18]. Методом лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) в эксперименте было показано, что в раннем постгеморрагическом периоде, несмотря на разную выраженность гипоперфузии головного мозга и кожи, в обоих органах значимо увеличивается амплитуда колебаний микрососудистого кровотока (флоумоции) [2]. Даже после реперфузии и восстановления параметров центральной гемодинамики микроциркуляция и клеточный метаболизм могут оставаться нарушенными [19, 20]. Более того, в ряде исследований было продемонстрировано диагностическое и прогностическое значение изменений некоторых параметров микроциркуляции при критических состояниях: выраженность микроциркуляторных нарушений у экспериментальных животных или пациентов с травмой и ГШ коррелировала с тяжестью органной дисфункции и была ассоциирована с худшим прогнозом [19, 21].

Предложен ряд методов непосредственного измерения перфузии или визуализации микрососудистого русла, среди которых стоит отметить современные варианты прижизненной микроскопии, ЛДФ и лазерную спекл-контрастную визуализацию (ЛСКВ) [13, 22]. ЛСКВ является наиболее перспективной для неинвазивной оценки перфузии тканей в клинике, поскольку позволяет снизить пространственную гетерогенность (вариабельность) измерений перфузии.

Этот метод все чаще используется для оценки церебральной микроциркуляции как в экспериментальных исследованиях на животных, так и в нейрохирургической практике [23–25].

Особо актуальной задачей является поиск и валидация простых и доступных для клинического применения диагностических маркеров нарушенной перфузии органов при шоке. ЛСКВ уже применяется для диагностики микроциркуляторных нарушений в коже у пациентов с различными сердечно-сосудистыми, ревматическими, эндокринными и дерматологическими заболеваниями [13], но редко используется в клиническом исследовании шока. Опубликованы лишь отдельные работы с использованием современных методов оценки микроциркуляции, посвященные изучению связи нарушений кожной микроциркуляции при ГШ с расстройствами центрального кровообращения и нарушениями церебральной перфузии [16, 26], а результаты таких исследований часто противоречивы.

Цель исследования — оценить взаимосвязь параметров микроциркуляции в коже с параметрами центрального и церебрального кровообращения при прогрессирующей кровопотере.

Материал и методы

Дизайн исследования: рандомизированное проспективное контролируемое экспериментальное исследование на лабораторных животных (*in vivo*). Меры по избеганию систематических ошибок: рандомизация животных при распределении на группы с достижением сопоставимости групп по массе тела; случайный порядок измерений кровотока в коже и головного мозга в каждой временной точке исследования.

Исследование провели в соответствии с принятыми национальными и международным биоэтическими стандартами (Директива 2010/63/EU). Протокол исследования был одобрен Локальным этическим комитетом ФНКЦ РР (протокол № 1/24/2 от 24.04.2024 г.).

Исследование выполнили на крысах-самцах линии Wistar возрастом 3–4 месяца, массой 250–350 г. Исходный размер выборки: $n=30$. Животных разделили на две группы:

I группа ($n=18$) — моделирование кровопотери в несколько этапов с развитием геморрагического шока (группа ГШ);

II группа ($n=12$) — контрольная группа «ложно-оперированных» животных без кровопотери (группа ЛО).

Животным проводили комбинированную анестезию: тилетамин/золазепам («Золетил 100», Virbac, Франция) 20 мг/кг + ксилазин («Ксиланит», ООО «НИТА-ФАРМ», Россия) 5 мг/кг внутривенно. При снижении глубины анестезии (реакция на болевой стимул) — дополнительная инъекция Золетила 100 10 мг/кг внутривенно.

С целью инвазивного измерения АД, забора проб артериальной крови катетеризировали левую бедренную артерию полиэтиленовым катетером PE-50 (OD 0,95 мм, ID 0,58 мм, SciCat, Россия). Для местной анестезии мягких тканей и стенки сосуда использовали лидокаин 1% (не более 0,4 мл на крысу). После установки катетера операционную рану ушивали провизорными швами. При необходимости катетер промывали раствором нефракционированного гепарина (5 ЕД/мл) по 0,1–0,2 мл.

Перед выполнением краниотомии анестезированную и катетеризованную крысу фиксировали в стереотаксической установке на подогреваемой платформе в положении на животе. Голову животного фиксировали в стереотаксисе в трех точках (передние резцы и наружные слуховые проходы). С целью контроля центральной температуры тела устанавливали ректальный термометр. Целевые значения центральной температуры тела были 36,5–37,0°C. В ходе эксперимента животное дышало самостоятельно.

Далее выполняли краниотомию по ранее описанной методике [27] в левой теменной области (бассейн кровоснабжения левой средней мозговой артерии, сенсомоторная область коры головного мозга крысы). Координаты центра отверстия: 4 мм каудально от линии Брегма, 2,5 мм латерально от срединного шва. Диаметр трепанационного отверстия 2,5–3 мм. Твердая мозговая оболочка и внутренний слой кости (без сосудов) оставляли для сохранения внутричерепного давления и предупреждения травмы пилальных сосудов. Период стабилизации животного после краниотомии и до начала измерений был не менее 15 мин.

Использовали экспериментальную модель фиксированной по объему кровопотери. Объем кровопотери — 35% от расчетного объема циркулирующей крови (ОЦК), что соответствовало классу III кровопотери (из четырех) по классификации ATLS [28]. ОЦК (мл) рассчитывали как 6,5% от массы животного. Кровь забирали стерильным шприцем в течение 2 мин трехкратно (15% — 10% — 10% от ОЦК) с интервалом в 8 мин между заборами. Общая длительность кровопотери составила 20–22 мин. Реинфузию крови не проводили. После кровопотери проводили мониторинг состояния животного еще в течение 30 мин.

Электрокардиограмму (ЭКГ) регистрировали с игольчатых электродов платформы MouseMonitor S (INDUS Instruments, США) с передачей аналогового сигнала на прибор PowerLab16/35 (ADInstruments, Австралия). Оцифрованный сигнал ЭКГ в трех стандартных отведениях (I, II, III) в последующем анализировали с помощью программного обеспечения LabChart Pro 8 (ADInstruments, Австралия). По данным ЭКГ рассчитывали усредненную частоту сердечных сокращений (ЧСС) за период измерения (5 мин).

Для измерения артериального давления (АД) катетер с помощью тройника и инфузионной линии соединяли с трансдюсером Deltran DPT-100 (Utah Medical Products, США). Аналоговый сигнал давления

с трансдюсера и прибора BP-100 (CWE Inc., США) передавали на прибор PowerLab16/35 (ADInstruments, Австралия). Оцифрованный сигнал АД анализировали с помощью программного обеспечения LabChart Pro 8. По данным кривой АД рассчитывали среднее артериальное давление ($АД_{cp}$) за период измерения (5 мин).

Для изучения газового состава и кислотно-основного состояния (КОС) артериальной крови пробу артериальной крови (0,2 мл) забирали из артериального катетера в «инсулиновый» шприц (1,0 мл) с небольшим количеством гепарина. Анализ газов и КОС крови (рН, pCO_2 , pO_2 , BE, HCO_3 , SaO_2 , лактат) проводили с помощью картриджей с реактивами CG4+ для анализатора iSTAT 1 (Abbott Point of Care Inc., США).

Измерение перфузии коры головного мозга и кожи конечности крысы выполняли методом ЛСКВ на специально собранной установке. Принцип измерения и технические аспекты данного метода описаны нами ранее [27]. Спекл-изображения получали с левой теменной области черепа и подошвенной поверхности правой задней конечности крысы. Время регистрации в одной анатомической области — 5 мин (2,5 мин при регистрации между 1-м и 2-м отбором крови). Регистрировали монохромные изображения, далее с помощью математической обработки попиксельно вычисляли значения спекл-контраста (пространственно-временного) на всей площади изображения. Затем окрашивали изображения в псев-

доцвета в соответствии с рассчитанными значениями ЛСКВ-перфузии (рассчитанной как $1/K^2$), полученный результат представлял собой спекл-перфузионное изображение (рис. 1). Получаемый сигнал анализировали как значение ЛСКВ-перфузии в коже ($LSCI_{skin}$) и головном мозге ($LSCI_{brain}$) крысы, измеряемые в относительных перфузионных единицах (AU). Анатомические области тела животного, в которых измеряли перфузию, показали на рис. 1.

Ввиду ограниченной площади визуализации используемой установкой ЛСКВ, выполняли последовательную регистрацию перфузии в коже и головном мозге животного в каждой из трех временных точек исследования. При этом для избегания систематической ошибки в измерениях, последовательность измерения (сначала кожа — потом головной мозг или наоборот) выбирали случайно у конкретного животного в обеих группах.

Помимо усредненной величины ЛСКВ-перфузии на каждом этапе эксперимента рассчитывали кожную сосудистую проводимость (англ. cutaneous vascular conductance, $CVC_{skin} = LSCI_{skin} / АД_{cp}$, пф. ед./мм рт. ст.), которая стандартизирует измерения перфузии относительно артериального давления и может рассматриваться как косвенный показатель сосудистого тонуса [13]. Аналогичным образом рассчитывали проводимость церебральных сосудов ($CVC_{brain} = LSCI_{brain} / АД_{cp}$).

Дополнительно в конце эксперимента проводили окклюзионную функциональную пробу на

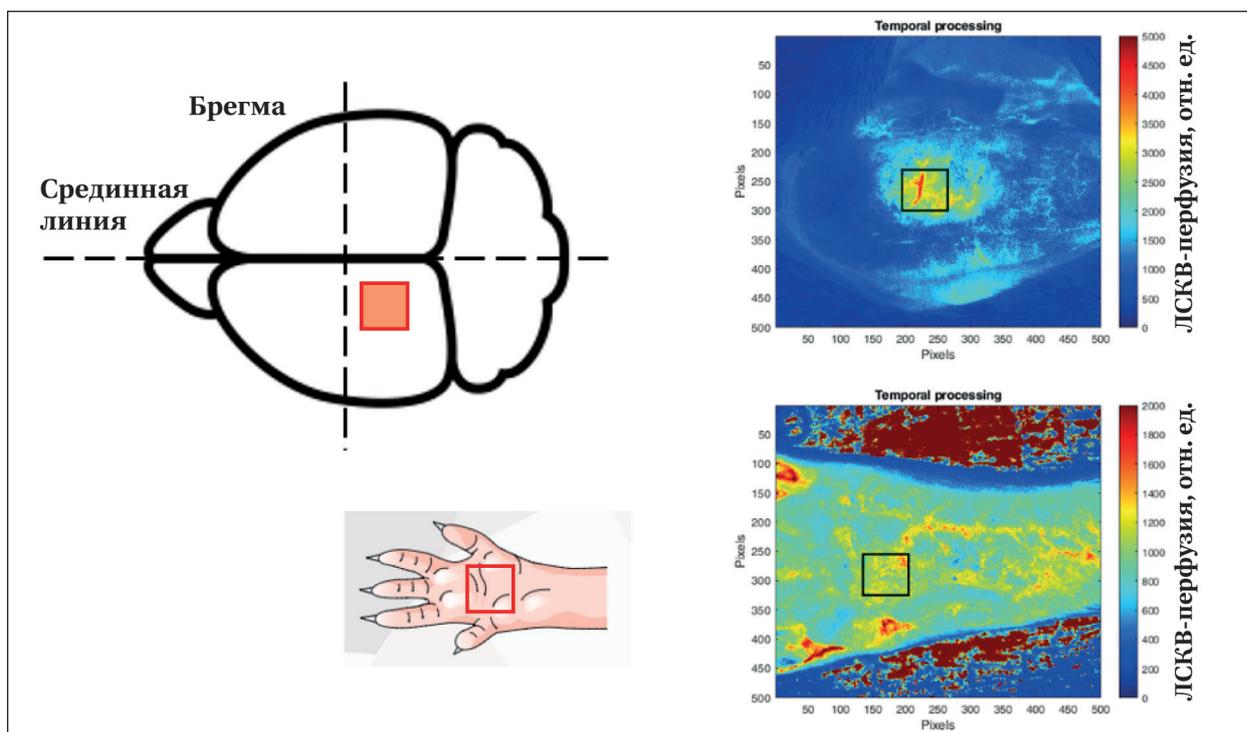


Рис 1. Анатомические области тела крысы, в которых оценивали микроциркуляцию методом лазерной спекл-контрастной визуализации (ЛСКВ).

Примечание. Красные квадраты — участки поверхности органа, в которых измеряли перфузию. Справа приведены примеры картирования перфузии коры головного мозга и кожи задней лапы животного.

задней конечности крысы с последующей регистрацией постокклюзионной реактивной гиперемии (ПОРГ). Пневматическую манжету от прибора для неинвазивного измерения АД у грызунов «Систола» (Нейроботикс, Россия) помещали на уровне голени правой задней лапы крысы и подключали к anerоидному манометру. В течение 30 с регистрировали ЛСКВ-перфузию в покое, после чего манжету раздували до 200–220 мм рт. ст. и поддерживали это давление в ней еще в течение 30 с. Затем манжету быстро сдували и регистрировали ЛСКВ еще в течение 1 мин. Оценку параметров ПОРГ проводили в той же области кожи (подошвенная поверхность ступни), что и предшествующая регистрация ЛСКВ-перфузии. Рассчитывали следующие переменные ПОРГ:

- ЛСКВ-перфузия кожи в покое с надетой на конечность манжетой ($LSCI_{rest}$, пф. ед.);
- минимальные значения ЛСКВ-перфузии («биологический ноль») во время окклюзии ($LSCI_{occl}$, пф. ед.);
- пиковая реактивная гиперемия, т. е. максимальное значение ЛСКВ-перфузии в коже после сдувания манжеты ($LSCI_{max}$, пф. ед.);
- резерв микрососудистого кровотока ($LSCI_{max}/LSCI_{rest}$);
- показатель кожной сосудистой проводимости для пиковой гиперемии ($CVC_{max} = LSCI_{max}/AD_{cp}$, пф. ед./мм рт. ст.).

После завершения эксперимента выполняли эвтаназию животных путем внутриартериального введения лидокаина 2% 2,0 мл под общей анестезией

(Золетил 100 + ксилазин) с констатацией наступления смерти по данным ЭКГ.

Основные этапы (временные точки) эксперимента, в которых выполняли измерения:

1. Исходное состояние (Baseline) после анестезии, катетеризации артерии, краниотомии и периода стабилизации животного.
2. Кровапотеря 15% ОЦК (Blood Loss 15%). В промежутке между 1-м и 2-м отборами крови проводили регистрацию тех же физиологических параметров, что и в исходном состоянии (кроме КОС артериальной крови).
3. Кровапотеря 35% ОЦК (Blood Loss 35%). С 20-й по 30-ю мин постгеморрагического периода проводили регистрацию тех же физиологических и лабораторных параметров, что и в исходном состоянии.

Измерения параметров центрального, церебрального и кожного кровообращения (AD_{cp} , ЧСС, ЛСКВ-перфузия сенсомоторной коры головного мозга и кожи конечности) выполняли на всех этапах эксперимента, а оценку параметров КОС артериальной крови и ЭКГ только на этапах 1 и 3 (рис. 2). Окклюзионную пробу на конечности крысы проводили однократно в конце эксперимента (на этапе 3 после регистрации ЛСКВ-перфузии в коже и головном мозге). В группе ЛО кровапотери не было, но измерения выполняли в аналогичные временные периоды на всех этапах эксперимента.

Размер выборки рассчитали в программе StatMate 2.0 (GraphPad Software, USA) на основе результатов предварительной серии экспериментов с учетом значе-

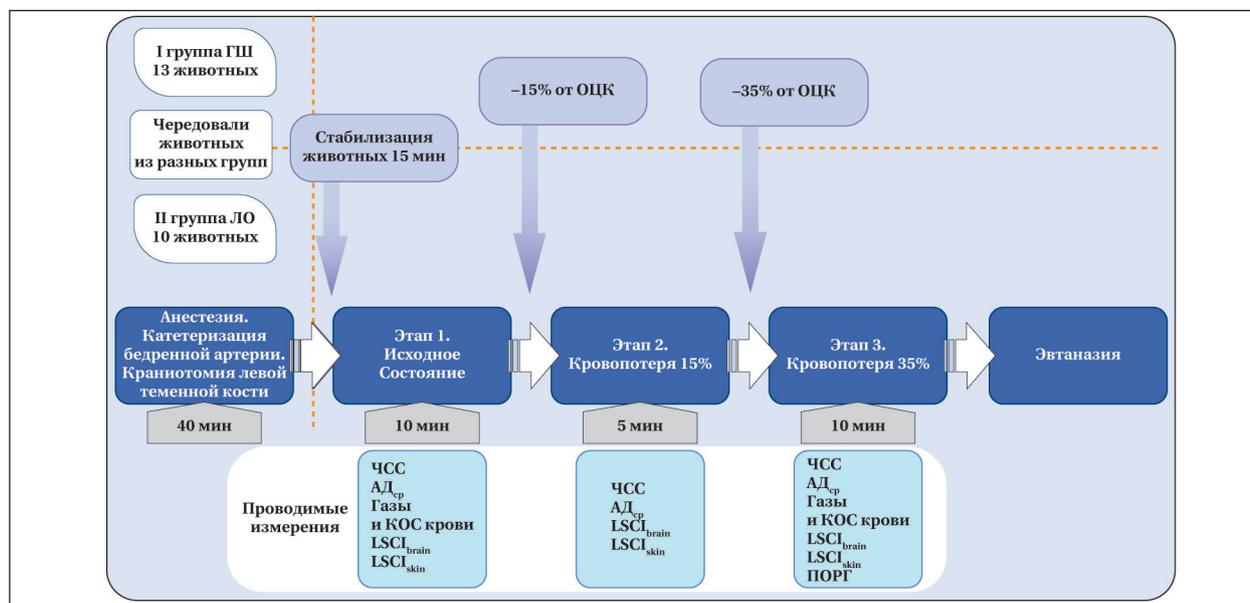


Рис. 2. Графическая схема эксперимента.

Примечание. В ходе выполнения экспериментов 2 животных из группы ЛО и 5 животных из группы ГШ исключили из исследования в соответствии с заранее установленными критериями исключения (тяжелые осложнения хирургических вмешательств, множество существенных отклонений от протокола исследования). Летальных исходов в обеих группах не было. Таким образом, в анализ включили 23 животных (ЛО, $n=10$, ГШ, $n=13$). ОЦК — расчетный объем циркулирующей крови; ЧСС — частота сердечных сокращений; AD_{cp} — среднее артериальное давление; КОС — кислотно-основное состояние; $LSCI_{brain}$ и $LSCI_{skin}$ — перфузии коры головного мозга и кожи крысы, соответственно, измеренные методом лазерной спекл-контрастной визуализации (ЛСКВ); ПОРГ — постокклюзионная реактивная гиперемия.

ний вариабельности (SD=287 AU) показателя спекл-перфузии в коре головного мозга крысы, предполагаемой летальности в группе ГШ около 30% и мощности метода более 0,9. Статистический анализ полученных данных проводили с помощью пакета программ Statistica 13.0 (StatSoft, США). Поскольку большинство исследуемых показателей имели распределение, отличное от нормального (на основании теста Шапиро–Уилка), для оценки значимости межгрупповых различий исследуемых показателей использовали критерий *U* Манна–Уитни, а для оценки изменения показателя внутри группы — критерий Фридмана (для попарных сравнений — критерий Вилкоксона с поправкой Бонферрони). Результаты представили в виде медианы и межквартильного размаха: *Me* [25%; 75%]. Для выявления корреляций между изучаемыми параметрами рассчитывали коэффициент корреляции Спирмена (*r*). Уровень $p < 0,05$ (двусторонний) считали статистически значимым.

Результаты

При посмертном (после эвтаназии) обследовании черепа животных область краниотомии была максимально истончена ($\leq 0,3$ мм), но не

перфорирована. Также ни у одного из включенных в анализ животных не было выявлено внутричерепных кровоизлияний и других признаков повреждения головного мозга.

В исходном состоянии (этап 1) группы животных не различались по исследуемым параметрам центрального и периферического кровообращения ($p > 0,05$ в тесте Манна–Уитни, табл. 1), однако в группе ГШ общая доза анестетика тилетамин/золазепам была ниже, чем в группе ЛО (40 [30; 40] vs 53 [50; 55] мг/кг, соответственно, $p = 0,01$), поскольку этим животным после индукции кровопотери требовалась меньшая доза препарата для поддержания одинаковой глубины анестезии.

После кровопотери в объеме 15% ОЦК (этап 2) в группе ГШ АДср снизилось на 26% относительно исходных значений и было статистически значимо ниже, чем в группе ЛО (рис. 3, а). ЧСС в группе ГШ снизилось на 16% относительно исходных значений, но различие групп по этому параметру не достигало статистической значимости (ГШ vs ЛО, $p = 0,057$) (рис. 3, б).

Таблица 1. Параметры центрального и периферического кровообращения в исследуемых группах животных на этапе 1 (исходное состояние).

Параметры	Значение параметров в группах		<i>p</i>
	ГШ	ЛО	
АД _{ср} , мм рт. ст.	90 [79; 98]	94 [87; 95]	0,651
ЧСС, 1/мин	308 [289; 312]	303 [293; 325]	0,975
LSCI _{skin} , AU	1858 [1458; 2419]	1799 [1675; 1953]	0,976
LSCI _{brain} , AU	3407 [3066; 3618]	3657 [3291; 3878]	0,166
CVC _{skin} , AU/мм рт. ст.	20,3 [14,8; 25,9]	19,6 [18,3; 23,6]	0,917
CVC _{brain} , AU/мм рт. ст.	37 [29,6; 44,3]	41,3 [36,8; 41,4]	0,508

Примечание. АД_{ср} — среднее артериальное давление; ЧСС — частота сердечных сокращений; LSCI_{skin} — лазерная спекл-контрастная визуализация (ЛСКВ)-перфузия кожи; LSCI_{brain} — ЛСКВ-перфузия головного мозга; CVC_{skin} — кожная сосудистая проводимость; CVC_{brain} — церебральная сосудистая проводимость. Значения *p* при межгрупповом сравнении (тест Манна–Уитни).

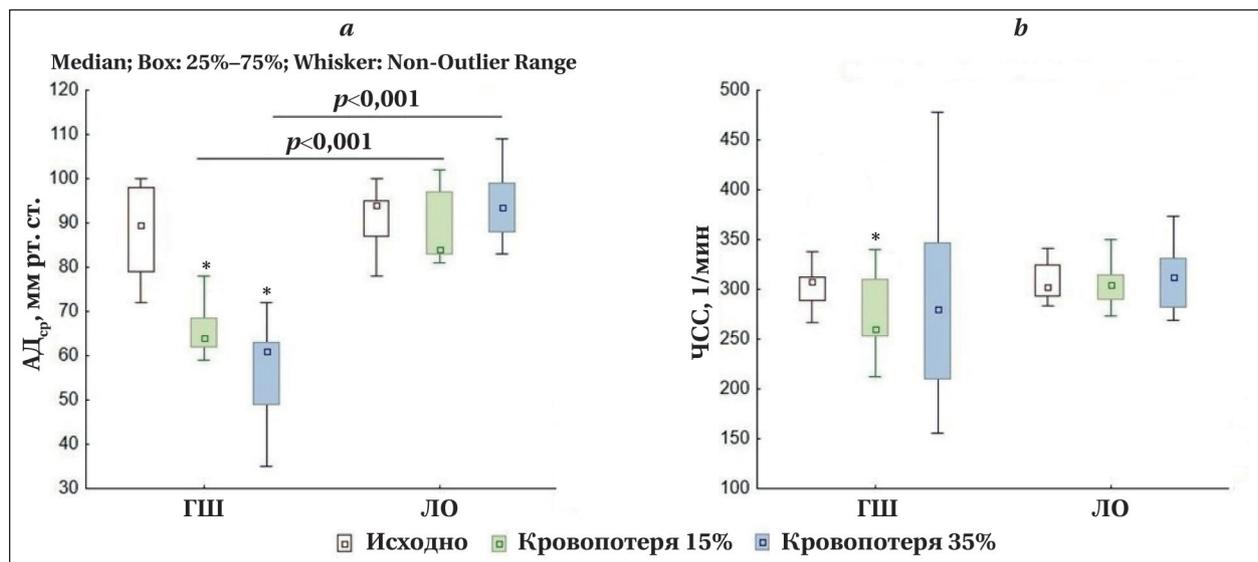


Рис. 3. Основные параметры центрального кровообращения у крыс на этапах исследования.

Примечание. Значения *p* при межгрупповом сравнении (тест Манна–Уитни). * — $p < 0,05$ vs Исходно (тест Вилкоксона с поправкой Бонферрони).

кровопотери 35% ОЦК статистически значимо не изменялась относительно исходных значений, и также, как и после небольшой кровопотери, не различалась между группами ГШ и ЛО ($p=0,257$) (рис. 4, с). В то же время SVC_{brain} после кровопотери 35% ОЦК оставался повышенным на 37% относительно исходных значений ($p=0,006$) и был статистически значимо выше, чем в группе ЛО (рис. 4, d).

Примеры спекл-перфузионных изображений кожи и головного мозга крысы, полученные в ходе эксперимента, привели на рис. 5.

Результаты измерения газового состава и КОС артериальной крови лабораторных животных представили в табл. 2.

В исходном состоянии группы несущественно различались только по значениям PaO_2 . Через 30 мин после кровопотери у животных группы ГШ в анализе газов и КОС артериальной крови отмечали изменения, характерные для геморрагического шока: метаболический лактат-ацидоз (гиперлактатемия, снижение показателей HCO_3^- и BE, снижение pH крови у ряда животных) с частичной дыхательной компенсацией (тенденция к гипокапнии в группе ГШ). Показатель оксигенации артериальной крови (PaO_2) в группе ГШ статистически значимо повышался на этапе 3 при сравнении с этапом 1 ($p=0,005$ в тесте Вилкоксона), но межгрупповых различий по значениям PaO_2 и SaO_2 на этапе 3 не выявили (табл. 2).

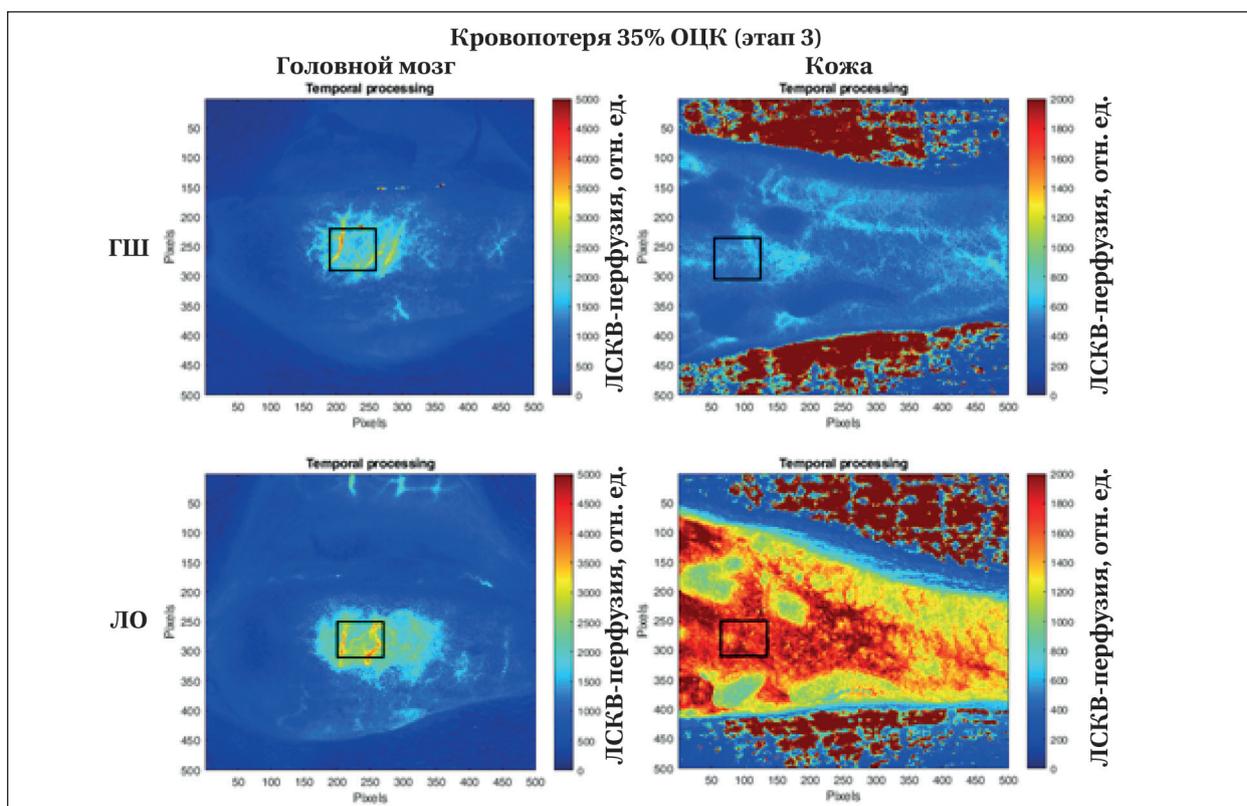


Рис. 5. Примеры спекл-перфузионных изображений головного мозга и кожи задней конечности крысы после кровопотери 35% ОЦК (группа ГШ сверху) и у контрольного животного (группа ЛО внизу) без кровопотери.

Таблица 2. Газовый состав и КОС артериальной крови крыс в исходном состоянии (этап 1) и через 30 мин после острой кровопотери 35% ОЦК (этап 3).

Параметр	Значения параметров в группах на этапах исследования					
	Этап 1 (исходное состояние)			Этап 3 (кровопотеря 35% ОЦК)		
	ГШ	ЛО	<i>p</i>	ГШ	ЛО	<i>p</i>
pH	7,40 [7,38; 7,45]	7,41 [7,41; 7,44]	0,257	7,38 [7,33; 7,40]	7,41 [7,39; 7,41]	0,131
$paCO_2$, мм рт. ст.	36,3 [32,2; 38,3]	31,6 [28,6; 36,6]	0,208	27 [23,3; 30,1]	31,95 [29,2; 36,2]	0,021
paO_2 , мм рт. ст.	75 [70; 80]	83,5 [78; 85]	0,042	88 [86; 90]	79 [77; 83]	0,057
BE, ммоль/л	-2 [-4; 0]	-2,5 [-4; -1]	0,648	-9 [-11; -6]	-3,5 [-6; -3]	0,006
HCO_3^- , ммоль/л	21,8 [20,1; 23,0]	20,75 [19,7; 23,0]	0,522	15,1 [12,8; 18,8]	20,4 [18,1; 21,8]	0,008
SaO_2 , %	95 [93; 96]	96,5 [96; 97]	0,67	97 [96; 97]	96 [95; 96]	0,148
Лактат, ммоль/л	1,92 [1,20; 2,25]	1,37 [1,21; 1,73]	0,410	3,18 [2,01; 4,49]	1,76 [1,65; 2,18]	0,008

Примечание. Полужирным шрифтом выделили значения $p < 0,05$ при сравнении между группами ГШ и ЛО (тест Манна-Уитни).

В конце этапа 3 у животных обеих групп измеряли параметры постокклюзионной реактивной гиперемии (ПОРГ) в коже задней конечности после 30-и секундной окклюзии. Результаты анализа окклюзионной пробы представили на рис. 6.

Для выявления биологически значимых связей параметров микроциркуляции в коже с параметрами центрального и мозгового кровообращения провели корреляционный анализ. Поскольку на этапе 1 (baseline) группы животных не различались по исследуемым параметрам, корреляционный анализ на данном этапе выполнили для всей выборки ($n=23$). Выявленные статистически значимые корреляции представили на рис. 7.

Затем отдельно в группе ГШ провели корреляционный анализ биологически значимых связей между параметрами микроциркуляции в коже (в т. ч. параметрами ПОРГ) и параметрами

центрального и мозгового кровообращения на этапе 3, когда у животных развивался геморрагический шок (рис. 8).

Обсуждение

В данной работе исследовали связь изменений кожного кровообращения с мозговым и центральным кровообращением при умеренной (15% ОЦК) и тяжелой (35% ОЦК) острой кровопотере. При нарастании объема кровопотери у животных группы ГШ закономерно развивалась артериальная гипотензия. В то же время у животных этой группы повышалась вариабельность ЧСС с тенденцией к умеренной брадикардией на этапе 2. Известно, что тахикардия является нормальной компенсаторной реакцией организма на кровотечение [5, 6]. Отмечавшаяся в данной серии экспериментов тенденция к брадикардии объясняется особенностями экспериментальной модели геморрагического шока: использованием комбинированной анестезии и быстрым (в течение 2–3 мин) отбором крови на каждом из этапов исследования, т. е. большой скоростью кровотечения. Оба этих фактора вызывают относительное преобладание парасимпатической иннервации сердца над симпатической, что отсрочивает развитие тахикардии при кровотечении [29].

При измерении ЛСКВ-перфузии в коже конечности и сенсомоторной коре головного мозга в постгеморрагическом периоде выявили закономерную динамику: прогрессирующее снижение перфузии кожи с относительной сохранностью микроциркуляции в головном мозге [7, 12]. Для получения дополнительной информации о механизмах снижения (или поддержания) тканевой перфузии при кровопотере был проведен расчет индексов кожной и церебральной сосудистой проводимости (CVC_{skin} и CVC_{brain}). CVC рассчитывается как отношение ЛСКВ-перфузии к уровню

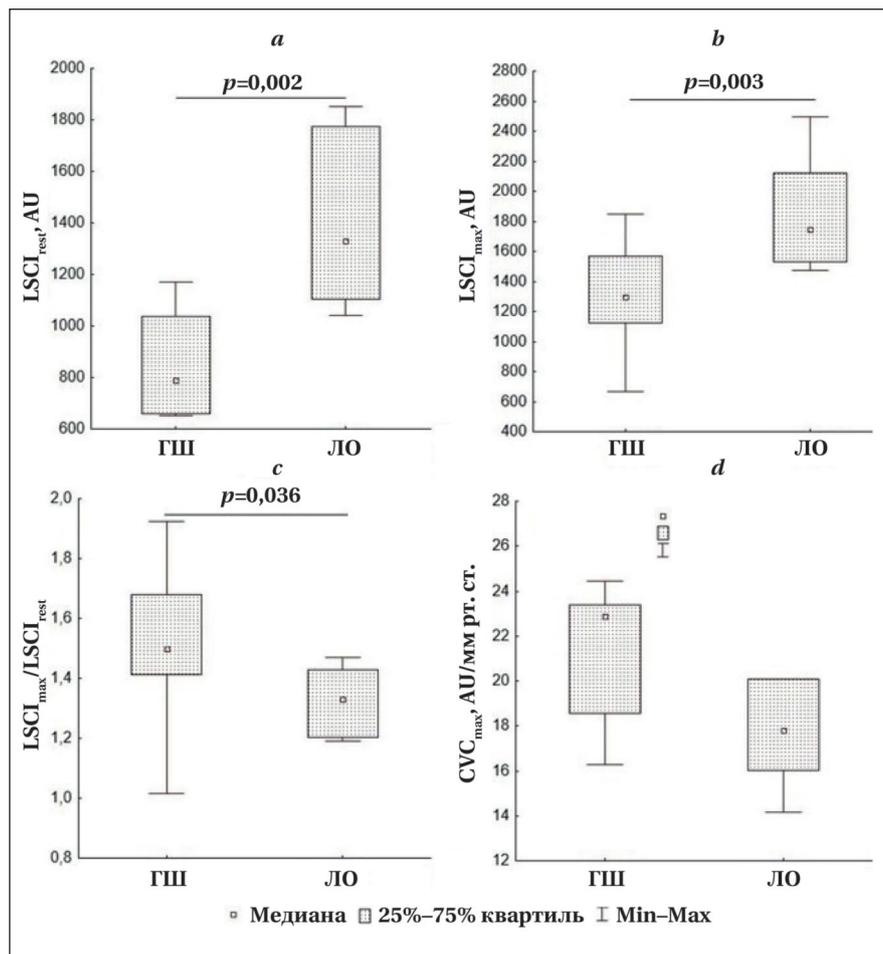


Рис. 6. Параметры постокклюзионной реактивной гиперемии (ПОРГ) в коже задней конечности крыс после острой кровопотери 35% ОЦК (этап 3).

Примечание. *a* — ЛСКВ-перфузия кожи крысы в покое с надетой на конечность манжетой ($LSCI_{rest}$); *b* — максимальное значение ЛСКВ-перфузии после спуска давления в манжете ($LSCI_{max}$); AU — условные перфузионные единицы; *c* — резерв кожного микрососудистого кровотока ($LSCI_{max}/LSCI_{rest}$); *d* — показатель кожной сосудистой проводимости для максимальных значений ЛСКВ-перфузии (CVC_{max}).

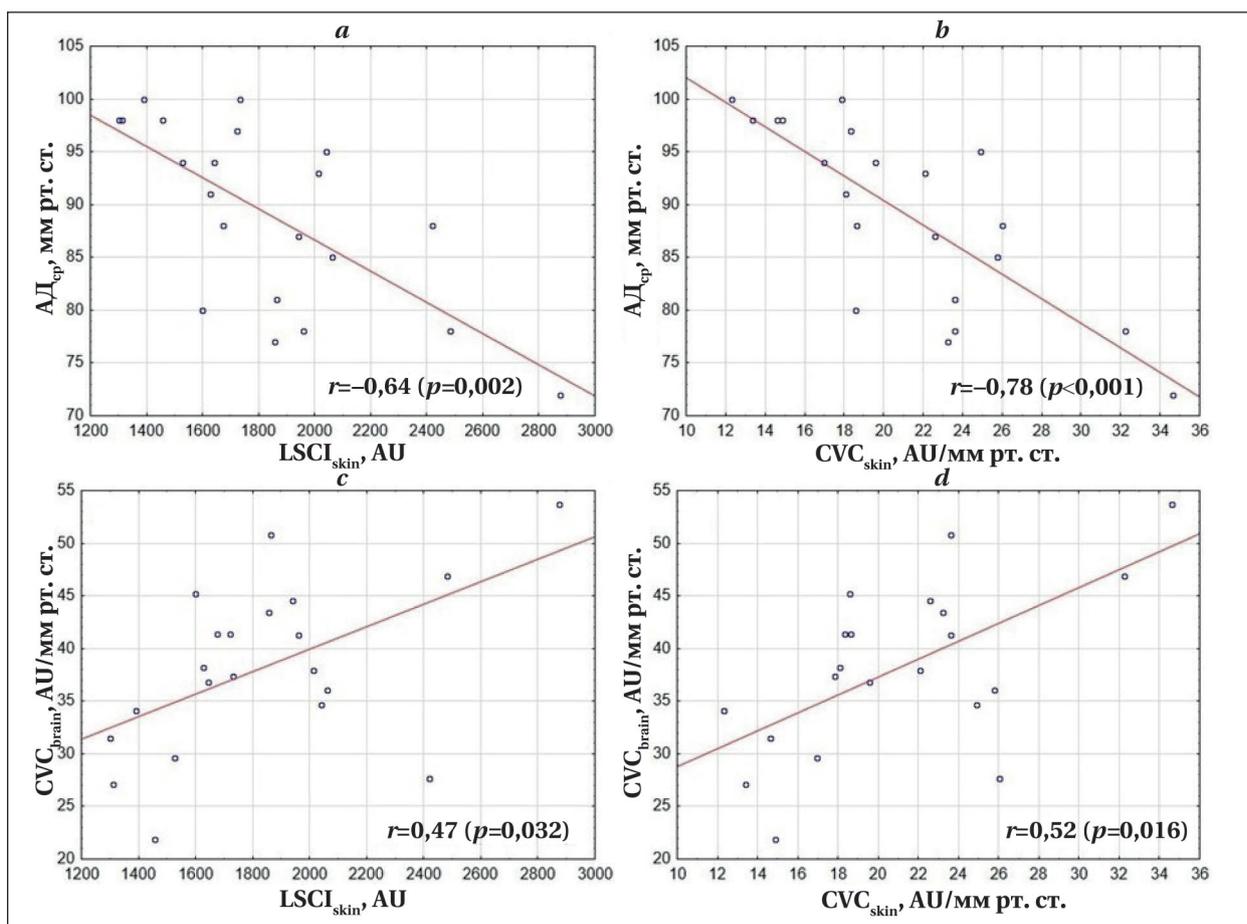


Рис. 7. Диаграммы рассеяния, демонстрирующие корреляцию параметров кожного кровообращения с параметрами центрального и церебрального кровообращения у крыс ($n=22$) на этапе 1 (до кровопотери).

Примечание. AD_{cp} — среднее артериальное давление, мм рт.ст.; $LSCI_{skin}$ — ЛСКВ-перфузия кожи задней конечности крысы, AU; CVC_{skin} — кожная сосудистая проводимость, AU/мм рт. ст.; CVC_{brain} — церебральная сосудистая проводимость, AU/мм рт. ст. Для каждой диаграммы привели значение коэффициента ранговой корреляции Спирмена (r) с точным значением p . Одно животное группы ГШ исключили из анализа из-за артефактов измерения AD_{cp} .

AD_{cp} отражает тонус микрососудов в области измерения и часто используется в клинических исследованиях для стандартизации оценки перфузии кожи в нормальных и патологических условиях [30]. Анализ этого параметра показал, что поддержание церебральной микроциркуляции при кровопотере происходит за счет повышения CVC в головном мозге, что является закономерной реакцией на снижение церебрального перфузионного давления [10]. Однако, нами не найдено исследований, в которых индекс CVC , рассчитанный на основании значений именно ЛСКВ-перфузии, использовался бы для оценки ауторегуляции мозгового кровообращения при прогрессирующей кровопотере.

При кровопотере кожная сосудистая проводимость статистически значимо не изменялась, несмотря на прогрессирующую гипоперфузию кожи и другие признаки развивающегося геморрагического шока (гипотензия, метаболическая лактат-ацидоз). Этот результат несколько противоречит общепризнанной кон-

цепции «централизации кровообращения» при гиповолемии, происходящей за счет активации симпатической нервной системы и повышения тонуса сосудов кожи, скелетных мышц и органов брюшной полости [3, 6]. Тем не менее, важными факторами, определяющими реакцию периферического кровообращения на кровопотерю, являются также анестезия и температурный режим организма [4]. Использование комбинированной общей анестезии и поддержание в ходе экспериментов нормальной центральной температуры тела животных (с целью стандартизации модели) объясняют отсутствие вазоконстрикторного ответа в коже на кровопотерю. Кроме того, так же как и в случае с относительной брадикардией, отсутствие периферического вазоконстрикторного ответа на тяжелую кровопотерю (более 30% ОЦК) может быть обусловлено фазным ингибированием симпатических влияний на сосуды и разобщением барорефлексо-опосредованной регуляции АД [31]. Подтверждением этому является изменение харак-

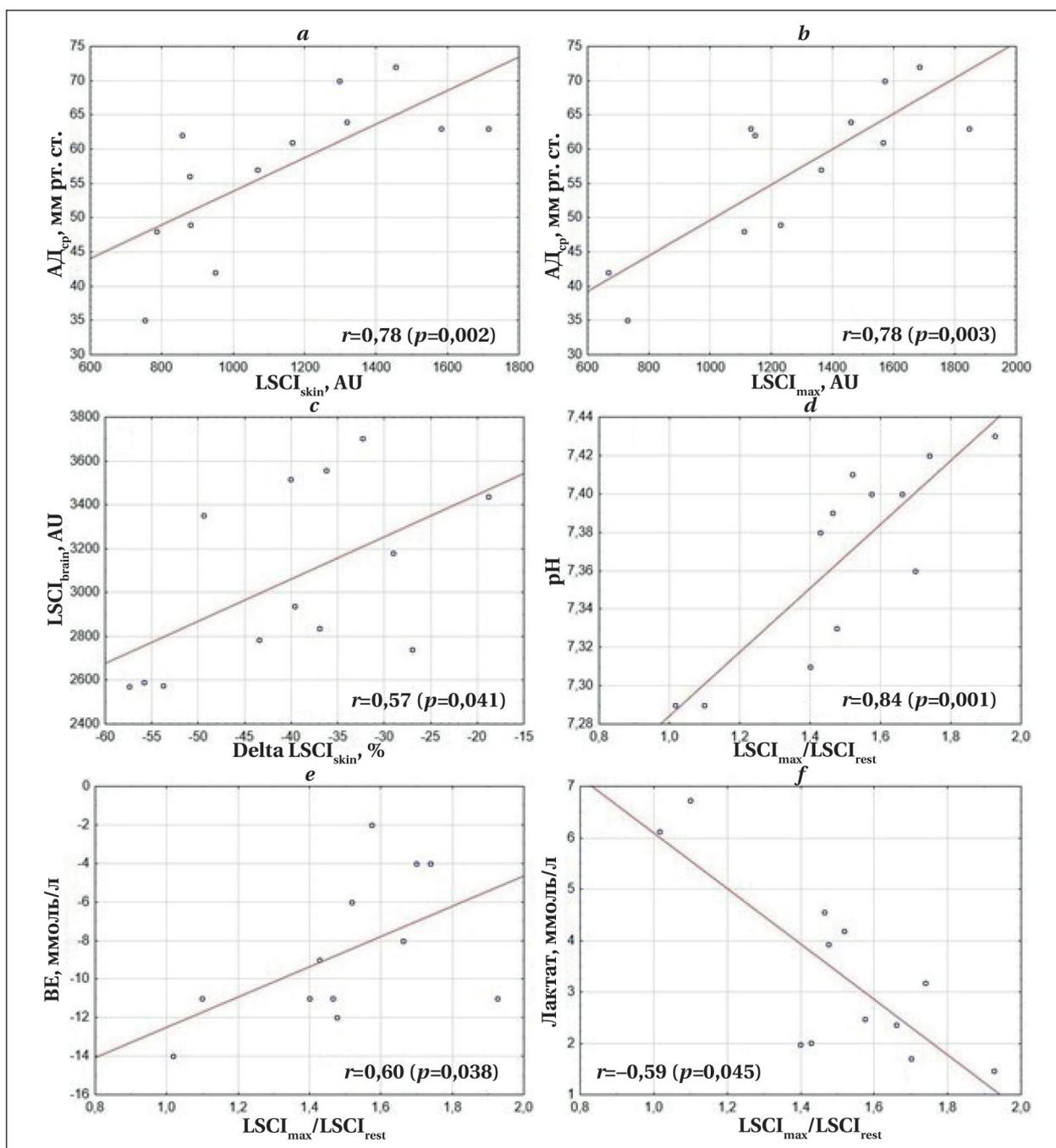


Рис. 8. Диаграммы рассеяния, демонстрирующие корреляцию параметров кожного кровообращения с параметрами центрального и церебрального кровообращения у крыс группы ГШ ($n=12$) на этапе 3 (после кровопотери 35% ОЦК). **Примечание.** АД_{cp} — среднее артериальное давление; LSCI_{skin} — ЛСКВ-перфузия кожи задней конечности крысы, AU; LSCI_{brain} — ЛСКВ-перфузия коры головного мозга крысы, AU; Delta LSCI_{skin} — относительное снижение ЛСКВ-перфузии кожи задней конечности крысы после кровопотери 35% ОЦК, % по сравнению с исходным состоянием; LSCI_{max} — максимальное значение ЛСКВ-перфузии кожи задней конечности крысы после спуска давления в манжете при окклюзионной пробе, AU; LSCI_{max}/LSCI_{rest} — резерв кожного микрососудистого кровотока, рассчитанный как отношение LSCI_{max} к ЛСКВ-перфузии кожи до создания сосудистой окклюзии (LSCI_{rest}); BE и Лактат — дефицит оснований и концентрация лактата в артериальной крови крыс, соответственно, ммоль/л. Для каждой диаграммы привели значение коэффициента ранговой корреляции Спирмена (r) с точным значением p . Одно животное группы ГШ исключили из анализа из-за артефактов измерения АД_{cp}.

тера корреляции между параметрами LSCI_{skin} и АД_{cp} от средней отрицательной ($r=-0,64$) на этапе 1 до сильно положительной ($r=0,78$) на этапе 3. Сильная корреляция между CVC_{skin}

и АД_{cp} ($r=0,78$), выявленная на этапе 1, исчезла после развития геморрагического шока.

Корреляционный анализ выявил также другие биологически (и, потенциально, клини-

чески) значимые связи между параметрами кожного и церебрального кровообращения. Так, на этапе 1 обнаружена средняя положительная ($r=0,52$) корреляция между параметрами CVC_{skin} и CVC_{brain} , а на этапе 3 в группе животных с геморрагическим шоком значения церебральной перфузии определялись, в том числе, степенью снижения кожной перфузии ($r=0,57$) — чем больше снижалась перфузия кожи, тем ниже были значения мозгового кровотока. Эти данные указывают на потенциальную диагностическую значимость параметров кожной микроциркуляции для оценки тяжести, например, интраоперационной кровопотери, когда пациент находится под общей анестезией и намеренно избегается спонтанная гипотермия.

В данном исследовании для дополнительной оценки кожной микроциркуляции использовали окклюзионную пробу с последующим анализом параметров PORH. При геморрагическом шоке на фоне уже существующей гипоперфузии кожи выявили снижение пиковой реактивной гиперемии и небольшое повышение резерва микрососудистого кровотока. Эти результаты хорошо согласуются с более ранней экспериментальной работой [32], в которой для оценки PORH в коже крыс при кровопотере применялся метод ЛДФ, а время окклюзии составляло 3 мин (а не 30 с), а также с клиническим исследованием, в котором у пациентов с тяжелой кровопотерей выраженность PORH была резко снижена по данным инфракрасной термографии пальцев руки [16]. Однако, в исследовании [32] при геморрагическом шоке отмечалось также увеличение пиковой сосудистой проводимости (CVC_{max}) при окклюзионной пробе. В нашем исследовании увеличение этого параметра PORH по сравнению с контрольной группой животных не достигало статистической значимости.

Интересно, что при проведении корреляционного анализа была выявлена положительная связь резерва кожного микрососудистого кровотока (параметр $LSCI_{\text{max}}/LSCI_{\text{rest}}$) с рН ($r=0,84$) и дефицитом оснований ($r=0,6$) артериальной крови, а также отрицательная связь с уровнем лактата крови ($r=-0,59$). Эти взаимосвязи возникали только при развитии ГШ. Таким образом, низкие значения резерва микрососудистого кровотока при кровопотере указывают на развитие декомпенсированного лактат-ацидоза, что в определенных обстоятельствах может иметь диагностическое значение.

Данное исследование имеет несколько ограничений. В ходе эксперимента не было возможности измерить сердечный выброс и общее

периферическое сосудистое сопротивление — важнейшие интегральные параметры центрального кровообращения, учет которых дополнил бы понимание причинно-следственных отношений между изменениями центрального и периферического кровообращения. Также используемый метод ЛСКВ хоть и измеряет перфузию органа на достаточно большой площади его поверхности и хорошо отражает относительные изменения перфузии, тем не менее, измеряет ее только в поверхностных слоях органа (не более 0,5–1 мм), что не позволяет судить об изменениях регионарного кровообращения в более глубоких тканях.

Перспективными направлениями дальнейших исследований в этой области являются дополнительная валидация исследованных параметров кожного кровообращения, не только как диагностических маркеров нарушения кровообращения во внутренних органах при геморрагическом и других видах шока, но и как прогностических маркеров исхода шока и эффективности различных вариантов интенсивной терапии.

Заключение

В условиях общей анестезии и нормотермии острая кровопотеря приводит к прогрессирующей гипоперфузии кожи и лишь незначительному изменению перфузии сенсомоторной коры головного мозга. Эти изменения сопровождаются стойким повышением церебральной сосудистой проводимости без компенсаторных реакций кожной сосудистой проводимости на кровопотерю. При ГШ снижается амплитуда постокклюзионной реактивной гиперемии в коже. До кровопотери обнаружили положительную корреляцию средней силы параметров кожной микроциркуляции (ЛСКВ-перфузия и кожная сосудистая проводимость) с церебральной сосудистой проводимостью. При геморрагическом шоке ЛСКВ-перфузия коры головного мозга коррелирует с выраженностью гипоперфузии кожи ($r=0,57$; $p=0,041$), а резерв кожного микрососудистого кровотока имеет сильную положительную корреляцию с рН артериальной крови ($r=0,84$; $p=0,001$).

Таким образом, на основе выявленных патофизиологических закономерностей, отдельные параметры кожной микроциркуляции могут рассматриваться как перспективные диагностические маркеры нарушений центрального и церебрального кровообращения при прогрессирующей кровопотере и геморрагическом шоке. Однако, необходима их дальнейшая валидация.

Литература

- Cannon J. W. Hemorrhagic shock. *N Engl J Med.* 2018; 378 (19): 1852–1853. DOI: 10.1056/NEJMc1802361. PMID: 29742379
- Мороз В. В., Рыжков И. А. Острая кровопотеря: регионарный кровоток и микроциркуляция (Обзор, Часть II). *Общая реаниматология.* 2016; 12 (5): 65–94. Moroz V. V., Ryzhkov I. A. Acute blood loss: regional blood flow and microcirculation (Review, Part II). *General Reanimatology = Obshchaya Reanimatologiya* 2016; 12 (5): 65–94. (in Russ.&Eng.). DOI: 10.15360/1813-9779-2016-5-65-94.
- Григорьев Е. В., Лебединский К. М., Щеголев А. В., Бобовник С. В., Буланов А. Ю., Заболотских И. Б., Синьков С. В., с соавт. Реанимация и интенсивная терапия при острой массивной кровопотере у взрослых пациентов. *Анестезиология и реаниматология.* 2020; (1): 5–24. Grigoriev E. V., Lebedinsky K. M., Shchegolev A. V., Bobovnik S. V., Bulanov A. Yu., Zabolotskikh I. B., Sinkov S. V., et al. Resuscitation and intensive care in acute massive blood loss in adults (clinical guidelines). *Russian Journal of Anaesthesiology and Reanimatology = Anesteziologya i Reanimatologiya.* 2020; (1): 5–24. (in Russ.). DOI: 10.17116/anaesthesiology20200115.
- Filho I. T. Hemorrhagic shock and the microvasculature. *Compr Physiol.* 2017; 8 (1): 61–101. DOI: 10.1002/cphy.c170006. PMID: 29357125.
- Harrois A., Tanaka S., Duranteau J. The microcirculation in hemorrhagic shock. *Annual Update in Intensive Care and Emergency Medicine.* 2013: 277–289. DOI: 10.1007/978-3-642-35109-9_22.
- Мороз В. В., Рыжков И. А. Острая кровопотеря: регионарный кровоток и микроциркуляция (Обзор, Часть I). *Общая реаниматология.* 2016; 12 (2): 66–89. Moroz V. V., Ryzhkov I. A. Acute blood loss: regional blood flow and microcirculation (Review, Part I). *General Reanimatology = Obshchaya Reanimatologiya* 2016; 12 (2): 66–89. (in Russ.&Eng.). DOI: 10.15360/1813-9779-2016-2-66-89.
- Wan Z., Sun S., Ristagno G., Weil M. H., Tang W. The cerebral microcirculation is protected during experimental hemorrhagic shock. *Crit Care Med.* 2010; 38 (3): 928–932. DOI: 10.1097/CCM.0b013e3181cd100c. PMID: 20068466.
- Cavus E., Meybohm P., Doerges V., Hugo H. H., Steinfath M., Nordstroem J., Scholz J., et al. Cerebral effects of three resuscitation protocols in uncontrolled haemorrhagic shock: a randomised controlled experimental study. *Resuscitation.* 2009; 80 (5): 567–572. DOI: 10.1016/j.resuscitation.2009.01.013. PMID: 19217706.
- Рева В. А., Самакаева А. Р., Шелухин Д. А., Орлов С. В., Потемкин В. Д., Булгин Д. В., Грачева Г. Ю., с соавт. Экстренная сверхглубокая гипотермия при остановке сердца, индуцированной кровопотерей (экспериментальное исследование на обезьянах). *Общая реаниматология.* 2025; 21 (1): 62–74. Reva V. A., Samakaeva A. R., Shelukhin D. A., Orlov S. V., Potemkin V. D., Bulgin D. V., Gracheva G. Y., et al. Emergency ultra-deep hypothermia in cardiac arrest induced by blood loss (experimental study on nonhuman primates). *General Reanimatology = Obshchaya Reanimatologiya.* 2025; 21 (1): 62–74. (in Russ.&Eng.). DOI: 10.15360/1813-9779-2025-1-62-74.
- Rickards C. A. Cerebral blood-flow regulation during hemorrhage. *Compr Physiol.* 2015; 5 (4): 1585–1621. DOI: 10.1002/cphy.c140058. PMID: 26426461.
- Tonnesen J., Pryds A., Larsen E. H., Paulson O. B., Hauerberg J., Knudsen G. M. Laser doppler flowmetry is valid for measurement of cerebral blood flow autoregulation lower limit in rats. *Exp Physiol.* 2005; 90 (3): 349–355. DOI: 10.1113/expphysiol.2004.029512. PMID: 15653714.
- Рыжков И. А., Заржецкий Ю. В., Новодержкина И. С. Сравнительные аспекты регуляции кожной и мозговой микроциркуляции при острой кровопотере. *Общая реаниматология.* 2017; 13 (6): 18–27. Ryzhkov I. A., Zarzhetsky Yu. V., Novoderzhkina I. S. Comparative aspects of the regulation of cutaneous and cerebral microcirculation during acute blood loss. *General Reanimatology = Obshchaya Reanimatologiya.* 2017; 13 (6): 18–27. (in Russ.&Eng.). DOI: 10.15360/1813-9779-2017-6-18-27.
- Cracowski J., Roustit M. Current methods to assess human cutaneous blood flow: an updated focus on laser-based-techniques. *Microcirculation.* 2016; 23 (5): 337–44. DOI: 10.1111/micc.12257. PMID: 26607042.
- Потапова Е. В., Михайлова М. А., Королева А. К., Ставцев Д. Д., Дремин В. В., Дунаев А. В., Якушкина Н. Ю., с соавт. Мультипараметрический подход к оценке кожной микроциркуляции у пациентов дерматологического профиля (на примере псориаза). *Физиол человека.* 2021; 47 (6): 33–42. Potapova E. V., Mikhailova M. A., Koroleva A. K., Stavtsev D. D., Dremmin V. B., Dunaev A. V., Yakushkina N. Y., et al. A multiparametric approach to assessing skin microcirculation in dermatological patients (using psoriasis as an example). *Human physiology = Physiologiya Cheloveka.* 2021; 47 (6): 33–42. (in Russ.). DOI: 10.31857/S013116462105009X.
- Holowatz L. A., Thompson-Torgerson C. S., Kenney W. L. The human cutaneous circulation as a model of generalized microvascular function. *J Appl Physiol (1985).* 2008; 105 (1): 370–372. DOI: 10.1152/jappphysiol.00858.2007. PMID: 17932300.
- Ураков А. Л., Касаткин А. А., Уракова Н. А., Деметьев В. Б. Инфракрасная термография пальцев рук человека как метод оценки адаптации регионарного кровообращения к кровопотере. *Регионарное кровообращение и микроциркуляция.* 2016; 15 (3): 24–29. Urakov A. L., Kasatkin A. A., Urakova N. A., Dement'ev V. B. Infrared thermography of human fingers as a method for assessing regional circulation adaptation to blood loss. *Regional Blood Circulation and Microcirculation = Regionarnoye Krovoobrashcheniye i Mikrociirkulyatsiya.* 2016; 15 (3): 24–29. (in Russ.). DOI: 10.24884/1682-6655-2016-15-3-24-29.
- Танканаг А. В. Методы вейвлет-анализа в комплексном подходе к исследованию кожной микрогемодинамики как единицы сердечно-сосудистой системы. *Регионарное кровообращение и микроциркуляция.* 2018; 17 (3): 33–41. Tankanag A. V. Wavelet analysis methods in the comprehensive study approach of skin microhemodynamics as a cardiovascular unit. *Regional Blood Circulation and Microcirculation = Regionarnoye Krovoobrashcheniye i Mikrociirkulyatsiya.* 2018; 17 (3): 33–41. (in Russ.). DOI: 10.24884/1682-6655-2018-17-3-33-41.
- Остапченко Д. А., Гутников А. И., Давыдова Л. А. Современные подходы к терапии травматического шока (обзор). *Общая реаниматология.* 2021; 17 (4): 65–76. Ostapchenko D. A., Gutnikov A. I., Davydova L. A. Current approaches to the treatment of traumatic shock (review). *General Reanimatology = Obshchaya Reanimatologiya.* 2021; 17 (4): 65–76. (in Russ.&Eng.). DOI: 10.15360/1813-9779-2021-4-65-76.
- Kerger H., Waschke K. E., Ackern K. V., Tsai A. G., Intaglietta M. Systemic and microcirculatory effects of autologous whole blood resuscitation in severe hemorrhagic shock. *Am J Physiol.* 1999; 276 (6): H2035–43. DOI: 10.1152/ajpheart.1999.276.6.H2035. PMID: 10362685.
- González R., Urbano J., López J., Solana M. J., Botrán M., García A., Fernández S. N., et al. Microcirculatory alterations during haemorrhagic shock and after resuscitation in a paediatric animal model. *Injury.* 2016; 47 (2): 335–341. DOI: 10.1016/j.injury.2015.10.075. PMID: 26612478.
- Tachon G., Harrois A., Tanaka S., Kato H., Huet O., Pottecher J., Vicaute E., et al. Microcirculatory alterations in traumatic hemorrhagic shock. *Crit Care Med.* 2014; 42 (6): 1433–1441. DOI: 10.1097/CCM.0000000000000223. PMID: 24561562.
- Крупаткин А. И., Сидоров В. В. Функциональная диагностика состояния микроциркуляторно-тканевых систем: Колебания, информация, нелинейность (Руководство для врачей). М: Книжный дом «ЛИБРИКОМ»; 2013: 496. Krupatkin A. I., Sidorov V. V. Functional diagnostics of microcirculatory and tissue systems: Fluctuations, information, non-linearity (A manual for doctors). Moscow: LIBRIKOM Book House; 2013. 496. (in Russ.).
- Dunn A. K. Laser speckle contrast imaging of cerebral blood flow. *Ann Biomed Eng.* 2012; 40 (2): 367–377. DOI: 10.1007/s10439-011-0469-0. PMID: 22109805.
- Piavchenko G., Kozlov I., Dremmin V., Stavtsev D., Seryogina E., Kandurova K., Shupletsov V., et al. Impairments of cerebral blood flow microcirculation in rats brought on by cardiac cessation and respiratory arrest. *J Biophotonics.* 2021; 14 (12): e202100216. DOI: 10.1002/jbio.202100216. PMID: 34534405.
- Golubova N., Potapova E., Seryogina E., Dremmin V. Time-frequency analysis of laser speckle contrast for transcranial assessment of cerebral blood flow. *Biomedical Signal Processing and Control.* 2023; 85: 104969. DOI: 10.1016/j.bspc.2023.104969.
- Ziebart A., Möllmann C., Garcia-Bardon A., Kamuf J., Schäfer M., Thomas R., Hartmann E. K. Effect of gelatin-polysuccinat on cerebral oxygenation and microcirculation in a porcine haemorrhagic shock model. *Scand J Trauma Resusc Emerg Med.* 2018; 26 (1): 15. DOI: 10.1186/s13049-018-0477-2. PMID: 29426350.

27. Golubova N., Ryzhkov I., Lapin K., Seryogina E., Dunaev A., Dremir V., Potapova E. Effect of thinned-skull cranial window on monitoring cerebral blood flow using laser speckle contrast imaging. *IEEE J Select Topics Quantum Electron.* 2025; 31 (4): 1–8. DOI: 10.1109/JSTQE.2025.3533950
28. Vishwanathan K., Chhajwani S., Gupta A., Vaishya R. Evaluation and management of haemorrhagic shock in polytrauma: clinical practice guidelines. *J Clin Orthop Trauma.* 2020; 13: 106–15. DOI: 10.1016/j.jcot.2020.12.003. PMID: 33680808.
29. Secher N. H., Van Lieshout J. J. Heart rate during haemorrhage: time for reappraisal. *J Physiol.* 2010; 588 (Pt 1): 19. DOI: 10.1113/jphysiol.2009.184499. PMID: 20045902.
30. Tew G. A., Klonizakis M., Crank H., Briers J. D., Hodges G. J. Comparison of laser speckle contrast imaging with laser Doppler for assessing microvascular function. *Microvasc Res.* 2011; 82 (3): 326–32. DOI: 10.1016/j.mvr.2011.07.007. PMID: 21803051.
31. Schadt J. C., Ludbrook J. Hemodynamic and neurohumoral responses to acute hypovolemia in conscious mammals. *Am J Physiol.* 1991; 260 (2 Pt 2): H305–18. DOI: 10.1152/ajpheart.1991.260.2.H305.PMID: 1671735.
32. Dubensky A., Ryzhkov I., Tsokolaeva Z., Lapin K., Kalabushev S., Varnakova L., Dolgikh V. Post-occlusive reactive hyperemia variables can be used to diagnose vascular dysfunction in hemorrhagic shock. *Microvasc Res.* 2024; 152: 104647. DOI: 10.1016/j.mvr.2023.104647. PMID: 38092223.

Поступила 11.03.2025

Принята 22.04.2024

Принята в печать 23.04.2025

Влияние ксенона на содержание ГСК-3 β , NF- κ B и Nrf2 в головном мозге крыс (экспериментальное исследование)

Е. Е. Беда, М. В. Габитов*, И. В. Редкин, И. А. Крюков, О. А. Гребенчиков

НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского,
Федеральный научно-клинический центр реаниматологии и реабилитологии,
Россия, 10703, г. Москва, ул. Петровка, д. 25, стр. 2

Для цитирования: Е. Е. Беда, М. В. Габитов, И. В. Редкин, И. А. Крюков, О. А. Гребенчиков. Влияние ксенона на содержание ГСК-3 β , NF- κ B и Nrf2 в головном мозге крыс (экспериментальное исследование). *Общая реаниматология*. 2025; 21 (3): 26–31. <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2025-3-2563> [На русск. и англ.]

*Адрес для корреспонденции: Михаил Валерьевич Габитов, gabitovmv@gmail.com

Резюме

Цель исследования. Изучение влияния субанестетических концентраций ксенона на содержание ГСК-3 β , NF- κ B и Nrf2 в головном мозге интактных крыс.

Материалы и методы. Лабораторных животных разделили на группы: 1-я группа Контроль — ингаляция азот-кислородной смеси, $n=5$; 2-я группа Xe-70 — ингаляция ксенона в концентрации 70%, $n=5$; 3-я группа Xe-35 — ингаляция ксенона в концентрации 35%, $n=5$. После эвтаназии лабораторных крыс выполнили вестерн-блоттинг с последующим денситометрическим анализом тканей мозга на содержание фосфо-ГСК-3 β , NF- κ B и Nrf2.

Результаты. Ингаляция ксенон-кислородной смеси привела к статистически значимому увеличению фосфорилированной формы ГСК-3 β в группе Xe-70 (95% ДИ: 593723–1018826; $p=0,0001$; $r=0,72$) и Xe-35 (95% ДИ: 872807–458413; $p=0,0001$; $r=0,80$) по отношению к группе Контроль. Применение ксенона привело к значимому снижению количества NF- κ B в группе Xe-70 (95% ДИ: 205138–601617; $p=0,0005$; $r=0,95$) и Xe-35 (95% ДИ: 217700–608462; $p=0,0003$; $r=0,95$) по отношению к группе Контроль. Ингаляция ксенона привела к статистически значимому увеличению содержания белка Nrf2 в группе Xe-35 по отношению к группе Контроль (95% ДИ: 692532–260926; $p=0,0002$; $r=0,91$).

Заключение. Ксенон в субанестетических концентрациях значимо влияет на содержание ГСК-3 β , NF- κ B и Nrf2 в головном мозге интактных крыс.

Ключевые слова: ксенон; ГСК-3 β ; NF- κ B; Nrf2; головной мозг; крысы

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The Effects of Xenon on GSK-3 β , NF- κ B, and Nrf2 Levels in the Rat Brain: An Experimental Study

Evgeniy E. Beda, Mikhail V. Gabitov*, Ivan V. Redkin,
Ivan A. Kryukov, Oleg A. Grebenchikov

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

Summary

Aim. To evaluate the impact of subanesthetic concentrations of xenon on the brain levels of GSK-3 β , NF- κ B, and Nrf2 in intact rats.

Materials and Methods. Male laboratory rats were randomly assigned to three groups ($N=5$ per group): the control group received inhalation of a nitrogen-oxygen gas mixture; the Xe-70 group received 70% xenon; and the Xe-35 group received 35% xenon. Following euthanasia, brain tissue samples were analyzed using Western blotting and densitometric quantification to assess levels of phosphorylated GSK-3 β , NF- κ B, and Nrf2.

Results. Inhalation of xenon-oxygen mixtures led to a statistically significant increase in phosphorylated GSK-3 β levels in both the Xe-70 group (95% CI: 593,723–1,018,826; $P=0.0001$; $R=0.72$) and the Xe-35 group (95% CI: 458,413–872,807; $P=0.0001$; $R=0.80$), compared with controls. Xenon exposure also resulted in a significant reduction in NF- κ B levels in the Xe-70 (95% CI: 205,138–601,617; $P=0.0005$; $R=0.95$) and Xe-35 (95% CI: 217,700–608,462; $P=0.0003$; $R=0.95$) groups. Furthermore, Nrf2 protein expression was significantly elevated in the Xe-35 group compared to controls (95% CI: 260,926–692,532; $P=0.0002$; $R=0.91$).

Conclusion. Subanesthetic xenon concentrations exert a significant modulatory effect on GSK-3 β , NF- κ B, and Nrf2 expression in the brain tissue of intact rats.

Keywords: xenon; GSK-3 β ; NF- κ B; Nrf2; brain; rats

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

Информация об авторах/Information about the authors:Евгений Евгеньевич Беда/Evgeniy E. Beda: <https://orcid.org/0009-0008-4637-7598>Михаил Валерьевич Габитов/Mikhail V. Gabitov: <https://orcid.org/0009-0005-9615-6118>Иван Валерьевич Редкин/Ivan V. Redkin: <https://orcid.org/0000-0001-7008-2038>Иван Александрович Крюков/Ivan A. Kryukov: <https://orcid.org/0000-0003-3121-2981>Олег Александрович Гребенчиков/Oleg A. Grebenchikov: <https://orcid.org/0000-0001-9045-6017>Read the full-text English version at www.reanimatology.com**Введение**

Комплекс биохимических реакций, с помощью которых клетки воспринимают, передают и интерпретируют сигналы, обеспечивает координацию важнейших процессов жизнедеятельности, таких как рост, дифференцировка, метаболизм и апоптоз. Сигнальные пути, как правило, формируются в виде каскадов: на каждом последующем уровне количество молекул белков, задействованных в передаче сигнала, увеличивается по мере удаления от исходного стимула. К основным компонентам таких структур относятся: рецепторы, связывающие молекулы (гормоны, цитокины и нейромедиаторы); киназы и адаптерные белки, передающие сигнал внутри клетки; эффекторные молекулы, которые запускают конечный ответ (активация генов, изменение метаболизма). Наиболее изучены следующие пути: PI3K/AKT/mTOR, MAPK/ERK, Wnt, JAK-STAT, Hedgehog, Fas [1–5].

GSK3 — гликогенсинтаза-киназа 3 (glycogen synthase kinase 3) участвует в передаче сигналов через многие каскады, указанные выше. Две изоформы GSK3 (GSK3 α и GSK3 β), имеют 85% общую гомологию аминокислотной последовательности и демонстрируют высокую идентичность в доменах киназы. В отличие от большинства киназ, GSK3 имеет устойчивую активность киназы и инактивируется фосфорилированием серина (Ser21 и Ser9). GSK-3 β играет ключевую роль в регуляции клеточного метаболизма, пролиферации клеток, апоптоза и синоптической пластичности [6].

Nrf2 (nuclear factor erythroid 2-related factor 2) — представитель семейства факторов транскрипции, являющийся главным регулятором антиоксидантного ответа. Он состоит из 605 аминокислот и включает семь функциональных доменов, обозначаемых как Neh1–Neh7. Nrf2 контролирует экспрессию генов, кодирующих антиоксидантные и цитопротекторные белки (например, глутатион-S-трансфераза, гемоксигеназа-1), что позволяет клеткам противостоять окислительному стрессу и воспалению [7, 8].

NF- κ B (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells) — один из универсальных факторов транскрипции, регулирующий воспалительный ответ клетки. Комплекс NF- κ B состоит из белков NFKB1, NFKB2, REL, RELB и RELD. Он контролирует экспрессию провоспалительных цитокинов (TNF- α , IL-6, IL-1 β) и хемокинов, а также регулирует врожденные

и адаптивные функции, являясь ключевым медиатором иммунного ответа [9].

В последние годы проведение общей анестезии на основе ксенона при хирургических вмешательствах носит спорадический характер. Несмотря на пониженный спрос использования препарата для анестезии, наблюдается рост исследований, направленных на поиск и изучение его терапевтических свойств [10–15]. В первую очередь, это обусловлено тем, что применение ксенона в концентрациях, не вызывающих анестезию, т. е. субанестетических, потенциально снижает риск критических инцидентов (нарушение сознания, угнетение дыхания и др.), а также уменьшает расход дорогостоящего анестетика, при этом сохраняя его фармакологическую активность. Известно, что минимальная альвеолярная концентрация (МАК) ксенона у человека, по разным данным, составляет 63,1 и 71% [16, 17]. Интересно, что у лабораторных животных, МАК ксенона отличается в несколько раз: у мышей это 95%, а у крыс — 161% [18].

По данным многочисленных исследований, применение ксенона в субанестетических концентрациях вызывает органопротекторные эффекты. При этом, заслуживают внимания несколько молекулярных мишеней ксенона, представляющих интерес с точки зрения фармакодинамического взаимодействия. Ксенон способен ингибировать NMDA-рецепторы, активировать АТФ-чувствительные и двупоровые калиевые каналы TREK-1 и TASK-3, оказывая нейропротекторный эффект; активировать сигнальные пути MAPK, PI3K/Akt, вызывая кардиопротекторный эффект; увеличивать экспрессию протеинкиназы B и HIF-1 α , приводя к ренопротекторному эффекту [19–26].

GSK-3 β , Nrf2 и NF- κ B — ключевые регуляторы клеточных процессов, в том числе и в головном мозге, играющие важную роль в поддержании гомеостаза, защите от стресса и регуляции воспаления. Их взаимодействие и баланс критически важны для нормального функционирования церебральных структур, а нарушение их активности связано с развитием нейродегенеративных и других патологических процессов.

Цель исследования — изучение влияния субанестетических концентраций ксенона на содержание GSK-3 β , NF- κ B и Nrf2 в головном мозге интактных крыс.

Материал и методы

Исследование выполнили на 15 крысах-самцах линии Wistar весом 250–350 г. Все экспериментальные работы провели в строгом соответствии с национальными и международными стандартами (рекомендации Коллегии Европейской экономической комиссии №33 от 14.11.2023; Директива Европейского союза по охране животных, используемых в научных целях 2010/63/EU; руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными, а также правила оборудования помещений и организации процедур, ГОСТ 33215-2014). Крыс содержали в вентилируемых клетках при температуре 18–22°C, влажности 30–70%, суточном ритме — 09.00–21.00. Всем животным предоставляли гранулированный полнорационный комбикорм, воду подавали в неограниченном количестве через поилки, предварительно очищенную. Накануне эксперимента крысы не получали стандартное питание, но имели доступ к воде. Протокол исследования был утвержден Локальным этическим комитетом ФНКЦ РР № 3/23/2 от 11.10.2023.

Лабораторных животных разделили на 3 группы: группа 1 ($n=5$) — контрольная группа с ингаляцией азот-кислородной смесью (азот 70%, кислород 30%) в течение 60 мин (группа Контроль);

группа 2 ($n=5$) — группа с ингаляцией ксенон-кислородной смесью (ксенон 70%, кислород 30%) в течение 60 мин (группа Хе-70);

группа 3 ($n=5$) — группа с ингаляцией ксенон-кислородной смесью (ксенон 35%, кислород 30%, азот 35%) в течение 60 мин (группа Хе-35).

Через 24 ч после завершения экспериментальной части работы выполнили эвтаназию лабораторных животных методом передозировки анестетика. Определение концентрации белка в мозговой ткани и вестерн-блоттинг провели по методу, описанному ранее О. А. Гребенчиковым и соавт. [27]. Для денситометрического анализа использовали программу ImageJ Software (National Institutes of Health, США), находящуюся в открытом доступе. Содержание ГСК-3 β , NF- κ B и Nrf2 выражали в условных единицах хемилюминесценции (у. е. хл.).

Данные обрабатывали статистически с использованием программы GraphPad Prizm (GraphPad Software, Version 10.4.2, США). Нормальность распределения признака в выборках оценивали с помощью критерия Шапиро–Уилка. Данные представили в виде $Me [Q1;$

$Q3]$, где Me — медианное значение, $Q1$ — первый квартиль (25-й процентиль) и $Q3$ — третий квартиль (75-й процентиль). Для анализа данных, характеризующихся нарушением нормальности распределения хотя бы в одной из сравниваемых групп, применяли следующие методы: при парных сравнениях использовали непараметрический U -критерий Манна–Уитни с коррекцией Бонферрони для множественных сравнений; для сравнения трех групп применяли критерий Краскела–Уолиса как основной метод анализа. При попарных сравнениях использовали пост-хок анализ с тестом Данна и коррекцией Бонферрони. Для оценки величины эффекта рассчитывали отношение медиан с 95% доверительными интервалами методом непараметрического бутстрепа. Во всех данных принимали двусторонний уровень статистической значимости $p < 0,05$.

Результаты

Ингаляция ксенон-кислородной смеси привела к статистически значимому увеличению фосфорилированной формы ГСК-3 β в группе Хе-70 (95% ДИ: 593723–1018826; $p=0,0001$; $r=0,72$) и Хе-35 (95% ДИ: 872807–458413; $p=0,0001$; $r=0,80$) по отношению к группе Контроль (табл., рис. а, б) (r (effect size): 0,5–0,7 — крупный эффект, $>0,7$ — очень крупный эффект).

Полученные результаты не продемонстрировали статистически значимых различий между группами, получавшими ксенон-кислородные смеси различной концентрации (70 и 35% Хе). При сравнении содержания фосфо-ГСК-3 β между группами отметили более высокое значение показателя в группе Хе-70, однако, данные различия оказались незначимы (Хе-70 1485347 [1283380–1711439]) против Хе-35 (1406472 [1165272–1573930], $p=0,075$). Содержание NF- κ B между группами также не различалось (Хе-70 731687 [555120–912777]) против Хе-35 (745535 [531662–880721], $p=0,069$). При анализе Nrf2 в разных группах статистически значимых различий также не выявили ($p=0,089$).

По данным денситометрического анализа Вестерн-блотов установили, что ингаляция ксенон-кислородной смеси привела к статистически значимому снижению количества NF- κ B в группе Хе-70 (95% ДИ: 205138–601617; $p=0,0005$; $r=0,95$) и Хе-35 (95% ДИ: 217700–608462; $p=0,0003$;

Таблица. Содержание исследуемых показателей в ткани мозга крыс при ингаляции ксенон-кислородной смеси.

Показатели	Значение показателя в группах, у. е. хл.		
	Контроль	Хе-70	Хе-35
фосфо-ГСК-3 β	739898 [517983–868427]	1485347 [1283380–1711439]	1406472 [1165272–1573930]
p^*		0,0001	0,0001
NF- κ B	1157280 [871386–1294758]	731687 [555120–912777]	745535 [531662–880721]
p^*		0,0005	0,0003
Nrf2	1111432 [867718–1241235]	1306910 [220388–1800363]	1550695 [1289715–1785378]
p^*		0,087	0,0002

Примечание. Данные представили по результатам денситометрического анализа Вестерн-блотов; у. е. хл. — условные единицы хемилюминесценции; * — по сравнению с группой Контроль.

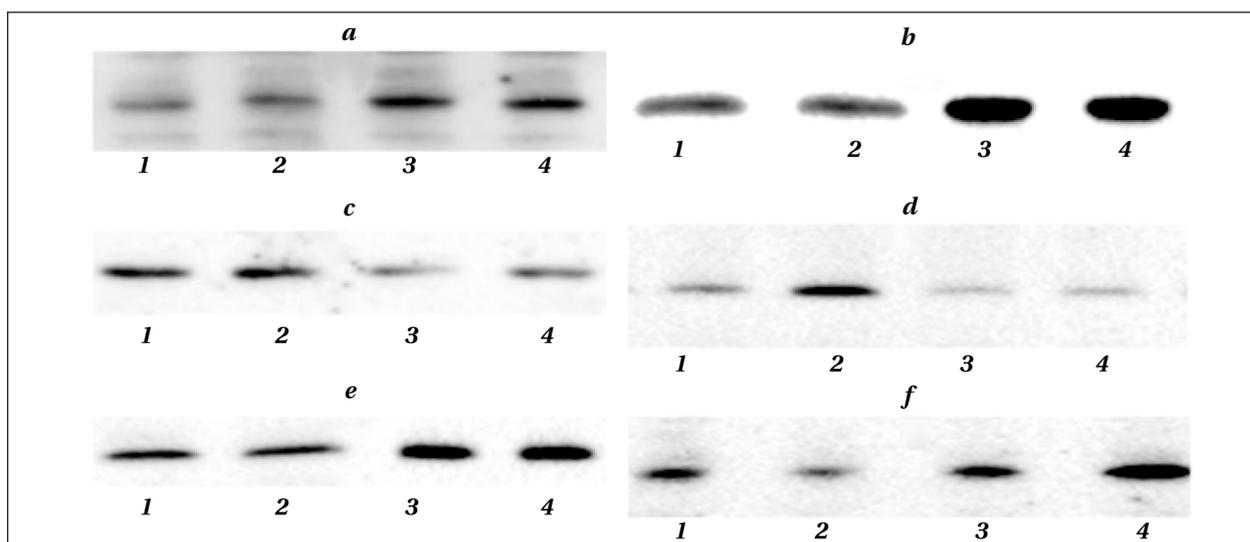


Рис. Вестерн-блоттинг: содержание фосфо-GSK-3β, NF-κB и Nrf2 в исследуемых группах.

Примечание. *a, b* — фосфо-GSK-3β; *c, d* — NF-κB; *e, f* — Nrf2; 1, 2 — образцы группы Контроль; 3, 4 — образцы экспериментальных групп.

$r=0,95$) по отношению к группе Контроль (табл., рис. *c, d*).

Ингаляция ксенон-кислородной смеси в группе Хе-70 привела к статистически незначимому увеличению содержания белка Nrf2, а в группе Хе-35 к статистически значимому его увеличению по отношению к группе Контроль (95% ДИ: 692532–260926; $p=0,0002$; $r=0,91$) (табл., рис. *e, f*).

Обсуждение

Определение модуляции ключевых сигнальных путей является перспективной стратегией в изучении препаратов, потенциально обладающих противовоспалительными, антиапоптотическими и цитопротекторными свойствами. Сегодня известно, что активная форма GSK-3β способствует открытию митохондриальной поры, приводя к нарушению мембранного потенциала, активации каспаз, повреждению нейронов и апоптозу. Напротив, инактивация GSK-3β через фосфорилирование связана с защитными механизмами, такими как снижение гибели клеток, усиление их выживаемости и уменьшение воспаления. Существует множество регуляторов вышестоящих функций GSK-3β в ответ на различные сигналы: Wnt, фосфоинозитид 3-киназа (PI3K, Phosphoinositide 3-kinase) / Протеинкиназа В (АКТ), ERK (extracellular-signal-regulated kinase) и p38 митоген-активированная киназа (MAPK, mitogen activated kinase). Таким образом, фармакологическое ингибирование GSK-3β может представлять собой перспективный терапевтический путь в лечении как острых заболеваний ЦНС, так и хронических нейродегенеративных расстройств [28].

Применение ксенона в субанестетических концентрациях (35 и 70%) значимо увеличило содержание фосфорилированной формы GSK-3β в головном мозге intactных крыс. Данный феномен свидетельствует о способности ксенона инактивировать этот фермент и, таким образом, моделировать цитопротекторный потенциал. В исследовании А. В. Ершова и соавт. [29] были получены сопоставимые данные — применение ксенон-кислородной смеси в субанестетической концентрации приводило к повышению фосфо-GSK-3β при моделировании ишемического инсульта.

По данным недавних исследований было показано, что фосфорилирование GSK-3β приводит к повышенной экспрессии Nrf2 [30, 31]. По данным вестерн-блоттинга в нашем исследовании, ингаляция ксенона в концентрации 35% привела к значимому увеличению содержания Nrf2 в мозге лабораторных животных. Эти данные указывают на фармакологическую эффективность субанестетической концентрации ксенона при воздействии на сигнальный путь GSK-3β/Nrf2, способствующий защите клеток от окислительного стресса.

Сигнальный каскад с участием NF-κB регулирует экспрессию провоспалительных генов. Канонический путь NF-κB активируется IL-1R, семейством TNFR и toll-подобными рецепторами, а неканонический — субъединицами семейства TNF, включая лиганд CD40, В-клеточный активирующий фактор (TNFSF13B) и лимфотоксин. Подавление NF-κB уменьшает воспалительные реакции, снижает апоптоз, что крайне важно при аутоиммунных заболеваниях [32]. В исследовании S. R. Yang и соавт. [33] было показано, что применение ксенон-кислородной смеси (ксе-

нон 70%, кислород 30%) подавляло активацию NF-κB/NLRP3 инфламмосомы при моделировании острого волчаночного нефрита у мышей.

В исследованиях *in vitro* было показано, что ксенон модулирует сигнальный путь PI3K/AKT/mTOR, способствуя активации NIF-1α и подавлению NF-κB-зависимых провоспалительных и апоптотических сигналов. Это приводило к снижению апоптоза, за счет увеличения уровня Bcl-2 и ингибирования HMGB-1, а также к подавлению воспаления через модуляцию NF-κB-зависимых процессов [34]. Наше исследование показало, что ингаляция ксенон-кислородной смеси в концентрациях 35 и 70% значимо снижало содержание NF-κB в головном мозге лабораторных животных. Это позволяет предположить, что применение ксенона в субанестетических концентрациях демонстрирует противовоспалительные и антиапоптотические свойства препарата *in vivo*.

В завершении хотелось бы отметить, что полученные результаты не продемонстрировали статистически значимых различий по ГСК-3β,

NF-κB и Nrf2 между группами Xe-35 и Xe-70. По всей видимости, это свидетельствует или о малой выборке, или о нелинейной дозозависимости изучаемых показателей в диапазоне исследуемых концентраций и временных рамках применения ксенона.

Заключение

В результате исследования установили, что применение ксенона в субанестетических концентрациях вызывает значимое изменение содержания ГСК-3β, NF-κB и Nrf2 в головном мозге интактных крыс.

Активация Nrf2 и подавление GSK-3β/NF-κB под действием ксенона в субанестетических концентрациях могут улучшить исходы церебральных заболеваний за счет уменьшения воспаления и снижения гибели нейронов.

Все вышеизложенное подтверждает цитопротекторный эффект ксенона, но требует дальнейшего изучения его терапевтических свойств в более масштабных исследованиях с расширенным дизайном.

Литература

- Mousavikia S. N., Darvish L., Firouzjaei A. A., Toossi M. T. B., Azimian H. J. PI3K/AKT/mTOR targeting in colorectal cancer radiotherapy: a systematic review. *Gastrointest Cancer*. 2025; 56 (1): 52. DOI: 10.1007/s12029-024-01160-1. PMID: 39849185.
- Park J. I. MAPK-ERK pathway. *Int J Mol Sci*. 2023; 24 (11): 9666. DOI: 10.3390/ijms24119666. PMID: 37298618.
- Iluta S., Nistor M., Buruiana S., Dima D. Wnt signaling pathway in tumor biology. *Genes (Basel)*. 2024; 15 (12): 1597. DOI: 10.3390/genes15121597. PMID: 39766864.
- Hu Q., Bian Q., Rong D., Wang L., Song J., Huang H. S., Zeng J., et al. JAK/STAT pathway: extracellular signals, diseases, immunity, and therapeutic regimens. *Front Bioeng Biotechnol*. 2023; 11: 1110765. DOI: 10.3389/fbioe.2023.1110765. eCollection 2023. PMID: 36911202.
- 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. Oстрова I. V., Grebenchikov O. A., Golubeva N. V. Neuroprotective effect of lithium chloride in rat model of cardiac arrest. *General Reanimatologiya = Obshchaya Reanimatologiya*. 2019; 15 (3): 73–82. (in Russ.&Eng.). DOI: 10.15360/1813-9779-2019-3-73-82.
- Zhang J., Yang S. G., Zhou F. Q. Glycogen synthase kinase 3 signaling in neural regeneration *in vivo*. *J Mol Cell Biol*. 2024; 15 (12): mjad075. DOI: 10.1093/jmcb/mjad075. PMID: 38059848.
- Saha S., Buttari B., Panieri E., Profumo E., Saso L. An overview of Nrf2 signaling pathway and its role in inflammation. *Molecules*. 2020; 25 (22): 5474. DOI: 10.3390/molecules25225474. PMID: 33238435.
- Шиловский Г. А., Сорокина Е. В., Орловский И. В. Транскрипционный фактор NRF2 — мишень активирующих антиоксидантную систему клетки препаратов: перспективы применения при возрастных заболеваниях. *Клиническая геронтология*. 2021; 27 (11–12): 57–62. Shilovskiy G. A., Sorokina E. V., Orlovskiy I. V. Transcription factor NRF2 — a target of potential antioxidant drugs: prospects in treatment of age-related diseases. *Clinical Gerontology = Klinicheskaya Gerontologiya*. 2021; 27 (11–12): 57–62. (in Russ.). DOI: 10.26347/1607-2499202111-12057-062.
- Barnabei L., Laplantine E., Mbongo W., Rieux-Laucat F., Weil R. NF-κB: at the borders of autoimmunity and inflammation. *Front Immunol*. 2021; 12: 716469. DOI: 10.3389/fimmu.2021.716469. PMID: 34434197
- Боева Е. А., Гребенчиков О. А. Органопротективные свойства аргона (обзор). *Общая реаниматология*. 2022; 18 (5): 44–59. Boeva E. A., Grebenchikov O. A. Organoprotective properties of argon (review). *General Reanimatologiya = Obshchaya Reanimatologiya*. 2022; 18 (5): 44–59. (in Russ.&Eng.). DOI: 10.15360/1813-9779-2022-5-44-59.
- Kaufman M. J., Meloni E. G. Xenon gas as a potential treatment for opioid use disorder, alcohol use disorder, and related disorders. *Med Gas Res*. 2025; 15 (2): 234–253. DOI: 10.4103/mgr.MEDGASRES-D-24-00063. PMID: 39812023.
- Antonova V. V., Silachev D. N., Plotnikov E. Y., Pevzner I. B., Yakupova E. I., Pisarev M. V., Boeva E. A., et al. Neuroprotective effects of krypton inhalation on photothrombotic ischemic stroke. *Biomedicines*. 2024; 12 (3): 635. DOI: 10.3390/biomedicines12030635. PMID: 38540249.
- Гребенчиков О. А., Молчанов И. В., Шпичко А. И., Евсеев А. К., Шабанов А. К., Хусаинов Ш. Ж., Петриков С. С. Нейропротективные свойства ксенона по данным экспериментальных исследований. *Журнал им. Н. В. Склифосовского Неотложная медицинская помощь*. 2020; 9 (1): 85–95. Grebenchikov O. A., Molchanov I. V., Shpichko A. I., Evseev A. K., Shabanov A. K., Khusainov S. Z., Petrikov S. S. Neuroprotective properties of xenon according to experimental studies. *Russian Sklifosovskiy Journal «Emergency Medical Care» = Zhurnal im. N. V. Sklifosovskogo «Neotlozhnaya Meditsinskaya Pomoshch»*. 2020; 9 (1): 85–95. (in Russ.). DOI: 10.23934/2223-9022-2020-9-1-85-95.
- Беда Е. Е., Габитов М. В., Гребенчиков О. А. Влияние ксенона в различных концентрациях на объем поражения головного мозга и выраженность неврологических нарушений у крыс при моделировании открытой черепно-мозговой травмы. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2024; 68 (1): 26–36. Beda E. E., Gabitov M. V., Grebenchikov O. A. The effect of xenon in various concentrations on the volume of brain damage and severity of neurological disorders in rat model of open traumatic brain injury. *Pathological Physiology and Experimental Therapy = Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimentalnaya Terapiya*. 2024; 68 (1): 26–36. (in Russ.). DOI: 10.25557/0031-2991.2024.01.26-36.
- Шпичко А. И., Гребенчиков О. А., Молчанов И. В., Шабанов А. К., Шпичко Н. П., Каданцева К. К. Кардиопротективные свойства ксенона. *Журнал им. Н. В. Склифосовского Неотложная медицинская помощь*. 2020; 9 (2): 266–271. Shpichko A. I., Grebenchikov O. A., Molchanov I. V., Shabanov A. K., Shpichko N. P., Kadantseva K. K. Cardioprotective properties of xenon. *Russian Sklifosovskiy Journal «Emergency Medical Care» = Zhurnal im. N. V. Sklifosovskogo «Neotlozhnaya Meditsinskaya Pomoshch»*. 2020; 9 (2): 266–271. (in Russ.). DOI: 10.23934/2223-9022-2020-9-2-266-271.
- Nakata Y., Goto T., Ishiguro Y., Terui K., Kawakami H., Santo M., Niimi Y., et al. Minimum alveolar concentration (MAC) of xenon with sevoflurane in humans. *J Am Soc Anesthesiol*. 2001; 94 (4):

- 611–614. DOI: 10.1097/00000542-200104000-00014. PMID: 11379681.
17. Cullen S. C., Eger E. D. II, Cullen B. F., Gregory P. Observations on the anesthetic effect of the combination of xenon and halothane. *Anesthesiology*. 1969; 31: 305–30. DOI: 10.1097/00000542-196910000-00003. PMID: 5811596.
 18. Koblin D. D., Fang Z., Eger E. I., Laster M. J., Gong D., Ionescu P., Halsey M. J., et al. Minimum alveolar concentrations of noble gases, nitrogen, and sulfur hexafluoride in rats: helium and neon as nonimmobilizers (nonanesthetics). *Anesth Analg*. 1998; 87 (2): 419–424. DOI: 10.1213/00000539-199808000-00035. PMID: 9706943.
 19. Политов М. Е., Подпругина С. В., Золотова Е. Н., Ногтев П. В., Агакина Ю. С., Жукова С. Г., Яворовский А. Г. Клиническое применение ксенона в субанестетических концентрациях (обзор). *Общая реаниматология*. 2025; 21 (2): 55–67. Politov M. E., Podprugina S. V., Zolotova E. N., Nogtev P. V., Agakina Yu. S., Zhukova S. G., Yavorovskiy A. G. Clinical application of xenon in subanesthetic concentrations (review). *General Reanimatology = Obshchaya Reanimatologiya*. 2025; 21 (2): 55–67. (in Russ&Eng.). DOI: 10.15360/1813-9779-2025-2-2554.
 20. Veldeman M., Coburn M., Rossaint R., Clusmann H., Nolte K., Kremer B., Höllig A. Xenon reduces neuronal hippocampal damage and alters the pattern of microglial activation after experimental subarachnoid hemorrhage: a randomized controlled animal trial. *Front Neurol*. 2017; 8: 511. DOI: 10.3389/fneur.2017.00511. PMID: 29021779.
 21. Amer A. R., Oorschot D. E. Xenon combined with hypothermia in perinatal hypoxic-ischemic encephalopathy: a noble gas, a noble mission. *Pediatr Neurol*. 2018; 84: 5–10. DOI: 10.1016/j.pediatrneurol.2018.02.009. PMID: 29887039.
 22. Campos-Pires R., Onggradito H., Ujvari E., Karimi S., Valeo F., Aldhoun J., Edge C. J., et al. Xenon treatment after severe traumatic brain injury improves locomotor outcome, reduces acute neuronal loss and enhances early beneficial neuroinflammation: a randomized, blinded, controlled animal study. *Crit Care*. 2020; 24: 667. DOI: 10.1186/s13054-020-03373-9. PMID: 33246487.
 23. Hollmén C., Parkkola R., Vorobyev V., Saunavaara J., Laitio R., Arola O., Hynninen M., et al. Neuroprotective effects of inhaled xenon gas on brain structural gray matter changes after out-of-hospital cardiac arrest evaluated by morphometric analysis: a sub-study of the randomized xe-hypothesia trial. *Neurocrit Care*. 2025; 42 (1): 131–141. DOI: 10.1007/s12028-024-02053-8. PMID: 38982000.
 24. Brandao W., Jain N., Yin Z., Kleemann K. L., Carpenter M., Bao X., Serrano J. R., et al. Inhaled xenon modulates microglia and ameliorates disease in mouse models of amyloidosis and tauopathy. *Sci Transl. Med*. 2025; 17 (781): eadk3690. DOI: 10.1126/scitranslmed.adk3690. PMID: 39813317.
 25. Filev A. D., Silachev D. N., Ryzhkov I. A., Lapin K. N., Babkina A. S., Grebenchikov O. A., Pisarev V. M. Effect of xenon treatment on gene expression in brain tissue after traumatic brain injury in rats. *Brain Sci*. 2021; 11 (7): 889. DOI: 10.3390/brainsci11070889. PMID: 34356124.
 26. Кабиольский И. А., Симоненко С. Д., Сарычева Н. Ю., Дубынин В. А. Терапевтические эффекты инертных газов. *Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова*. 2024; 110 (10): 1582–1601. *Kabiolsky I. A., Simonenko S. D., Sarycheva N. Yu., Dubynin V. A.* Therapeutic effects of inert gases. *I. M. Sechenov Russian Journal of Physiology = Ross. Fiziol. Zh. Im. I. M. Sechenova*. 2024; 110 (10): 1582–1601. (in Russ.). DOI: 10.31857/S0869813924100033.
 27. Гребенчиков О. А., Аврущенко М. Ш., Борисов К. Ю., Ильин Ю. В., Лихванцев В. В. Нейропротекторные эффекты севофлурана на модели тотальной ишемии-реперфузии. *Клиническая патофизиология*. 2014; 2: 57–62. *Grebenchikov O. A., Avrushchenko M. Sh., Borisov K. Yu., Ilyin Yu. V., Likhvantsev V. V.* Neuroprotective effects of sevoflurane on a total ischemia-reperfusion model. *Clinical Pathophysiology / Klinicheskaya Patofysiologiya*. (in Russ.). 2014; 2: 57–62.
 28. Ruiz S. A., Rippin I., Eldar-Finkelman H. Prospects in GSK-3 signaling: from cellular regulation to disease therapy. *Cells*. 2022; 11 (10): 1618. DOI: 10.3390/cells11101618. PMID: 35626655.
 29. Еришов А. В., Крюков И. А., Антонова В. В., Баева А. А. Влияние ксенона на активность гликоген-синтазы киназы-3β в перифокальной зоне ишемического инсульта (экспериментальное исследование). *Общая реаниматология*. 2023; 19 (2): 60–67. *Ershov A. V., Krukov I. A., Antonova V. V., Baeva A. A.* The effect of xenon on the activity of glycogen synthase kinase-3b in the perifocal zone of ischemic cerebral infarction (experimental study). *General Reanimatology = Obshchaya Reanimatologiya*. 2023; 19 (2): 60–67. (in Russ.&Eng.). DOI: 10.15360/1813-9779-2023-2-2274.
 30. Li Y., Chu L., Liu C., Zha Z., Shu Y. Protective effect of GSK-3β/Nrf2 mediated by dimethyl fumarate in middle cerebral artery embolization reperfusion rat model. *Curr Neurovasc Res*. 2021; 18 (4): 456–464. DOI: 10.2174/1567202618666211109105024. PMID: 34751118.
 31. Niu Q., Sun W., Chen Q., Long Y., Cao W., Wen S., Li A., et al. Protective effects of ischemic postconditioning on livers in rats with limb ischemia-reperfusion via glycogen synthase kinase 3 beta (GSK-3β)/fyn/nuclear receptor-erythroid-2-related factor (Nrf2) pathway. *Med Sci Monit*. 2020; 26. DOI: 10.12659/MSM.923049. PMID: 32686659.
 32. Yu H., Lin L., Zhang Z., Zhang H., Hu H. Targeting NF-kappaB pathway for the therapy of diseases: mechanism and clinical study. *Signal Transduct Target Ther*. 2020; 5 (1): 209. DOI: 10.1038/s41392-020-00312-6. PMID: 32958760.
 33. Yang S. R., Hua K. F., Chu L. J., Hwu Y. K., Yang S. M., Wu C. Y., Lin T. J., et al. Xenon blunts NF-kappaB/NLRP3 inflammasome activation and improves acute onset of accelerated and severe lupus nephritis in mice. *Kidney Int*. 2020; 98 (2): 378–390. DOI: 10.1016/j.kint.2020.02.033. PMID: 32622527.
 34. Zhao H., Huang H., Ologunde R., Lloyd D. G., Watts H., Vizcaychipi M. P., Lian Q., et al. Xenon treatment protects against remote lung injury after kidney transplantation in rats. *Anesthesiology*. 2015; 122: 1312–26. DOI: 10.1097/ALN.0000000000000664. PMID: 25856291.

Поступила 14.03.2025
Принята 06.06.2025

Влияние интерлейкина-6 и гипоксии на экспрессию белков-маркеров повреждения головного мозга в клеточной модели нейроваскулярной единицы

А. А. Ивкин^{1*}, Е. В. Григорьев¹, Е. Д. Хилажева²

¹ НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний Минобрнауки России, Россия, 650002, г. Кемерово, бульвар им. акад. Л. С. Барбараша, д. 6

² НИИ молекулярной медицины и патобиохимии Красноярского государственного медицинского университета им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава России, Россия, 660022, Красноярский край, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 1

Для цитирования: А. А. Ивкин, Е. В. Григорьев, Е. Д. Хилажева. Влияние интерлейкина-6 и гипоксии на экспрессию белков-маркеров повреждения головного мозга в клеточной модели нейроваскулярной единицы. *Общая реаниматология*. 2025; 21 (3): 32–40. <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2025-3-2540> [На русск. и англ.]

*Адрес для корреспонденции: Ивкин Артём Александрович, ivkiaa@kemcardio.ru

Резюме

Высокая частота послеоперационных когнитивных нарушений при кардиохирургических операциях у детей обуславливает поиск новых стратегий нейропротекции.

Цель исследования. Установить влияние гипоксии и интерлейкина-6 (ИЛ-6) на экспрессию клаудина-5, окклюдина-1, рецепторов ИЛ-1 и ИЛ-6 в клетках нейроваскулярной единицы (НВЕ).

Материалы и методы. В исследовании *in vitro* сформировали клеточную модель НВЕ, состоящую из нейронов, астроцитов и эндотелиоцитов. Провели культивирование НВЕ в условиях нормоксии и гипоксии с содержанием кислорода в среде 15, 10, 7 и 5%, а также с добавлением сыворотки больных из групп с максимальной и минимальной концентрацией ИЛ-6. Инкубацию клеток проводили в режиме нормотермии в течение 30 мин с дальнейшей оценкой экспрессии маркеров повреждения клеток НВЕ.

Результаты. Уменьшение интенсивности флюоресценции для клаудина-5 наступало при 10% кислорода в среде (15,2 vs 34,3 в контрольной группе ($p=0,0105$)) и менее. На окклюдин-1 гипоксия не оказала влияния. Увеличение флюоресценции для экспрессии рецепторов интерлейкина-1 отметили при 7 и 5% кислорода (соответственно 12,2 и 12,9 vs 9,9 в контрольной группе, $p=0,0105$), но гипоксия не повлияла на экспрессию рецепторов интерлейкина-6. В группе с нормоксией и во всех группах с гипоксией добавление сыворотки пациентов значимо влияло на экспрессию исследуемых маркеров, гипоксия потенцировала данные эффекты. Добавление сыворотки с максимальным содержанием ИЛ-6 приводило к наибольшему снижению интенсивности флюоресценции маркеров.

Заключение. Воздействие ИЛ-6 оказало более выраженное действие на экспрессию исследуемых маркеров в клетках НВЕ, чем гипоксия. Гипоксия с концентрацией кислорода в среде до 10% не обладала действием на экспрессию маркеров.

Ключевые слова: нейроваскулярная единица; нейроны; астроциты; эндотелиоциты; гипоксия; ИЛ-6; рецептор ИЛ-1; клаудин-5; окклюдин-1

Финансирование. Исследование поддержано грантом Российского научного фонда № 22-15-00258, <https://rscf.ru/project/22-15-00258/>.

The Impact of Interleukin-6 and Hypoxia on the Expression of Brain Injury Marker Proteins in a Cellular Model of the Neurovascular Unit

Artem A. Ivkin^{1*}, Evgeniy V. Grigoriev¹, Elena D. Khilazheva²

¹ Research Institute of Complex Problems of Cardiovascular Disease, Ministry of Education and Science of the Russian Federation, 6 Academician L. S. Barbarash Boulevard, 650002 Kemerovo, Russia

² Research Institute of Molecular Medicine and Pathobiochemistry, Prof. V.F. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University, Ministry of Health of Russia, 1 Partizana Zheleznyaka Str., 660022 Krasnoyarsk, Krasnoyarsk area, Russia

Summary

The high incidence of postoperative cognitive dysfunction in children undergoing cardiac surgery underscores the urgent need for effective neuroprotective strategies.

Aim. To examine the effects of hypoxia and interleukin-6 (IL-6) on the expression of claudin-5, occludin-1, and interleukin-1 (IL-1) and IL-6 receptors in neurovascular unit (NVU) cells.

Materials and methods. An *in vitro* NVU model comprising neurons, astrocytes, and endothelial cells was established. The cells were cultured under normoxic and hypoxic conditions with oxygen concentrations of 15%, 10%, 7%, and 5%. The cultures were also treated with patient-derived sera containing high or low levels

of IL-6. All incubations were conducted under normothermic conditions for 30 minutes. Injury marker expression was then assessed using fluorescence analysis.

Results. Significant reductions in claudin-5 fluorescence intensity were observed at oxygen levels of 10% and below (15.2 vs. 34.3 in controls, $P=0.0105$). Hypoxia did not affect occludin-1 expression. IL-1 receptor fluorescence intensity increased under 7% and 5% oxygen conditions (12.2 and 12.9 versus 9.9 in the control group, $P=0.0105$), while IL-6 receptor expression remained unchanged. In both normoxic and hypoxic conditions, adding patient sera significantly altered marker expression; hypoxia enhanced these effects. Sera with the highest IL-6 levels induced the most pronounced reduction in injury marker fluorescence.

Conclusion. IL-6 had a more significant impact on injury marker expression in NVU cells than hypoxia did. Hypoxic conditions with oxygen concentrations down to 10% did not affect marker expression.

Keywords: *neurovascular unit, neurons, astrocytes, endothelial cells, hypoxia, interleukin-6, IL-1 receptor, claudin-5, occludin-1*

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

Funding. This study was supported by the Russian Science Foundation (grant No. 22-15-00258). <https://rscf.ru/project/22-15-00258>.

Информация об авторах/ Information about the authors:

Ивкин Артем Александрович/Artem A. Ivkin: <http://orcid.org/0000-0002-3899-1642>.

Григорьев Евгений Валерьевич/Evgeniy V. Grigoriev: <http://orcid.org/0000-0001-8370-3083>.

Хилажева Елена Дмитриевна/Elena D. Khilazheva: <http://orcid.org/0000-0002-9718-1260>

Read the full-text English version at www.reanimatology.com

Введение

Современные достижения кардиохирургии и кардиоанестезиологии достигли такого уровня, что при проведении хирургических операций необходимо учитывать сохранение не только жизненно важных функций пациента, но и качества его жизни. Когнитивные функции играют важную роль в этом контексте, и требуется приложить все усилия для их поддержания на уровне, существовавшем до операции. Однако многочисленные исследования показывают, что кардиохирургические операции у детей часто связаны с высоким риском послеоперационных когнитивных нарушений. Послеоперационный делирий (ПОД) фиксируется в 40–65% случаев [1–4]. Это состояние значительно увеличивает время пребывания пациента в отделении интенсивной терапии из-за нарастания потребности в механической вентиляции, седативных препаратах и других вмешательствах [1, 5]. В результате увеличивается продолжительность госпитализации и летальность [6]. Более того, негативное влияние ПОД не ограничивается только этими эффектами, так как было установлено, что он имеет долгосрочные последствия, снижающие когнитивные способности ребенка в течение нескольких месяцев после операции. Подобные долгосрочные последствия могут возникать не только из-за ПОД, но и вследствие любых церебральных повреждений, происходящих во время операции [7, 8].

Существуют данные о негативных поведенческих изменениях у детей, перенесших эпизод послеоперационного делирия. Эти изменения могут проявляться в виде проблем с концентрацией внимания, эмоциональной нестабильности и трудностей в социальных взаимодействиях. Исследования показывают, что такие дети могут сталкиваться с долгосрочными последствиями,

влияющими на их психоэмоциональное состояние и качество жизни [9]. Это приводит к трудностям использования уже приобретенных навыков, а также к проблемам в освоении новой информации, что особенно актуально для детей дошкольного возраста [10, 11]. Развитие делирия у детей приводит к увеличению как медицинских, так и финансовых затрат [12].

При рассмотрении причин высокой частоты когнитивных нарушений после хирургической коррекции врожденных пороков сердца у детей следует учитывать, что кардиохирургические вмешательства включают множество патологических факторов, оказывающих негативное воздействие на мозг и вызывающих церебральные повреждения. К таким факторам относятся влияние анестетиков, которые способны вызывать апоптоз нейронов и нарушать синаптическую пластичность, что в свою очередь может приводить к когнитивным нарушениям. Кроме того, следует учитывать возможные эпизоды гипоксии и нестабильной гемодинамики, применение симпатомиметических препаратов и длительность операции, что характерно, но не уникально для данного типа вмешательств [13–15].

Особенностью же кардиохирургических операций является частое использование искусственного кровообращения (ИК). Эффекты, связанные с ИК и создающие риски церебрального повреждения, включают микроэмболию, ламинарный поток крови и циркуляторный арест. И даже гипотермия, которая очень часто применяется в детской кардиохирургии по различным причинам, может иметь как защитные свойства для головного мозга, так и негативные, как, например, изменение реологических свойств крови и нарушения микроциркуляции, а также инициацию нейровоспаления посредством активации CIRBP (Cold-inducible RNA-binding pro-

tein) [16–18]. Эти факторы требуют особого внимания и тщательного контроля для минимизации риска повреждения мозга.

Функционирование клеток мозга осуществляется посредством взаимодействия структур комплекса: сосудов и астроцитов, образующих гематоэнцефалический барьер, и нейронов (рис. 1). Данный комплекс носит название нейроваскулярной единицы (НВЕ). Под действием прямых деструктивных факторов и системного воспаления в мозге происходит разрушение гематоэнцефалического барьера и поступление через него в НВЕ системных цитокинов, которые усиливают возникшее нейровоспаление и нарушают функционирование НВЕ через различные механизмы. В частности, интерлейкин-1 β способен вызывать дисфункцию глимфатической системы, взаимодействуя с астроцитами, и тем самым нарушать выведение токсинов, что усугубляет цикл нейровоспаления [19–23].

Таким образом, интерлейкин-1 β способен выступать в качестве маркера развития воспаления. Два других потенциальных маркера — это клаудин-5 и окклюдин-1, которые являются белками плотных контактов гематоэнцефалического барьера и их исследование отражает состояние данной структуры. Так как многочисленные исследования доказали корреляцию между концентрацией данных маркеров в крови и клинической картиной повреждения головного мозга, а также есть данные, что клаудин-5 и окклюдин-1 участвуют в процессе воспаления, то существует возможность их использования для оценки состояния НВЕ [24–26].

Исходя из вышеописанного можно заключить, что существует сочетание прямых повреждающих факторов и тех, которые действуют косвенно, через системное воспаление, приводящее к последующей гибели НВЕ (рис. 2). В этом контексте применение любых методик, направленных на ограничение системного воспалительного ответа (СВО) у детей, которым проводится коррекция ВПС, представляет особый интерес. Од-

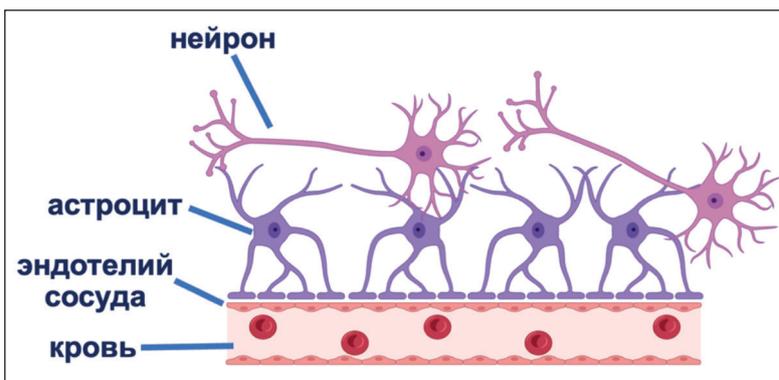


Рис. 1. Схема строения нейроваскулярной единицы (рисунок авторов).

ним из возможных подходов является ограничение использования донорских компонентов крови в течение интраоперационного и послеоперационного периода. Эта концепция особенно критична для педиатрических пациентов, поскольку трансфузии в кардиохирургии часто проводятся профилактически для предотвращения избыточной гемодилюции, возникающей из-за несоответствия между объемом циркулирующей крови ребенка и объемом, необходимым для подготовки системы ИК [21].

Однако исследования показали, что донорские компоненты крови сами по себе могут быть источником СВО [27, 28]. Тем не менее, несмотря на сложность этой проблемы, донорские компоненты крови при ИК используются не путем системного регулирования, а по усмотрению анестезиолога или перфузиолога.

В настоящее время в педиатрической практике преобладает рестриктивная стратегия трансфузий из-за многочисленных рисков. Эти



Рис. 2. Схема воздействия патологических факторов на нейроваскулярную единицу во время кардиохирургических вмешательств (рисунок авторов).

риски включают возможность развития инфекций, острых гемолитических реакций, метаболических осложнений в виде гиперкалиемии или гипокальциемии, аллергических реакций, а также синдромов перегрузки кровообращения, ассоциированной с трансфузией (ТАСО), и острого легочного повреждения, связанного с трансфузией (TRALI). Тем не менее, в кардиохирургии трансфузия по-прежнему широко используется из-за опасений осложнений гемодилюции в период экстракорпорального кровообращения [29–31]. Следовательно, актуальным остается вопрос: что оказывает больший деструктивный эффект на НВЕ — гипоксия, вызванная гемодилюцией, или же системное воспаление, как результат применения компонентов донорской крови.

Цель экспериментального исследования — установление влияния гипоксии и интерлейкина-6 (ИЛ-6) на экспрессию клаудина-5, окклюдина-1, рецепторов ИЛ-1 и ИЛ-6 в клетках нейроваскулярной единицы.

Материал и методы

В лаборатории КрасГМУ разработали модель повреждения головного мозга при кардиохирургических операциях на основе клеточной модели НВЕ, которую культивировали в условиях, аналогичных интраоперационным. Посредством реализации следующих этапов на базе КрасГМУ провели экспериментальное исследование.

1. Получение первичных культур клеток головного мозга *in vitro*.

Процесс получения первичных культур клеток головного *in vitro* и формирование экспериментальных групп подробно описали в ранее опубликованной работе [32]. Индикатором степени выраженности системного воспаления выступила концентрация интерлейкина-6 (ИЛ-6) в сыворотке крови пациентов.

2. Формирование экспериментальных групп.

Для определения эффектов ИЛ-6 на клеточную модель НВЕ *in vitro* в культуральную среду добавляли образцы сыворотки с минимальной и максимальной концентрацией ИЛ-6. Это позволило моделировать воздействие системного воспаления различной выраженности.

Сформировали группы с зависимости от концентрации ИЛ-6 в образце.

1. Группа «Контроль» — интактная модель НВЕ.
2. Группа «Минимум» — образцы с минимальным содержанием ИЛ-6 в культуре.
3. Группа «Максимум» — образцы с максимальным содержанием ИЛ-6 в культуре.

В соответствии с условиями гипоксической инкубации НВЕ сформировали группы:

1. Контрольная — стандартные условия культивирования: N_2 — 75%, O_2 — 20%, CO_2 — 5%.
2. Гипоксия 1: N_2 — 80%, O_2 — 15%, CO_2 — 5%.

3. Гипоксия 2: N_2 — 85%, O_2 — 10%, CO_2 — 5%.

4. Гипоксия 3: N_2 — 88%, O_2 — 7%, CO_2 — 5%.

5. Гипоксия 4: N_2 — 90%, O_2 — 5%, CO_2 — 5%.

Инкубацию проводили при 37°C. Длительность воздействия гипоксией составила 30 мин.

Число повторностей в каждой группе составило 5.

На данном этапе исследования оценили воздействия сыворотки с высоким и низким содержанием ИЛ-6, а также различных кислородных условий на следующие параметры: экспрессия белков плотных контактов (клаудин 5, ZO-1), экспрессия рецепторов и концентрация в культуральной жидкости цитокинов (ИЛ-1, ИЛ-6).

3. Иммуноцитохимические исследования.

Для регистрации целевых молекул-маркеров использовали метод двойного непрямого иммуноцитохимического окрашивания согласно протоколу фирмы-изготовителя антител. Использовали первичные антитела к клаудину-5 (Claudin 5) (AF0130, Affinity Biosciences), окклюдину-1 (ZO1) (AF5145, Affinity Biosciences), Interleukin 1 Receptor Type I (PAA066Ra01, Cloud-Clone Corp), Interleukin 6 Receptor (DF2530, Affinity Biosciences). Технология исследования более подробно описана в другом нашем исследовании [32].

Статистический анализ.

Данные обрабатывали статистически с помощью программы BioStat Pro 5.9.8 и представили в тексте, таблицах в виде медианы (*Me*), верхнего (*Q1*) и нижнего (*Q3*) квартилей, так как большинство данных имело характер распределения, отличный от нормального (критерий Шапиро–Уилка, $p < 0,05$). Количественные переменные сравнивали с использованием одностороннего критерия Манна–Уитни. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$. Для выявления значимых отличий в нескольких независимых группах применяли критерий Краскела–Уоллеса. Для попарного сравнения групп использовали критерий Манна–Уитни с применением поправки Бонферрони. С учетом поправки Бонферрони на множественные сравнения, критический уровень значимости равнялся 0,0125, так как для выявления влияния гипоксии на НВЕ сравнивали 4 исследуемых группы с одной контрольной. Для выявления влияния ИЛ-6 на НВЕ сравнили между собой группы с максимальным и минимальным содержанием ИЛ-6, с учетом поправки Бонферрони на множественные сравнения, критический уровень значимости был равен 0,017.

Результаты и обсуждение

При воздействии гипоксии отметили уменьшение интенсивности флюоресценции клаудина-5 с 34,3 у. е. до 27,0 у. е. Статистически значимым снижением было в группах с гипоксией 10% ($p=0,0105$), 7% ($p=0,0105$) и 5% ($p=0,0105$) (табл. 1).

Воздействие гипоксии с концентрацией кислорода 15% не вызвало значимого снижения экспрессии клаудина-5. При этом одновременное воздействие гипоксии и ИЛ-6 вызвало умень-

Таблица 1. Интенсивность флюоресценции клаудина-5.

Группы	Значения показателей при различном содержании O ₂					p-value				
	Нормоксия	15%	10%	7%	5%	Сравнения 15% vs 10% vs 7% vs 5%	Контрольная vs 15%	Контрольная vs 10%	Контрольная vs 7%	Контрольная vs 5%
Контрольная	34,3 [30,9–36,9]	27,0 [25,1–28,7]	15,2 [13,5–16,9]	10,6 [8,5–12,5]	13,0 [11,5–13,6]	0,0029	0,0416	0,0105	0,0105	0,0105
«Минимум»	13,5 [11,2–15,8]	10,7 [10,0–11,6]	8,6 [8,0–9,0]	7,4 [6,4–8,3]	6,9 [6,4–7,4]	0,0043	0,0956	0,0105	0,0105	0,0105
«Максимум»	3,6 [3,3–3,8]	4,7 [3,9–4,9]	2,5 [2,1–2,8]	3,8 [3,7–4,2]	3,6 [3,2–3,7]	0,0734	—	—	—	—
Контрольная vs «Минимум» vs «Максимум»	0,0073	0,0073	0,0073	0,0125	0,0073					
Контрольная vs «Минимум»	0,0105	0,0105	0,0105	0,0105	0,0105					
Контрольная vs «Максимум»	0,0105	0,0105	0,0105	0,0105	0,0105					
«Минимум» vs «Максимум»	0,0105	0,0105	0,0105	0,0105	0,0105					

Примечание. Здесь и в табл. 2–4: все значения указали в условных единицах (у. е.) флуоресценции.

Таблица 2. Интенсивность флюоресценции окклюдина-1.

Группы	Значения показателей при различном содержании O ₂					p-value				
	Нормоксия	15%	10%	7%	5%	Сравнения 15% vs 10% vs 7% vs 5%	Контрольная vs 15%	Контрольная vs 10%	Контрольная vs 7%	Контрольная vs 5%
Контрольная	53,8 [51,6–56,9]	59,7 [56,4–60,4]	54,7 [53,2–58,2]	60,6 [58,8–62,0]	62,2 [61,0–64,0]	0,2092	—	—	—	—
«Минимум»	26,3 [25,0–28,1]	26,2 [24,9–26,8]	22,1 [21,6–23,4]	19,8 [18,9–20,4]	20,4 [19,4–21,2]	0,0106	0,3864	0,0416	0,0105	0,0105
«Максимум»	8,2 [7,8–8,6]	9,1 [8,3–9,3]	8,0 [7,7–8,5]	11,0 [10,3–11,6]	12,3 [11,3–12,9]	0,0065	0,1932	0,4423	0,0105	0,0105
Контрольная vs «Минимум» vs «Максимум»	0,0073	0,0073	0,0073	0,0073	0,0073					
Контрольная vs «Минимум»	0,0105	0,0105	0,0105	0,0105	0,0105					
Контрольная vs «Максимум»	0,0105	0,0105	0,0105	0,0072	0,0105					
«Минимум» vs «Максимум»	0,0105	0,0105	0,0105	0,0105	0,0105					

шение интенсивности флюоресценции в подгруппе с минимальным содержанием ИЛ-6 ($p=0,0043$). При попарном сравнении выявили, что интенсивность флюоресценции клаудина-5 была ниже в группе с гипоксией 2 ($p=0,0105$), гипоксией 3 ($p=0,0105$) и гипоксией 4 ($p=0,0105$) относительно группы с нормоксией.

Также необходимо отдельно обратить внимание, что максимальное уменьшение изучаемого показателя наблюдали в группе «Максимум», даже в условиях нормоксии ($p=0,0105$). При гипоксическом воздействии не произошло дальнейшего уменьшения интенсивности флюоресценции ($p=0,0734$). Одновременно с этим, в присутствии ИЛ-6 с минимальной концентрацией, отметили динамическое изменение интенсивности флюоресценции при усилении гипоксических воздействий ($p=0,043$).

Особый интерес представляет сравнение интенсивности флюоресценции клаудина-5 между группами с минимальным и максимальным содержанием ИЛ-6 в культуре и группой с концентрацией кислорода в среде 5%. Анализ выявил, что статистически значимых отличий между группой с минимальным ИЛ-6 и группой с гипоксией (13,0 [11,5–13,6] у. е. vs 13,5 [11,2–15,8] у. е. ($p=0,5637$)) не было, однако интенсивность флюоресценции клаудина-5 была значимо ниже в группе с высоким содержанием ИЛ-6 относительно группы с гипоксией (13 [11,5–13,6] у. е. vs 3,6 [3,3–3,8] ($p=0,0105$)). Таким образом, можно говорить о том, что гипоксия с минимальным содержанием кислорода в среде, равна по своим эффектам на выработку клаудина-5 воздействию низких концентраций ИЛ-6. Однако, высокая концентрация ИЛ-6, а значит и уровень СВО, превосходила гипоксию по своим эффектам на НВЕ.

Поэтому можно считать, что влияние ИЛ-6 было более выражено, чем влияние гипоксии. То есть, более высокое содержание ИЛ-6 приводило к максимально выраженному влиянию на экспрессию клаудина 5, оцененную посредством интенсивности флюоресценции. А гипоксическое состояние усиливало эффекты ИЛ-6, даже если его содержание было низким.

Таблица 3. Экспрессия рецепторов интерлейкина-1.

Группы	Значения показателей при различном содержании O ₂					p-value				
	Нормоксия	15%	10%	7%	5%	Сравнения 15% vs 10% vs 7% vs 5%	Контрольная vs 15%	Контрольная vs 7%	Контрольная vs 5%	
Контрольная	9,9 [9,8–10,1]	10,1 [9,8–10,4]	10,6 [10,3–10,9]	12,2 [11,7–12,7]	12,9 [12,1–13,3]	0,0117	0,2819	0,0956	0,0105	0,0217
«Минимум»	22,7 [21,7–23,7]	22,0 [21,3–22,4]	28,8 [27,7–29,7]	32,6 [31,3–34,1]	33,1 [32,3–33,8]	0,0027	0,2339	0,0105	0,0105	0,0105
«Максимум»	27,6 [26,6–29,0]	32,2 [31,0–34,4]	36,0 [33,6–37,8]	38,3 [34,9–41,0]	39,8 [38,5–40,7]	0,0218	0,0416	0,0217	0,0217	0,0105
Контрольная vs «Минимум»	0,0097	0,0073	0,0073	0,0073	0,0073					
vs «Максимум»										
Контрольная vs «Минимум»	0,0105	0,0105	0,0105	0,0105	0,0105					
Контрольная vs «Максимум»	0,0105	0,0105	0,0105	0,0105	0,0105					
«Минимум» vs «Максимум»	0,0217	0,0105	0,0105	0,0745	0,0105					

Таблица 4. Экспрессия рецепторов интерлейкина-6.

Группы	Значения показателей при различном содержании O ₂					p-value				
	Нормоксия	15%	10%	7%	5%	Сравнения 15% vs 10% vs 7% vs 5%	Контрольная vs 15%	Контрольная vs 7%	Контрольная vs 5%	
Контрольная	8,6 [7,9–9,0]	8,0 [7,5–8,5]	8,5 [8,3–8,6]	8,6 [8,4–8,8]	8,9 [8,6–9,2]	0,0552	—	—	—	—
«Минимум»	8,8 [8,2–9,4]	10,9 [10,3–12,3]	16,0 [14,1–17,8]	21,1 [17,7–24,1]	20,7 [19,7–22,2]	0,0034	0,0217	0,0105	0,0105	0,0105
«Максимум»	8,9 [8,3–10,1]	16,2 [15,0–17,0]	19,4 [17,1–22,3]	33,6 [30,6–36,0]	41,3 [39,2–44,4]	0,0014	0,0105	0,0105	0,0105	0,0105
Контрольная vs «Минимум»	0,6678	0,0097	0,0169	0,0073	0,0073					
vs «Максимум»										
Контрольная vs «Минимум»	—	0,0105	0,0105	0,0105	0,0105					
Контрольная vs «Максимум»	—	0,0105	0,0105	0,0105	0,0105					
«Минимум» vs «Максимум»	—	0,0217	0,0956	0,0105	0,0105					

Вторым белком, который участвует в обеспечении функциональной активности гематоэнцефалического барьера, является белок плотных контактов окклюдина-1.

Гипоксическое воздействие не вызвало статистически значимого изменения интенсивности флюоресценции окклюдина-1, которая составила 58,7–62,2 у. е. ($p=0,2092$). Обнаружили только некоторую тенденцию к увеличению интенсивности флюоресценции (табл. 2).

Присутствие сыворотки пациентов в питательной среде при культивировании клеток привело к значимому снижению интенсивности флюоресценции как для группы с минимальным ИЛ-6 ($p=0,0151$), так и для группы с максимальной концентрацией ИЛ-6 ($p=0,0105$). Гипоксические условия приводили к дальнейшему снижению интенсивности флюоресценции только в группах гипоксия 3 ($p=0,0105$) и гипоксия 4 — для сыворотки как с минимальным, так и с максимальным ИЛ-6 ($p=0,0105$).

Таким образом можно сделать считать, что влияние ИЛ-6 на окклюдина было значимым при любой его концентрации. При этом эффект ИЛ-6 зависел от его содержанием в питательной среде, т. е. чем выше было содержание ИЛ-6, тем меньше — интенсивность флюоресценции окклюдина-1. Гипоксия не оказала статистически значимого влияния на окклюдина-1.

Следующим видом исследований было определение экспрессия рецепторов интерлейкина-1 (ILR1).

В условиях гипоксии, но без присутствия ИЛ-6 в питательной среде, изменения интенсивности флуоресценции рецепторов ILR1 отметили в группах «Гипоксия 3» и «Гипоксия 4» (концентрация O₂ 7% и 5%) — увеличение на 23% ($p=0,0105$) и 30% ($p=0,0105$), соответственно (табл. 3).

Присутствие минимального содержания ИЛ-6 в условиях нормоксии привело к увеличению интенсивности флюоресценции ILR1 более чем в 2 раза (с 9,9 у. е. до 22,7 у. е.) ($p=0,0105$), максимальное содержание ИЛ-6 вызвало увеличение флюоресценции ILR1 в 2,8 раза — 27,6 у. е. по сравнению с 9,9 у. е. для контроля ($p=0,0105$).

В условиях усиления гипоксии обнаружили, что интенсивность флюоресценции рецепторов ИЛ-1 динамически увеличивается. При этом максимальные изменения проявлялись в подгруппе «Максимум» при более выраженной гипоксии (Гипоксия 4), когда фиксировали четырехкратное увеличение изучаемого показателя ($p=0,0105$) по сравнению с интактной группой клеток, которые культивировали в условиях нормоксии. В группе «Минимум» произошло трехкратное увеличение интенсивности флюоресценции ILR1 ($p=0,0105$). При этом в группе с минимальным ИЛ-6 влияние гипоксия с 15% кислорода еще не оказывала значимого влияния на интенсивность флюоресценции и статистическую разницу выявили только для групп с концентрацией кислорода 10 и менее %.

Таким образом, выявили, что минимальное влияние на интенсивность флюоресценции ILR1 оказывает гипоксия — изменения варьировали в пределах 20%. Присутствие ИЛ-6 в питательной среде вызывало более выраженные изменения по сравнению с гипоксическим влиянием. При этом наблюдали потенцирующее влияние гипоксических условий на эффекты ИЛ-6, связанных с ILR1.

В условия гипоксии, но без присутствия ИЛ-6 в питательной среде, статистически значимых изменений интенсивности флюоресценции рецепторов ИЛ-6 (IL6R) не обнаружили ($p=0,5152$) (табл. 4).

Даже в условиях усиления гипоксического воздействия, вплоть до 5% концентрации кислорода в среде, не фиксировали статистически значимого изменения интенсивности флюоресценции, по сравнению с условиями нормоксии.

При добавлении в культуру сыворотки пациентов, содержащей ИЛ-6, в условиях нормоксии не происходило статистически значимого изменения интенсивности флюоресценции ни в группе с минимальным ($p=0,2819$), ни в группе с максимальным ИЛ-6 ($p=0,1933$). В группе с минимальным ИЛ-6 при усилении гипоксических воздействий отметили значимое увеличение интенсивности флюоресценции экспрессии IL6R в группах с 10% ($p=0,0105$), 7% ($p=0,0105$) и 5% кислорода ($p=0,0105$) относительно нормоксических условий. В группах с максимальным содержанием ИЛ-6 также наблюдали динамическое увеличение интенсивности флюоресценции экспрессии IL6R по мере увеличения степени гипоксии, но статистически значимым оно стало уже начиная с концентрации кислорода 15% ($p=0,0105$). По мере снижения концентрации кислорода в среде значения интенсивности флюоресценции увеличивались с аналогичным уровнем статистической значимости. Наивысшее значения, как и в случае с IL1R, были достигнуты

в группе в максимальным ИЛ-6 в культуре и гипоксии 5% — в 4,8 раза выше, чем в контрольной группе ($p=0,0105$). Таким образом выявили, что присутствие ИЛ-6 в питательной среде вызывает увеличение экспрессии IL6R, оцененную по-средством интенсивности флюоресценции, и эффекты ИЛ-6 при этом усиливаются в условиях гипоксии. Обнаруженные изменения соответствовали изменениям в отношении эффектов гипоксии и ИЛ-6 на IL6R.

Все эксперименты показали, что гипоксия обладает меньшим эффектом на клеточную модель НВЕ, чем ИЛ-6. При этом увеличение степени гипоксии приводило к динамическому снижению показателей флюоресценции для всех маркеров. Таким образом, можно предположить, что стратегии отказа от компонентов донорской крови при кардиохирургических операциях у детей будет эффективна. При рестриктивной трансфузионной тактике существует риск гемической гипоксии, однако при применении трансфузии значимо потенцируется СВО и нейровоспаление в дальнейшем, что описано нами ранее [27, 28]. Это согласуется с другими работами, где было изучено влияние трансфузии на НВЕ у детей и доказано, что ее применение сопряжено с повышенным риском послеоперационного делирия и когнитивных нарушений [33, 34]. При этом ранее в клиническом исследовании доказали, что оперативная коррекция септальных ВПС в условиях ИК безопасна даже без трансфузии, при условии массы тела ребенка более 8 кг и отсутствии анемии до операции [35]. В этом же исследовании доказали, что среди детей, которым не вводили компоненты донорской крови, выраженность СВО и церебрального повреждения была меньше.

Стоит отметить, что выполненное исследование имеет ряд ограничений. Во-первых, оценивали небольшое количество групп с различными концентрациями кислорода, что уменьшает шансы на достоверные результаты относительно влияния гипоксии на модель НВЕ. Во-вторых, использовали неоптимальную клеточную модель. Существует несколько типов клеточных моделей НВЕ. Самая простая модель состоит из монокультуры эндотелиальных клеток [36]. Более сложной моделью является Transwell-модель, содержащая полупроницаемую вставку, позволяющую имитировать просвет сосуда и, с помощью которой возможно исследовать механизмы проницаемости ГЭБ, а также моделировать заболевания центральной нервной системы [37].

Данная модель является самой распространенной, и мы использовали именно такой тип. Более сложными считаются 3D-модели, например, модели ГЭБ *in vitro* на основе вне-

клеточного матрикса [38]. Они стали первым шагом на пути к созданию наиболее достоверных моделей, имитирующих пространственное взаимодействие клеток. Однако, сложности доставки питательных веществ в матрикс, а также отсутствие тока крови и низкая воспроизводимость состава матрицы считаются существенными недостатками подобных моделей и потому они не имеют широкого распространения. Более современным типом модели являются сфероидные [39]. В моделях этого типа, в результате сокультивирования, эндотелиальные клетки, астро- и перициты самоорганизуются в сфероидные структуры, где эндотелиальные клетки представляют внешний слой, а ядро состоит из астроцитов и перицитов располагаются в среднем слое. Отличаются такие модели более выраженной экспрессией белков плотных и адгезивных контактов (ZO-1, окклюдин, клаудин-5), а также простой, хорошей воспроизводимостью и длительным сроком жизнеспособности — до 21 сут. К их недостаткам относят недостаточность питания «ядра» сфероиды и невозможность измерения трансэндотелиального сопротивления.

Самым современным и перспективным типом моделей по праву считаются микрофлюидные [40]. В них клетки организованы также трехмерно, а отличительной чертой является наличие постоянного ламинарного тока жидкости по микроканалам, что обеспечивает автоматизированное питание клеток, снижает

риск контаминации и создает напряжение сдвига, что обуславливает клеточную морфологию, приближенную к условиям *in vivo*. К недостаткам таких моделей относят трудности с измерением трансэндотелиального сопротивления и сложность их воспроизведения, требующая дорогостоящего оборудования. Возможно, использование сфероидных или микрофлюидных моделей могло бы принести большой объем информации о влиянии гипоксии и системного воспаления на НВЕ, но на данный момент отсутствует материально-техническая база их применения.

Заключение

Исследование на клеточной модели НВЕ показало, что гипоксия оказала меньшее воздействие на экспрессию маркеров церебрального повреждения, чем концентрация ИЛ-6. Клаудин-5 был значимо повышен только при гипоксии с 10% кислорода и менее, а окклюдин-1 не реагировал на изменение кислородного статуса, также как экспрессия рецепторов к ИЛ-1. При этом экспрессия рецепторов к ИЛ-6 значимо изменялась при гипоксии с 7 и 5% кислорода. Добавление сыворотки пациентов в культуру НВЕ во всех группах изменяло интенсивность флюоресценции больше, чем гипоксия, и потенцировала ее эффекты, причем негативный эффект усиливался с увеличением концентрации ИЛ-6 в добавляемой сыворотке.

Литература

1. Staveski S. L., Pickler R. H., Khoury P. R., Ollberding N. J., Donnellan A. L. D., Mauney J. A., Lincoln, P. A., et al. Prevalence of ICU delirium in postoperative pediatric cardiac surgery patients. *Pediatr Crit Care Med.* 2021; 22 (1): 68–78. DOI: 10.1097/PCC.0000000000002591. PMID: 33065733.
2. Patel A. K., Biagas K. V., Clarke E. C., Gerber L. M., Mauer E., Silver G., Chai P., et al. Delirium in children after cardiac bypass surgery. *Pediatr Crit Care Med.* 2017; 18 (2): 165–171. DOI: 10.1097/PCC.0000000000001032. PMID: 27977539.
3. Alvarez R. V., Palmer C., Czaja A. S., Peyton C., Silver, G. Traube C., Mourani P. M., et al. Delirium is a common and early finding in patients in the pediatric cardiac intensive care unit. *J Pediatr.* 2018; 195: 206–212. DOI: 10.1016/j.jpeds.2017.11.064.
4. Köditz H., Drouche A., Dennhardt N., Schmidt M., Schultz M., Schultz B. Depth of anesthesia, temperature, and postoperative delirium in children and adolescents undergoing cardiac surgery. *BMC Anesthesiol.* 2023; 23 (1): 148. DOI: 10.1186/s12871-023-02102-3. PMID: 37131120.
5. Chomat M. R., Said A. S., Mann J. L., Wallendorf M., Bickhaus A., Figueroa M. Changes in sedation practices in association with delirium screening in infants after cardiopulmonary bypass. *Pediatr Cardiol.* 2021; 42 (6): 1334–1340. DOI: 10.1007/s00246-021-02616-y. PMID: 33891134.
6. Dechnik A., Traube C. Delirium in hospitalised children. *Lancet Child Adolesc Health* 2020; 4 (4): 312–321. DOI: 10.1016/s2352-4642 (19)30377-3. PMID: 32087768.
7. Goldberg T. E., Chen C., Wang Y., Jung E., Swanson A., Ing C., Garcia P. S., et al. Association of delirium with long-term cognitive decline. *JAMA Neurol.* 2020; 77 (11): 1373–1381. DOI: 10.1001/jamaneurol.2020.2273. PMID: 32658246.
8. Gunn J. K., Beca J., Hunt R. W., Goldsworthy M., Brizard C. P., Finucane K., Donath S., et al. Perioperative risk factors for impaired neurodevelopment after cardiac surgery in early infancy. *Arch Dis Child.* 2016; 101 (11): 1010–1016. DOI: 10.1136/archdischild-2015-309449. PMID: 27272973.
9. Houben A., Ghamari S., Fischer A., Neumann C., Baehner T., Ellerkmann R. K. Pediatric emergence delirium is linked to increased early postoperative negative behavior within two weeks after adenoidectomy: an observational study. *Braz J Anesthesiol.* 2024; 74 (5): 744114. DOI: 10.1016/j.bjane.2021.03.008. PMID: 33887334.
10. Koch S., Stegherr A.-M., Rupp L., Kruppa J., Prager C., Kramer S., Fahlenkamp A., et al. Emergence delirium in children is not related to intraoperative burst suppression — prospective, observational electrography study. *BMC Anesthesiol.* 2019; 19 (1): 146. DOI: 10.1186/s12871-019-0819-2. PMID: 31395011.
11. Hansen T. G. Anesthesia-related neurotoxicity and the developing animal brain is not a significant problem in children. *Paediatr Anaesth.* 2015; 25 (1): 65–72. DOI: 10.1111/pan.12548. PMID: 25266176.
12. Jevtovic-Todorovic V. General anesthetics and neurotoxicity: how much do we know? *Anesthesiol Clin.* 2016; 34 (3): 439–451. DOI: 10.1016/j.anclin.2016.04.001. PMID: 27521190.
13. Dahmani S., Stany I., Brasher C., Lejeune C., Bruneau B., Wood C., Nivoche Y., et al. Pharmacological prevention of sevoflurane- and desflurane-related emergence agitation in children: a meta-analysis of published studies. *Br J Anaesth.* 2010; 104 (2): 216–223. DOI: 10.1093/bja/aep376. PMID: 20047899.
14. Hogue C. W. Jr., Palin C. A., Arrowsmith J. E. Cardiopulmonary bypass management and neurologic outcomes: an evidence-based appraisal of current practices. *Anesth Analg.* 2006; 103 (1): 21–37. DOI: 10.1213/01.ane.0000220035.82989.79. PMID: 16790619.
15. Hori D., Brown C., Ono M., Rappold T., Sieber F., Gottschalk A., Neufeld K. J., et al. Arterial pressure above the upper cerebral autoregulation limit during cardiopulmonary bypass is associated with postoperative delirium. *Br J Anaesth.* 2014; 113 (6): 1009–1017. DOI: 10.1093/bja/aeu319. PMID: 25256545
16. Hirata Y. Cardiopulmonary bypass for pediatric cardiac surgery. *Gen Thorac Cardiovasc Surg.* 2018; 66 (2): 65–70. DOI: 10.1007/s11748-017-0870-1. PMID: 29185163.

17. Toomasian C. J., Aiello S. R., Drumright B. L., Major T. C., Bartlett R. H., Toomasian J. M. The effect of air exposure on leukocyte and cytokine activation in an *in-vitro* model of cardiomyotomy suction. *Perfusion*. 2018; 33 (7): 538–545. DOI: 10.1177/0267659118766157. PMID: 29638199.
18. Liu M., Li Y., Gao S., Yan S., Zhang Q., Liu G., Ji B. A novel target to reduce microglial inflammation and neuronal damage after deep hypothermic circulatory arrest. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2020; 159 (6): 2431–2444. e7. DOI: 10.1016/j.jtcvs.2019.06.115. PMID: 31564537.
19. Pozhilenkova E. A., Lopatina O. L., Komleva Y. K., Salmin V. V., Salmina A. B. Blood-brain barrier-supported neurogenesis in healthy and diseased brain. *Nat Rev Neurosci*. 2017; 28 (4): 397–415. DOI: 10.1515/revneuro-2016-0057. PMID: 28195555.
20. Cerejeira J., Firmiro H., Vaz-Serra A., Mukaetova-Ladinska E. B. The neuroinflammatory hypothesis of delirium. *Acta Neuropathol*. 2010; 119 (6): 737–754. DOI: 10.1007/s00401-010-010-0 674-1. PMID: 20309566.
21. Sun Y., Koyama Y., Shimada S. Inflammation from peripheral organs to the brain: how does systemic inflammation cause neuroinflammation? *Front Aging Neurosci*. 2022; 14: 903455. DOI: 10.3389/fnagi.2022.903455. PMID: 35783147.
22. Linnerbauer M., Wheeler M. A., Quintana F. J. Astrocyte crosstalk in CNS inflammation. *Neuron*. 2020; 108 (4): 608–622. DOI: 10.1016/j.neuron.2020.08.012. PMID: 32898475.
23. Kress B. T., Iliff J. J., Xia M., Wang M., Wei H. S., Zeppenfeld D., Xie L., et al. Impairment of para-vascular clearance pathways in the aging brain. *Ann Neurol*. 2014; 76 (6): 845–861. DOI: 10.1002/ana.24271. PMID: 25204284.
24. Kuo W. T., Odenwald M. A., Turner J. R., Zuo L. Tight junction proteins occludin and ZO-1 as regulators of epithelial proliferation and survival. *Ann NY Acad Sci*. 2022; 1514 (1): 21–33. DOI: 10.1111/nyas.14798. PMID: 35580994.
25. Li Y., Liu B., Zhao T., Quan X., Han Y., Cheng Y., Chen Y., et al. Comparative study of extracellular vesicles derived from mesenchymal stem cells and brain endothelial cells attenuating blood-brain barrier permeability via regulating Caveolin-1-dependent ZO-1 and Claudin-5 endocytosis in acute ischemic stroke. *J Nanobiotechnology*. 2023; 21 (1): 70. DOI: 10.1186/s12951-023-01828-z. PMID: 36855156.
26. Yang Z., Lin P., Chen B., Zhang X., Xiao W., Wu S., Huang C., et al. Autophagy alleviates hypoxia-induced blood-brain barrier injury via regulation of CLDN5 (claudin 5). *Autophagy*. 2021; 17 (10): 3048–3067. DOI: 10.1080/15548627.2020.1851897. PMID: 33280500.
27. Baker R. A., Nikolic A., Onorati F., Alston R. P. 2019 EACTS/EACTA/EBCP guidelines on cardiopulmonary bypass in in adult cardiac surgery: a tool to better clinical practice. *Eur J Cardio-Thorac Surg*. 2020; 57 (2): 207–209. DOI: 10.1093/ejcts/ezz358. PMID: 31942985.
28. Ivkin A., Grigoriev E., Mikhailova A. Impact of intraoperative blood transfusion on cerebral injury in pediatric patients undergoing congenital septal heart defect surgery. *J Clin Med*. 2024; 13 (20): 6050. DOI: 10.3390/jcm13206050. PMID: 39458000.
29. Wittenmeier E., Piekarski F., Steinbicker A. U. Blood product transfusions for children in the perioperative period and for critically ill children. *Dtsch Arztebl Int*. 2024; 121 (2): 58–65. DOI: 10.3238/arztebl.m2023.0243. PMID: 38051160.
30. Ивкин А. А., Григорьев Е. В., Балахнин Д. Г., Чермных И. И. Интраоперационная трансфузия как фактор риска церебрального повреждения после кардиохирургических вмешательств у детей: проспективное наблюдательное исследование. *Вестник интенсивной терапии имени А. И. Салтанова*. 2023; (1): 101–114. Ivkin A. A., Grigoryev E. V., Balakhnin D. G., Chermnykh I. I. Intraoperative transfusion is a risk factor for cerebral injury after cardiac surgery in children: a prospective observational study. *Ann Crit Care = Vestnik Intensivnoy Terapii im AI Saltanova*. 2023; 1: 101–114. (in Russ.). DOI: 10.21320/1818-474X-2023-1-101-114.
31. Malati Z. A., Pourfathollah A. A., Dabbaghi R., Balaghli S., Javan M. R. Evaluation of a new method of leukocyte extractions from the leukoreduction filter. *Indian J Hematol Blood Transfus*. 2023; 39 (3): 478–486. DOI: 10.1007/s12288-022-01618-x. PMID: 37304478.
32. Ивкин А. А., Григорьев Е. В., Хилажева Е. Д., Моргунов А. В. Влияние трансфузии и гипоксии на клетки модели нейроваскулярной единицы *in vitro*. *Общая реаниматология*. 2024; 20 (1): 37–42. Ivkin A. A., Grigoriev E. V., Khilazheva E. D., Morgun A. V. The effect of transfusion and hypoxia on cells in an *in vitro* model of the neurovascular unit. *General Reanimatology = Obshchaya Reanimatologiya*. 2024; 20 (1): 37–42. (in Russ.&Eng.). DOI: 10.15360/1813-9779-2024-1-2350.
33. Ивкин А. А., Григорьев Е. В., Цепоккина А. В., Шукевич Д. Л. Послеоперационный делирий у детей при коррекции врожденных септальных пороков сердца. *Вестник анестезиологии и реаниматологии*. 2021; 18 (2): 62–68. Ivkin A. A., Grigoriev E. V., Tsepokina A. V., Shukevich D. L. Postoperative delirium in children in undergoing treatment of congenital septal heart defects. *Messenger of Anesthesiology and Resuscitation = Vestnik Anesteziologii i Reanimatologii*, 2021; 18 (2): 62–68. (In Russ.). DOI: 10.21292/2078-5658-2021-18-2-62-68.
34. Naguib A. N., Winch P. D., Tobias J. D., Simic J., Hersey D., Nicol K., Preston T., et al. A single-center strategy to minimize blood transfusion in neonates and children undergoing cardiac surgery. *Paediatr Anaesth*. 2015; 25 (5): 477–486. DOI: 10.1111/pan.12604. PMID: 25581204.
35. Борисенко Д. В., Ивкин А. А., Шукевич Д. Л., Корнелюк Р. А. Значение эритроцитсодержащих компонентов донорской крови в объеме первичного заполнения контура искусственного кровообращения в развитии системного воспаления при коррекции врожденных пороков сердца у детей. *Общая реаниматология*. 2022; 18 (3): 30–37. Borisenko D., Ivkin A. A., Shukevich D. L., Kornelyuk R. A. The effect of erythrocyte containing donor blood components in the priming of the cardiopulmonary bypass circuit on the development of systemic inflammation during correction of congenital heart defects in children. *General Reanimatology = Obshchaya Reanimatologiya*. 2022; 18 (3): 30–37. (in Russ.&Eng.). DOI: 10.15360/1813-9779-2022-3-30-37.
36. Siddharthan V., Kim Y. V., Liu S., Kim K. S. Human astrocytes/astrocyte-conditioned medium and shear stress enhance the barrier properties of human brain microvascular endothelial cells. *Brain Res*. 2007; 1147: 39–50. DOI: 10.1016/j.brainres.2007.02.029. PMID: 17368578.
37. Cenini G., Hebisch M., Iefremova V., Flitsch L. J., Breikreuz Y., Tanzi R. E., Kim D. Y., et al. Dissecting Alzheimer's disease pathogenesis in human 2D and 3D models. *Mol Cell Neurosci*. 2021; 110: 103568. DOI: 10.1016/j.mcn.2020.103568. PMID: 33068718.
38. Wang H., Yang H., Shi Y., Xiao Y., Yin Y., Jiang B., Ren H., et al. Reconstituting neurovascular unit with primary neural stem cells and brain microvascular endothelial cells in three-dimensional matrix. *Brain Pathol*. 2021; 31 (5): e12940. DOI: 10.1111/bpa.12940. PMID: 33576166.
39. Sokolova V., Nzou G., Van Der Meer S. B., Ruks T., Heggen M., Loza K., Hagemann N., et al. Ultrasmall gold nanoparticles (2 nm) can penetrate and enter cell nuclei in an *in vitro* 3D brain spheroid model. *Acta Biomater*. 2020; 111: 349–362. DOI: 10.1016/j.actbio.2020.04.023. PMID: 32413579.
40. Teixeira M. I., Amaral M. H., Costa P. C., Lopes C. M., Lamprou D. A. Recent developments in microfluidic technologies for central nervous system targeted studies. *Pharmaceutics*. 2020; 12 (6): 542. DOI: 10.3390/pharmaceutics12060542. PMID: 32545276.

Поступила 05.12.2024
Принята 09.06.2025

Оценка структурных изменений мембран нейтрофилов под действием плазмы от новорожденных пациентов с инфекцией

В. А. Иноземцев¹, И. В. Образцов², Е. А. Шерстюкова^{1*},
С. С. Кандрашина¹, М. А. Шведов¹, М. Е. Докукин¹, В. А. Сергунова¹

¹ НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского,
Федеральный научно-клинический центр реаниматологии и реабилитологии,
Россия, 10703, г. Москва, ул. Петровка, д. 25, стр. 2

² Детская городская клиническая больница №9 им. Г. Н. Сперанского Департамента здравоохранения г. Москвы,
Россия, 123317, г. Москва, Шмитовский пр-д, д. 29

Для цитирования: В. А. Иноземцев, И. В. Образцов, Е. А. Шерстюкова, С. С. Кандрашина, М. А. Шведов, М. Е. Докукин, В. А. Сергунова. Оценка структурных изменений мембран нейтрофилов под действием плазмы от новорожденных пациентов с инфекцией. *Общая реаниматология*. 2025; 21 (3): 41–50. <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2025-3-2568> [На русск. и англ.]

*Адрес для корреспонденции: Екатерина Александровна Шерстюкова, kmanchenko@yandex.ru

Резюме

Цель исследования: выявить характеристики мембран нейтрофилов, которые могут стать клиническими биомаркерами развития инфекционно-септических осложнений у новорожденных.

Материалы и методы. Объектом исследования были нейтрофилы, выделенные из крови здоровых доноров. Проводили инкубацию клеток с плазмой новорожденных, разделенных на три группы: условно-здоровые (NS) ($n=6$), с локальной (LIS) ($n=7$) и генерализованной (GIS) инфекцией ($n=8$). Оценивали морфологию клеток и шероховатость мембран до и после стимуляции форбол-12-миристат-13-ацетатом (PMA) с использованием флуоресцентной и атомно-силовой микроскопии. Определяли площадь ядер и мембран нейтрофилов, степень активации к образованию внеклеточных нейтрофильных ловушек (NET), а также параметр шероховатости мембраны (R_a).

Результаты. Разработали и стандартизировали методику подготовки и оценки нейтрофилов. В ходе экспериментов оптимизировали условия среды: 1% раствор бычьего сывороточного альбумина (BSA) обеспечил минимальную фоновую активацию клеток. Выявили дозозависимую активацию нейтрофилов PMA при 1% содержании плазмы. После стимуляции PMA наблюдали значительное увеличение площадей ядер ($p<0,001$) и мембран ($p<0,001$), а также шероховатости поверхности ($p<0,001$), независимо от типа плазмы. Наиболее выраженные изменения отметили у клеток, инкубированных с плазмой пациентов группы GIS. Установили, что при генерализованной инфекции увеличивается склонность нейтрофилов к NET-активации, что может лежать в основе патогенеза тромботических осложнений при сепсисе.

Заключение. Характеристики нейтрофилов, выявленные с помощью микроскопических методов, могут служить перспективными биомаркерами степени тяжести инфекционно-септического процесса у новорожденных.

Ключевые слова: мембраны нейтрофилов; новорожденные; инфекционно-септические осложнения; сепсис; внеклеточные нейтрофильные ловушки; шероховатость мембран; атомно-силовая микроскопия; флуоресцентная микроскопия

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Assessment of Structural Changes in Neutrophil Membranes Induced by Plasma from Newborns with Infection

Vladimir A. Inozemtsev¹, Igor V. Obratsov², Ekaterina A. Sherstyukova^{1*},
Snezhanna S. Kandrashina¹, Mikhail A. Shvedov¹, Maxim E. Dokukin¹, Viktoria A. Sergunova¹

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

² G.N. Speransky Children's City Clinical Hospital No. 9, Moscow Health Department,
29 Shmitovskiy pr., 123317 Moscow, Russia

Summary

This study aimed to identify neutrophil membrane characteristics that could serve as clinical biomarkers for the development of infectious complications in newborns.

Materials and Methods. Neutrophils isolated from healthy donors were used as a model system. The cells were incubated with plasma samples (S) isolated from blood of newborns categorized into three groups: apparently healthy (normal) (NS) ($N=6$), with localized infection (LIS) ($N=7$), and with generalized

infection (GIS) ($N=8$). We assessed cellular morphology and membrane roughness before and after stimulation with phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA) using fluorescence and atomic force microscopy. We quantified nuclear and membrane surface areas, the intensity of neutrophil extracellular trap (NET) formation, and membrane arithmetic average roughness (R_a).

Results. A standardized protocol for neutrophil preparation and evaluation was developed. Optimal incubation conditions were established; 1% bovine serum albumin (BSA) yielded minimal background activation. Dose-dependent activation of neutrophils by PMA was observed in the presence of 1% plasma. PMA stimulation significantly increased nuclear area ($P<0.001$), membrane area ($P<0.001$), and R_a ($P<0.001$), regardless of plasma sample group. The most significant changes occurred in neutrophils incubated with plasma from the GIS group. Generalized infection was associated with enhanced NET activation, which may contribute to the pathogenesis of thrombotic complications in neonatal sepsis.

Conclusion. Microscopy-based neutrophil characteristics are promising biomarkers for evaluating infection including sepsis in newborns.

Keywords: *neutrophil membranes; newborns; infectious and septic complications; sepsis; neutrophil extracellular traps; membrane roughness; atomic force microscopy; fluorescence microscopy*

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

Информация об авторах/ Information about the authors:

Владимир Александрович Иноземцев/Vladimir A. Inozemtsev: <http://orcid.org/0000-0002-4693-5624>

Игорь Владимирович Образцов/Igor V. Obraztsov: <http://orcid.org/0000-0002-6649-853X>

Екатерина Александровна Шерстюкова/Ekaterina A. Sherstyukova: <http://orcid.org/0000-0002-9962-6315>

Снежанна Сергеевна Кандрашина/Snezhanina S. Kandrashina: <http://orcid.org/0000-0002-2185-3817>

Михаил Алексеевич Шведов/Mikhail A. Shvedov: <http://orcid.org/0009-0004-4288-2758>

Максим Евгеньевич Докукин/Maxim E. Dokukin: <http://orcid.org/0000-0001-6856-1953>

Виктория Александровна Сергунова/Viktoria A. Sergunova: <http://orcid.org/0000-0002-8425-0845>

Read the full-text English version at www.reanimatology.com

Введение

Воспаление является универсальным патологическим процессом, инициируемым в ответ на воздействие инфекционных агентов, механических или термических повреждений, а также значительных хирургических вмешательств [1, 2]. По последним эпидемиологическим данным за 2019–2020 гг., заболеваемость сепсисом в развитых странах составляет около 750 пациентов на 100 000 населения в Европейском регионе [3].

Неонатальный сепсис остается одной из актуальных проблем в медицине из-за высокой летальности и рефрактерности к терапии, что связано с дефицитом врожденного иммунитета, включая нарушение функциональной активности нейтрофилов и моноцитов [4–6].

Исследования показывают, что при сепсисе и сочетанном генезе полиорганной недостаточности у новорожденных наблюдается повышенная экспрессия CD64 и сниженная экспрессия CD16 на нейтрофилах, что является важным диагностическим биомаркером [7].

Стимуляция нейтрофилов как физиологическими, так и фармакологическими агентами, такими как перекись водорода, липополисахариды (LPS), форбол-12-миристан-13-ацетат (PMA) и ионофор кальция A23187, не только активирует их эффекторные функции, но также вызывает значительные изменения в их морфологии, так клетка может переходить из сферической формы в распластанную. Этот процесс является важной частью адаптации клеток к выполнению их защитных функций [8–13].

Современные исследования показали, что септическая сыворотка оказывает значительное

влияние на нейтрофилы, включая их активацию, апоптоз и изменение функциональных свойств [14, 15].

Эти данные подчеркивают важность изучения модулирующих факторов, способных снизить негативное влияние септической сыворотки на нейтрофилы, для разработки новых подходов к терапии сепсиса [16].

В данном исследовании проводился комплексный анализ изменений, происходящих в нейтрофилах с применением современных методов микроскопии.

Несмотря на большое количество проведенных исследований, многие аспекты структуры и функций нейтрофилов остаются неизученными. Современные оптические методы пока не позволяют в полной мере раскрыть механизмы функционирования нейтрофилов и детально изучить внутриклеточные процессы [14]. В последнее время метод атомно-силовой микроскопии (АСМ) все активнее используется для исследования биологических образцов [17, 18] и, в частности, клеток [19–22]. Особенность АСМ заключается в том, что с его помощью можно получать как топографические изображения, так и карты физических свойств клеточной поверхности с высоким разрешением [23, 24], что позволяет использовать его как инструмент для поиска биологических маркеров.

Цель исследования — выявить характеристики мембран нейтрофилов, которые могут стать клиническими биомаркерами развития инфекционно-септических осложнений у новорожденных.

Материал и методы

В исследовании использовали нейтрофилы, выделенные из периферической крови здорового взрослого донора. Все экспериментальные процедуры, включая забор и анализ биоматериалов, проводили в строгом соответствии с международными этическими стандартами, установленными Хельсинкской декларацией (2000 г.) о принципах проведения медицинских исследований, а также Конвенцией Совета Европы о правах человека и биомедицине (1999 г.). Исследования осуществляли в рамках нормативных требований и регламентов Федерального научно-клинического центра реаниматологии и реабилитологии (протокол № 427 от 17.10.2023), одобренных локальным этическим комитетом Детской городской клинической больницы № 9 им. Г. Н. Сперанского Департамента здравоохранения г. Москвы (протокол № 45 от 31.05.2022).

На первом этапе выделения нейтрофилов свежую донорскую кровь наслаивали на двойной градиент Фиколла (Paneco, Россия) с плотностями 1,119 г/см³ и 1,077 г/см³. Центрифугирование проводили при 400×g в течение 40 мин при комнатной температуре. После этого отбирали фракцию, содержащую нейтрофилы с примесью эритроцитов. Для удаления эритроцитов проводили их лизис в ледяной воде (30 с), после чего добавляли двукратный фосфатно-солевой буфер (PBS) для восстановления осмотического баланса [25, 26]. Выделенные нейтрофилы ресуспендировали в PBS для подсчета. По данным световой микроскопии, чистота нейтрофильной фракции превышала 98%, жизнеспособность клеток, оцененная с использованием трипанового синего, составляла более 96%.

Эксперименты проводили в 24-луночных планшетах с размерными лунками стерильными круглыми покровными стеклами. Для адгезии клеток нейтрофилы (2×10^5 клеток/мл) ресуспендировали в среде, состоящей из RPMI 1640 (Paneco, Россия), дополненной 10 мМ HEPES (Paneco, Россия). После этого клеткам давали адгезировать к стеклу в течение 30 мин при 37°C в атмосфере 5% CO₂.

Во всех проведенных экспериментах использовали образцы плазмы от условно-здоровых новорожденных пациентов (NS) (отсутствие подтвержденных инфекционно-воспалительных осложнений, $n=6$), новорожденных пациентов с локальной инфекцией (LIS) (наличие лабораторно-инструментально подтвержденного очага инфекции при отсутствии органной недостаточности, $n=7$), новорожденных пациентов с генерализованной инфекцией (GIS) (наличие лабораторно-инструментально подтвержденного очага инфекции и органной недостаточности (балл pSOFA > 8), $n=8$). Всего в эксперименте исследовали 21 образец плазмы.

В предварительном эксперименте по подбору среды сравнивали базовую среду, и базовую среду с добавлением фетальной бычьей сыворотки (FBS) 1% (Paneco, Россия), или добавлением термически

инактивированной фетальной бычьей сыворотки (hiFBS) 1% (Paneco, Россия), или добавлением бычьего сывороточного альбумина (BSA) 1% (Paneco, Россия). Время инкубации составляло 3 ч. В дальнейшем среду RPMI 1640, дополненную 10 мМ HEPES и с 1% бычьего сывороточного альбумина (BSA) (Paneco, Россия) использовали в качестве базовой среды.

Для подбора концентрации плазмы к базовой среде добавляли 1, 10 или 50% плазмы от условно-здоровых пациентов. После чего активировали клетки с помощью 25 нМ PMA в течение 3 ч.

Для подбора концентрации активатора к среде добавляли 1, 10 или 50% нормальной плазмы или септической плазмы. После чего активировали клетки с помощью 5 нМ, 10 нМ, 25 нМ PMA 3 ч.

В основном эксперименте нейтрофилы инкубировали с базовой средой, дополненной 1% плазмой от пациентов разного типа. Для оценки активации нейтрофилов использовали 25 нМ PMA. Время инкубации клеток составляло 3 ч.

По завершении эксперимента клетки фиксировали 4% раствором параформальдегида при 37°C в течение 30 мин, после чего трижды промывали 1×PBS.

Изучение клеточной морфологии и анализ шероховатости поверхности нейтрофилов проводили с использованием АСМ [27]. Перед сканированием образцы трижды промывали дистиллированной водой (по 30 с) для удаления солей [28], после чего высушивали в вакуумном осушителе Jeio Tech VDC-11U (Jeio Tech, Республика Корея) при давлении 1×10^{-3} МПа в течение 1 ч.

Для получения 2D и 3D изображений сканирование выполняли в полуконтактном режиме на микроскопах NTEGRA Prima и NTEGRA BIO (NT-MDT SI, Россия). Использовали кантилеверы NSG01 (NT-MDT SI, Россия) с жесткостью 5 Н/м и радиусом зонда 10 нм. Сканирование проводили при различных параметрах: площади сканирования составляли 100×100 мкм² и 2×2 мкм², количество точек — 512, частота — от 0,3 до 0,7 Гц.

Для анализа изображений применяли программные пакеты Gwyddion 2.65 и Image Analysis (NT-MDT SI, Россия). Оценку шероховатости поверхности (Ra) клеток проводили при параметре cut-off 0,440 мкм, обеспечивающем максимальную чувствительность метода и позволяющем корректно анализировать все изображения, полученные в рамках исследования.

Широкопольную флуоресцентную микроскопию применяли для оценки активации нейтрофилов, а также для измерения площади клеточной мембраны и ядра. Исследования проводили с использованием микроскопа Thunder (Leica Microsystems, Германия), оснащенного светодиодным источником возбуждения и ×63 объективом с масляной иммерсией.

Обработку изображений осуществляли с помощью программ LAS X (Leica Microsystems, Германия) и ImageJ [29]. Последнюю использовали для количественной оценки активации клеток и измерения площадей клеточных структур.

Для проведения широкопольной флуоресцентной микроскопии нейтрофилы фиксировали и пермеабелизовали в 0,05% растворе Тритона X-100 (Sigma, США) в PBS в течение 5 мин при 4°C, затем промывали PBS и инкубировали с 3% BSA для блокирования неспецифического связывания.

Для окрашивания ДНК применяли краситель Hoechst 33342 (Sigma, США), разведенный 1:1000 в PBS, с инкубацией в течение 30 мин. Мембрану нейтрофилов визуализировали с использованием Alexa Fluor 594-конъюгированного WGA (Thermo Fisher Scientific, США) в разведении 1:500, f-актин — с помощью Alexa Fluor 488-конъюгированного фаллоидина (Thermo Fisher Scientific, США) в том же разведении. Все этапы окрашивания проводили в темноте. По завершении инкубации покровные стекла трижды промывали PBS, после чего размещали на предметные стекла и фиксировали с применением монтирующей среды ibidi (Ibidi, Германия).

Данные обрабатывали статистически с использованием программного обеспечения OriginPro 2019 (OriginLab Corporation, США). Все количественные показатели представили в виде медианы (*Me*) и интерквартильного размаха (*Q1*; *Q3*). Для оценки характера распределения использовали критерий Шапиро–Уилка. Поскольку большинство исследуемых параметров не соответствовали нормальному распределению, применили непараметрические методы анализа. Для сравнения двух независимых выборок использовали *U*-критерий Манна–Уитни. При анализе

парных зависимых данных — критерий Уилкоксона. Три независимые группы сопоставляли, используя критерий Краскела–Уоллиса, в последующем — множественный тест Данна для пост-хок анализа. Статистически значимыми считали различия при уровне значимости $p < 0,05$ (двусторонний критерий).

Результаты и обсуждение

Первую часть исследования направили на подбор оптимальных условий для проведения основного эксперимента. В качестве базовой среды использовали среду RPMI, дополненную NEPES. Определяли дополнительные компоненты среды, оптимальные концентрации плазмы новорожденных пациентов, а также рабочую концентрацию PMA.

В рамках подготовительного эксперимента сравнили влияние 1% FBS, 1% инактивированной плазмы, 1% BSA, а также базовой среды на состоянии нейтрофилов. В ходе эксперимента оценили морфологическое состояние нейтрофилов в этих средах. Инкубация нейтрофилов только в базовой среде приводила к их повсеместной адгезии к стеклу, что свидетельствует о преждевременной активации клеток. FBS 1%, hiFBS 1%, BSA 1% подавляли преждевременную активацию в одинаковом соотношении (рис. 1, *a*).

BSA 1% продемонстрировал наиболее подходящее снижение адгезии нейтрофилов в наших условиях.

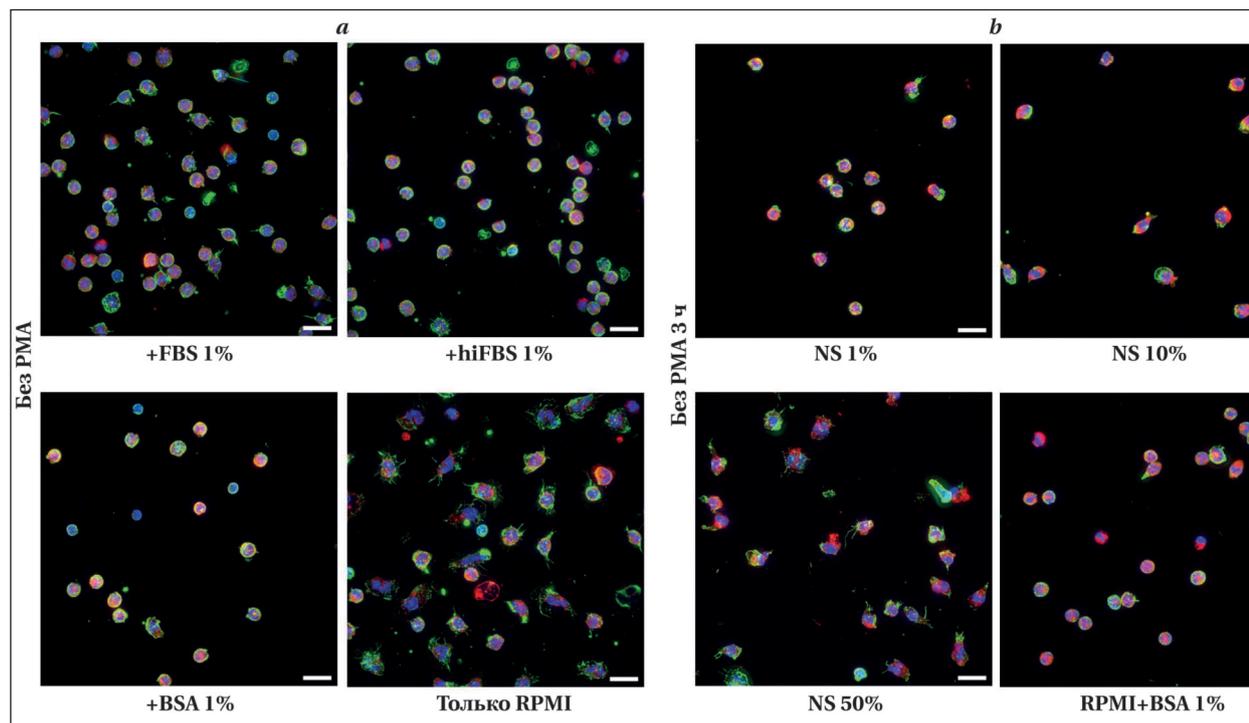


Рис. 1. Флуоресцентные изображения нейтрофилов в различных условиях инкубации: влияние компонентов среды (*a*) и концентрации плазмы (*b*).

Примечание. Синий — ядро; зеленый — f-актин; красный — мембрана; шкала: 20 мкм. FBS — фетальная бычья сыворотка; hiFBS — термически инактивированная фетальная бычья сыворотка; BSA — бычий сывороточный альбумин; NS — плазма от условно-здоровых новорожденных пациентов.

Для подбора оптимальной дозы плазмы новорожденных пациентов провели исследование воздействия на нейтрофилы разного процентного содержания плазмы условно-здорового пациента (рис. 1, *b*). Сравнивали воздействие на нейтрофилы 1, 10, 50% содержания нормальной плазмы пациентов и базовой среды. Типовые изображения нейтрофилов показали на рис. 1, *b*.

Добавление 1% плазмы в рабочую среду обеспечило наилучшее сохранение нейтрофилов в интактном состоянии, тогда как концентрации 10 и 50% способствовали их адгезии к поверхности.

Нейтрофилы активировали с помощью РМА. В работах по изучению нейтрофильных внеклеточных ловушек РМА используют в различных концентрациях, в диапазоне от 1 нМ до 100нМ. Под оптимальной концентрацией подразумевается минимальная концентрация РМА при которой, в условиях добавления плазмы, происходит активация клеток. Изображения нейтрофилов как контрольных клеток, так и клеток после активации показали на рис. 2.

По данным флуоресцентной микроскопии провели расчет количества нейтрофилов, активированных на выброс внеклеточных ловушек (NET), в каждой из групп. Из полученных данных получили, что большая концентрация плазмы, вне зависимости от ее типа, ингибирует NET-активацию нейтрофилов. Наилучший результат продемонстрировала концентрация сыворотки 1%.

Количество NET-активированных клеток рассчитывали исходя из их морфологии и состояния ядра. Пример флуоресцентных изображений, по которым проводили обсчет, представили на рис. 3, *a, b*.

NET-активированными считали клетки, у которых:

- 1) нарушена сегментоядерная форма ядра (ядро могло быть или в виде большого «облака» без признаков структуры, или в виде вытянутой «стрелы»;
- 2) нет признаков сохранения актинового цитоскелета (наличие цитоскелета один из косвенных признаков того, что клетка функциональна);

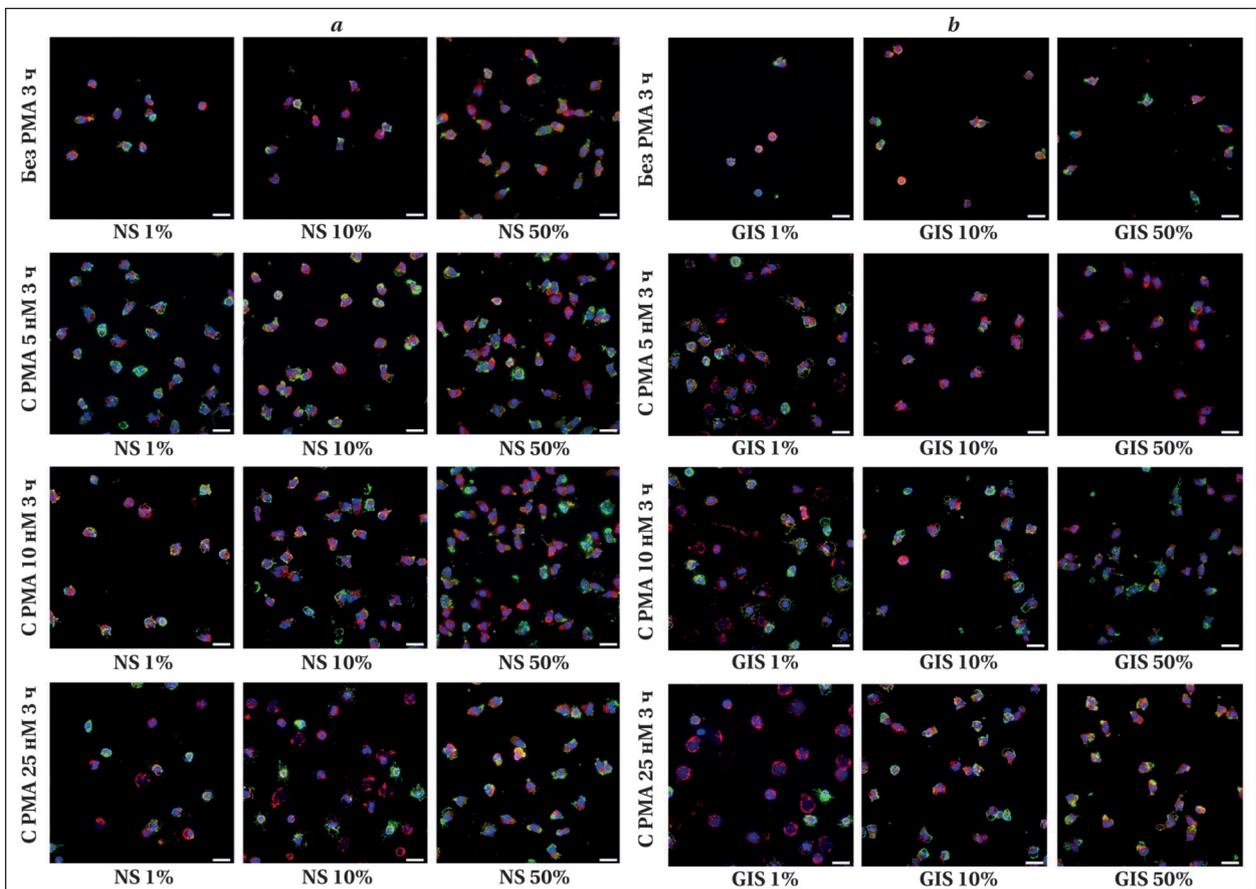


Рис. 2. Флуоресцентные изображения нейтрофилов в рабочей среде с добавлением плазмы условно-здорового пациента с разной концентрацией РМА.

Примечание. *a* — контрольные нейтрофилы; *b* — нейтрофилы после активации; синий — ядро, зеленый — f-actin, красный — мембрана; шкала: 20 мкм. NS — плазма от условно-здоровых новорожденных пациентов; GIS — плазма от новорожденных пациентов с генерализованной инфекцией.

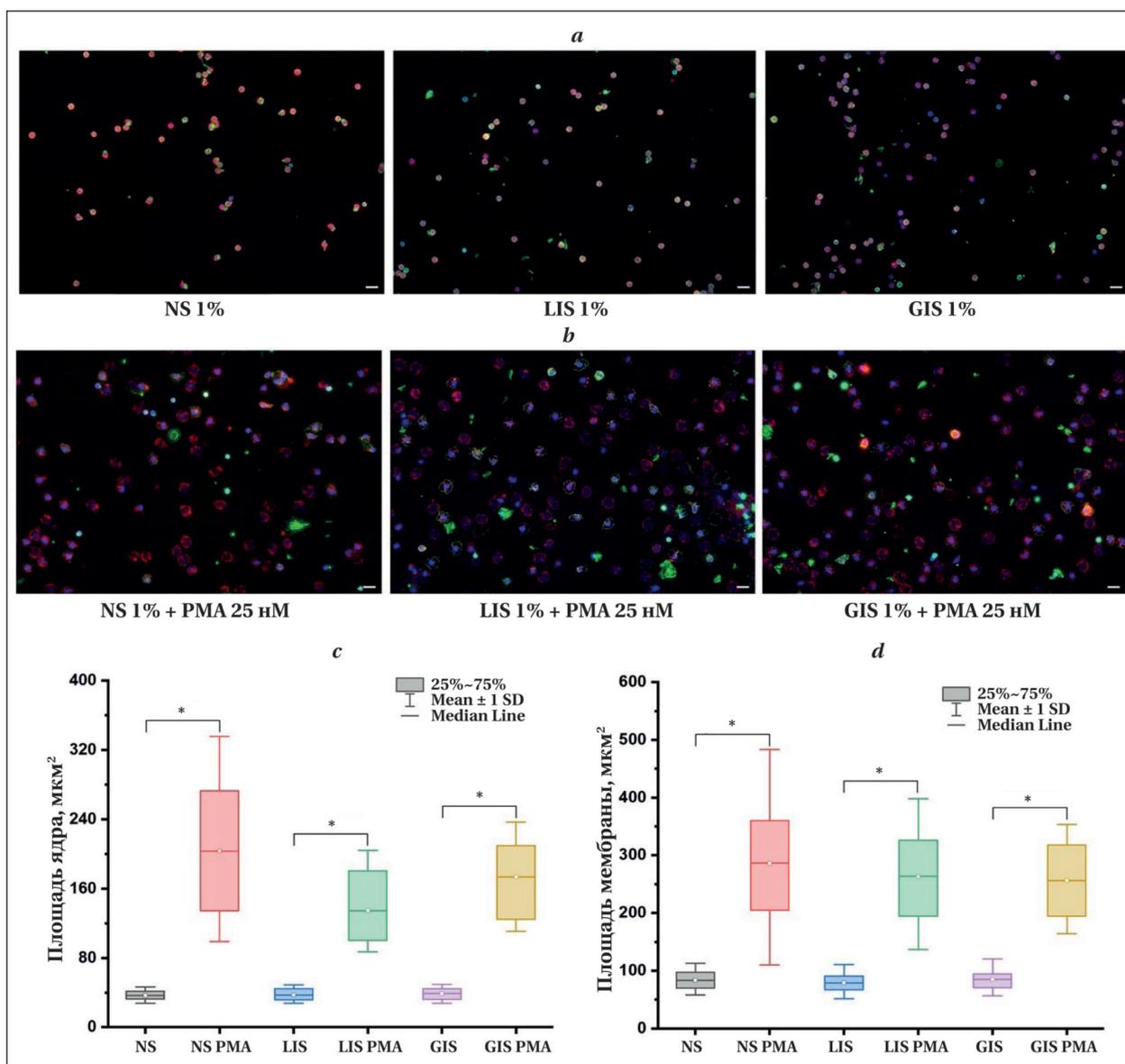


Рис. 3. Влияние различных типов плазмы на морфологические изменения нейтрофилов при стимуляции PMA.
Примечание. *a, b* — флуоресцентные изображения нейтрофилов после инкубации с 1% плазмой различных типов без стимуляции (*a*) и с добавлением активатора PMA; синий — ядро; зеленый — f-actin; красный — мембрана; шкала: 20 мкм. *c, d* — графики изменения площадей ядер нейтрофилов и их мембран в различных условиях; * — $p < 0,001$. NS — плазма от условно-здоровых новорожденных пациентов; LIS — плазма от новорожденных пациентов с локальной инфекцией; GIS — плазма от новорожденных пациентов с генерализованной инфекцией. Указаны статистически значимые различия внутри групп ($p < 0,001$).

3) мембрана не представляет собой целостную структуру.

Остальные клетки — это неактивированные клетки (интактные), — круглые, овальные нейтрофилы диаметром 6–9 мкм, с сегментированным ядром и кортикальным актином, или адгезированные клетки, также с сегментированным ядром, но распластанные по поверхности стекла, с ярко выраженными филоподиями.

Провели анализ морфологических изменений нейтрофилов после инкубации с различными типами плазмы и добавлением активатора PMA. Для этого проанализировали по-

лученные флуоресцентные изображения и рассчитали площади ядер и цитоплазматических мембран нейтрофилов, поскольку известно [26], что при NET-активации происходит набухание ядра и увеличение размеров клеток (рис. 3, *c, d*). После стимуляции PMA зафиксировали значительное увеличение площади ядер: в группе NS с 37 (33; 42) до 203 (135; 273) мкм² ($p < 0,001$), в группе LIS с 37 (32; 44) до 134 (101; 180) мкм² ($p < 0,001$), в группе GIS с 39 (32; 44) до 173 (124; 210) мкм² ($p < 0,001$). Аналогичную динамику отметили и для площади мембраны нейтрофилов: в группе NS с 83 (70; 97) до 286 (205; 361) мкм²

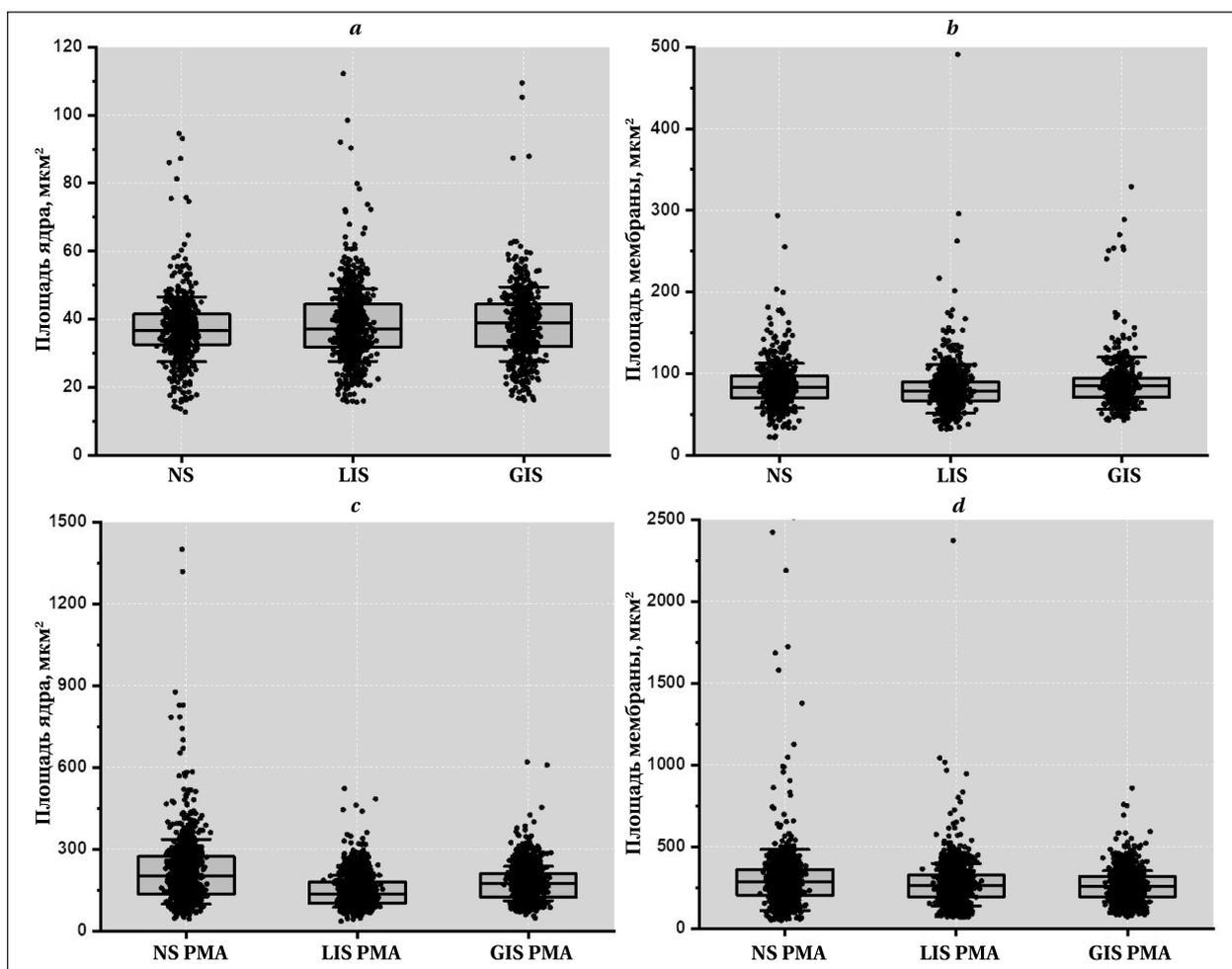


Рис. 4. Графики изменения площадей ядер нейтрофилов и их мембран.

Примечание. *a, b* — значения до добавления активатора PMA; *c, d* — значения после добавления активатора PMA.

($p < 0,001$), в группе LIS с 79 (67; 90) до 263 (194; 326) μm^2 ($p < 0,001$), в группе GIS с 85 (70; 95) до 256 (195; 318) μm^2 ($p < 0,001$).

Из приведенных графиков установили, что нейтрофилы, не подвергшиеся активации, сохраняли сегментоядерную структуру ядра и сферическую форму. После стимуляции PMA нейтрофилы демонстрировали выраженное увеличение площади как ядра, так и мембраны. При этом значения морфологических параметров заметно варьировали внутри одной и той же группы плазмы, что указывает на различия в характере ее воздействия на клетки. Несмотря на эту вариабельность, общую направленность морфологических изменений при NET-активации удалось проследить во всех исследованных образцах.

На рис. 4 представили графики распределения всех значений площадей ядер и мембран нейтрофилов до и после стимуляции PMA в зависимости от типа плазмы. До стимуляции PMA нейтрофилы, инкубированные с плазмой новорожденных пациентов с генерализованной инфекцией, демонстрировали значительное

увеличение площади ядра по сравнению с клетками, обработанными плазмой контрольной группы ($\chi^2 = 9,366$; $p = 0,009$).

После активации PMA характер распределения значений изменился. Наибольшую площадь ядра зарегистрировали у нейтрофилов, инкубированных с плазмой условно-здоровых новорожденных. По уменьшению площади ядра за ними следовали клетки, взаимодействовавшие с плазмой пациентов группы GIS, а затем — с плазмой пациентов с локализованной инфекцией ($\chi^2 = 339,295$; $p < 0,001$).

Сходную тенденцию наблюдали и при оценке площади мембраны. До активации PMA минимальные значения данного показателя зафиксировали у нейтрофилов, инкубированных с плазмой пациентов группы LIS ($\chi^2 = 26,396$; $p < 0,001$). Однако после стимуляции PMA наибольшую площадь мембраны продемонстрировали клетки, обработанные плазмой контрольной группы ($\chi^2 = 37,663$; $p < 0,001$).

На рис. 5 представили значения средней шероховатости мембран нейтрофилов, измеренные с помощью АСМ. При сравнении групп

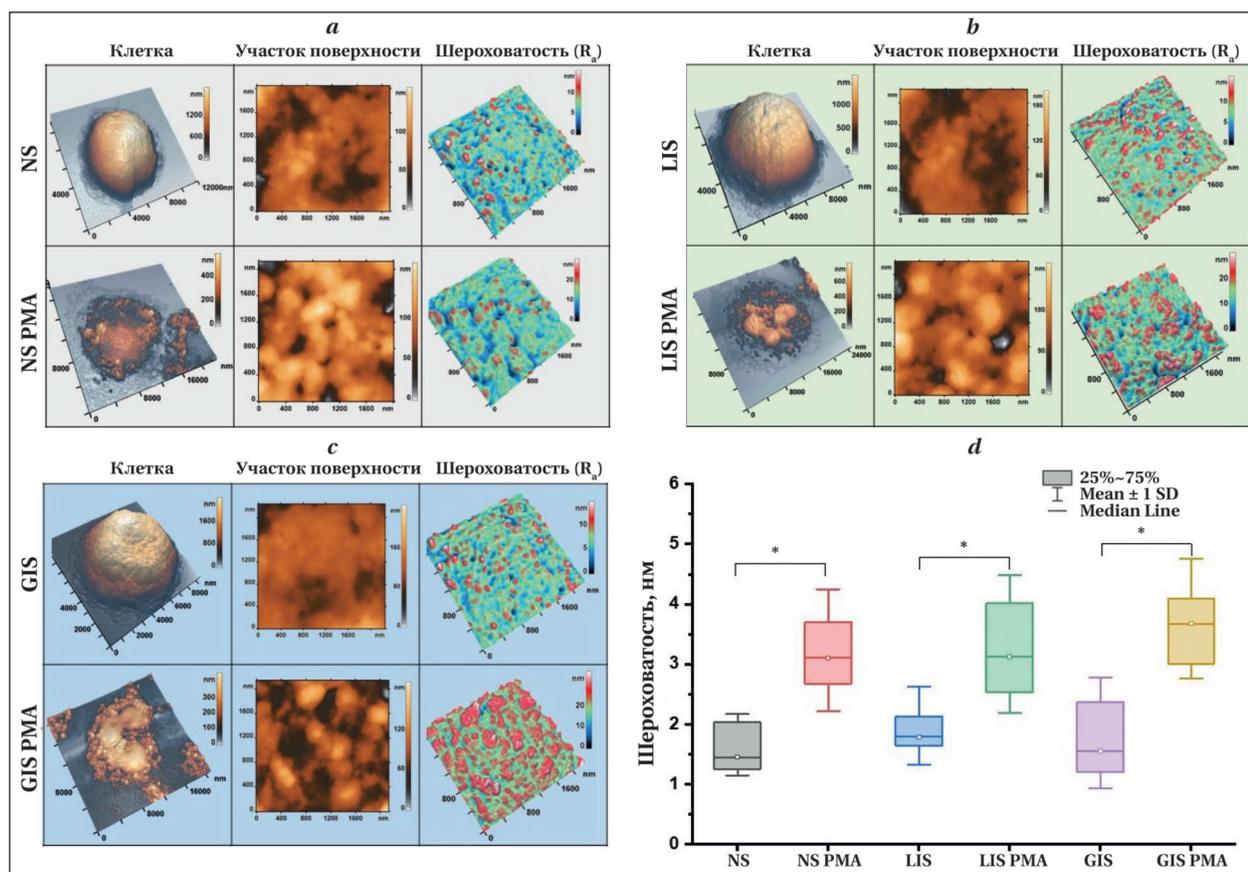


Рис. 5. АСМ-изображения нейтрофилов и анализ шероховатости мембран после воздействия плазмы из различных групп.

Примечание. *a-c* — 3D изображения нейтрофилов (первый столбец), фрагментов мембранной поверхности (второй столбец) и соответствующие карты шероховатости R_a (третий столбец), полученные с помощью АСМ после инкубации клеток с плазмой из контрольной группы (NS), а также пациентов с локализованной (LIS) и генерализованной (GIS) инфекцией — до и после стимуляции PMA; *d* — график изменения средней шероховатости поверхности мембран для всех исследуемых групп; * — $p < 0,001$. Указаны статистически значимые различия внутри групп ($p < 0,001$).

без активации PMA нейтрофилы, инкубированные с плазмой условно-здорового донора, с плазмой пациентов с локализованной инфекцией и с плазмой пациентов с генерализованной инфекцией, продемонстрировали сопоставимые значения шероховатости. Значения R_a составили 1,4 (1,2; 2,0) нм для NS, 1,8 (1,6; 2,1) нм для LIS и 1,5 (1,2; 2,4) нм для GIS. Различия между группами не достигли статистической значимости ($\chi^2 = 4,001$; $p = 0,135$).

С помощью АСМ получили детальные изображения поверхности нейтрофилов (рис. 5, *a-c*), по которым провели анализ клеточной поверхности.

После активации PMA морфология мембраны изменилась. Во всех исследуемых группах наблюдали значимое увеличение R_a по сравнению с соответствующими контрольными значениями. Нейтрофилы, обработанные плазмой из группы NS в присутствии PMA, продемонстрировали увеличение R_a до 3,1 (2,7; 3,7) нм. В группах LIS PMA и GIS PMA значения достигли соответственно 3,1 (2,5; 4,0) нм и 3,7 (3,0; 4,0) нм. Несмотря на общую

тенденцию к росту, при сравнении между группами уровень значимости составил $p = 0,072$ ($\chi^2 = 5,255$), что не указывает на значимые различия между ними. Однако при парном сравнении каждой активированной группы с соответствующей неактивированной плазмой статистически значимые различия зафиксировали во всех случаях ($p < 0,001$), что подтверждает влияние активации на параметры шероховатости мембраны.

Увеличение R_a свидетельствует о повышенной гетерогенности поверхности нейтрофилов после активации. Кроме того, в процессе активации отметили значительное расширение латеральных размеров клеток, что согласуется с известными морфологическими признаками NET-активации.

Из полученных с помощью флуоресцентной микроскопии данных следует, что все исследуемые образцы плазмы, вне зависимости от пациента, не оказывали негативного действия на морфологию нейтрофилов. В группе контроля, без добавления активатора, подавляющее большинство клеток сохраняли интактную форму.

При инкубации клеток с плазмой пациентов с локальной инфекцией получили наименьший ответ на стимул по показателям площади ядра. При этом нейтрофилы, инкубированные с плазмой пациентов с генерализованной инфекцией, характеризовались уровнем NET-активации, сопоставимым с контрольной группой. Таким образом, мы наблюдали, что профиль растворимых факторов плазмы при локальном инфекционном процессе способствует стабилизации нейтрофилов в циркуляторном русле, в то время как при развитии и генерализации инфекции нейтрофилы становятся более подверженными формированию хроматиновых сетей, что приводит к риску тромбозов и синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови у пациентов с сепсисом [30].

Результаты АСМ-анализа подтвердили, что плазма, независимо от ее происхождения, не оказывали выраженного повреждающего воздействия на нейтрофилы. Нейтрофилы, инкубированные с различными типами плазмы без стимуляции, сохраняли сопоставимые значения шероховатости мембран, что свидетельствует об отсутствии значимых различий в их структурном состоянии.

После активации РМА клетки, обработанные всеми типами плазмы, демонстрировали схожее увеличение параметра R_a , что указывает на одинаковую степень повышения гетерогенности поверхности мембраны. Таким образом, активация NET-образования вызывала аналогичные морфологические изменения клеточной поверхности вне зависимости от типа плазмы.

К ограничениям исследования следует отнести малый размер выборки, а также отсутствие характеристики фенотипических изменений нейтрофилов после инкубации с плазмой новорожденных с различной выраженностью инфекционно-септических осложнений.

Литература

1. Liu D., Huang S. Y., Sun J. H., Zhang H. C., Cai Q. L., Gao C., Li L., et al. Sepsis-induced immunosuppression: mechanisms, diagnosis and current treatment options. *Mil Med Res.* 2022; 9 (1): 56. DOI: 10.1186/s40779-022-00422-y. PMID: 36209190.
2. Понасенко А. В., Синицкий М. Ю., Хуторная М. В., Барбараш О. Л. Генетические маркеры системной воспалительной реакции в кардиохирургии (обзор). *Общая реаниматология.* 2017; 13 (6): 48–59. Ponasenko A. V., Siniitsky M. Y., Khtornaya M. V., Barabash O. L. Genetic markers of systemic inflammatory response in cardiac surgery (Review). *Gen Reanimatol = Obshchaya Reanimatologiya.* 2017; 13 (6): 48–59. (in Russ.&Eng.). DOI: 10.15360/1813-9779-2017-6-48-59.
3. Mellhammar L., Wollter E., Dahlberg J., Donovan B., Olsén C.-J., Wiking P. O., Rose N., et al. Estimating sepsis incidence using administrative data and clinical medical record review. *JAMA Netw Open.* 2023; 6 (8): e2331168. DOI: 10.1001/jamanetworkopen.2023.31168. PMID: 37642964.
4. Образцов И. В., Рябов А. Ю., Цуранова Н. С., Балькова Е. В., Парамонов А. И. Функциональная активность нейтрофилов у пациентов с послеоперационными инфекционно-септическими осложнениями. *Российский иммунологический журнал.* 2019; 22 (4): 1393–401. Obraztsov I. V., Ryabov A. Yu., Tsuranova N. S., Balykova E. V., Paramonov A. I. Neutrophil function in patients with postsurgery infectious septic complications. *Russian Journal of Immunology = Ross Immunol Zhurnal.* 2019; 22 (4): 1393–1401. (in Russ.). DOI: 10.31857/S102872210007042-1.
5. Celik I. H., Hanna M., Canpolat F. E., Mohan Pammi. Diagnosis of neonatal sepsis: the past, present and future. *Pediatr Res.* 2022; 91 (2): 337–350. DOI: 10.1038/s41390-021-01696-z. PMID: 34728808.
6. Glaser M. A., Hughes L. M., Jnah A., Newberry D. Neonatal sepsis: a review of pathophysiology and current management strategies. *Adv Neonatal Care.* 2021; 21 (1): 49–60. DOI: 10.1097/ANC.0000000000000769. PMID: 32956076.
7. Образцов И. В., Жиркова Ю. В., Черникова Е. В., Крапивкин А. И., Брунова О. Ю., Абдраисова А. Т., Давыдова Н. В. Значение функционального анализа фагоцитов для диагностики неонатального сепсиса. *Российский вестник перинатологии и педиатрии.* 2023; 68 (1): 24–29. Obraztsov I. V., Zhirkova Y. V., Chernikova E. V., Krapiukin A. I., Brunova O. Y., Abdraisova A. T., Davydova N. V. Feasibility of phagocytes functional testing in neonatal sepsis diagnostics. *Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics = Rossiyskiy Vestnik Perinatologii i Pediatrii.* 2023; 68 (1): 24–29. (in Russ.). DOI: 10.21508/1027-4065-2023-68-1-24-29.

8. Ohbuchi A., Kono M., Kitagawa K., Takenokuchi M., Imoto S., Saigo K. Quantitative analysis of hemin-induced neutrophil extracellular trap formation and effects of hydrogen peroxide on this phenomenon. *Biochem Biophys Reports*. 2017; 11: 147–153. DOI: 10.1016/j.bbrep.2017.07.009. PMID: 28955779.
9. Parker H., Winterbourn C. C. Reactive oxidants and myeloperoxidase and their involvement in neutrophil extracellular traps. *Front Immunol*. 2012; 3: 424. DOI: 10.3389/fimmu.2012.00424. PMID: 23346086.
10. Zhang J., Shao Y., Wu J., Zhang J., Xiong X., Mao J., Wei Y., et al. Dysregulation of neutrophil in sepsis: recent insights and advances. *Cell Commun Signal*. 2025; 23 (1): 87. DOI: 10.1186/s12964-025-02098-y. PMID: 39953528.
11. Sergunova V., Inozemtsev V., Vorobjeva N., Kozlova E., Sherstyukova E., Lyapunova S., Chernysh A. Morphology of neutrophils during their activation and NETosis: atomic force microscopy study. *Cells*. 2023; 12 (17): 2199. DOI: 10.3390/cells12172199. PMID: 37681931.
12. Dewitt S., Hallett M. Leukocyte membrane «expansion»: a central mechanism for leukocyte extravasation. *J Leukoc Biol*. 2007; 81 (5): 1160–4. DOI: 10.1189/jlb.1106710. PMID: 17360954.
13. Hallett M. B., Dewitt S. Ironing out the wrinkles of neutrophil phagocytosis. *Trends Cell Biol*. 2007; 17 (5): 209–14. DOI: 10.1016/j.tcb.2007.03.002. PMID: 17350842.
14. Гребенчиков О. А., Касаткина И. С., Каданцева К. К., Мешков М. А., Баяева А. А. Влияние лития хлорида на активацию нейтрофилов под действием сыворотки пациентов с септическим шоком. *Общая реаниматология*. 2020; 16 (5): 45–55. Grebenchikov O. A., Kasatkina I. S., Kadantseva K. K., Meshkov M. A., Bayeva A. A. The effect of lithium chloride on neutrophil activation on exposure to serum of patients with septic shock. *Gen Reanimatol = Obshchaya Reanimatologiya*. 2020; 16 (5): 45–55. (in Russ.&Eng.). DOI: 10.15360/1813-9779-2020-5-45-55.
15. Образцов И. В., Годков М. А., Кулабухов В. В., Владимиров Г. А., Измайлов Д. Ю., Проскурнина Е. В. Функциональная активность нейтрофилов при ожоговом сепсисе. *Общая реаниматология*. 2017; 13 (2): 40–51. Obraztsov I. V., Godkov M. A., Kulabukhov V. V., Vladimirova G. A., Izmailov D. Y., Proskurnina E. V. Functional activity of neutrophils in burn sepsis. *Gen Reanimatol = Obshchaya Reanimatologiya*. 2017; 13 (2): 40–51. (in Russ.&Eng.). DOI: 10.15360/1813-9779-2017-2-40-51.
16. Starostin D. O., Kuzovlev A. N., Dolgikh V. T., Grebenchikov O. A., Polyakov P. A., Grechko A. V. Influence of sevoflurane on neutrophils in patients with sepsis. *Russ J Anesthesiol Reanimatol*. (in Russ.&Eng.). 2024; (5): 50. DOI: 10.17116/anaesthesiology202405150.
17. Liu S., Han Y., Kong L., Wang G., Ye Z. Atomic force microscopy in disease-related studies: exploring tissue and cell mechanics. *Microsc Res Tech*. 2024; 87 (4): 660–684. DOI: 10.1002/jemt.24471. PMID: 38063315.
18. Dumitru A. C., Koehler M. Recent advances in the application of atomic force microscopy to structural biology. *J Struct Biol*. 2023; 215 (2): 107963. DOI: 10.1016/j.jsb.2023.107963. PMID: 37044358.
19. Kerdegari S., Canera P., Odino D., Oropesa-Nuñez R., Relini A., Cavalleri O., Canale C. Insights in cell biomechanics through atomic force microscopy. *Materials (Basel)*. 2023; 16 (8): 2980. DOI: 10.3390/ma16082980. PMID: 37109816.
20. Sokolov I., Iyer S., Woodworth C. D. Recovery of elasticity of aged human epithelial cells *in vitro*. *Nanomedicine*. 2006; 2 (1): 31–36. DOI: 10.1016/j.nano.2005.12.002. PMID: 17292113.
21. Pérez-Domínguez S., Kulkarni S. G., Rianna C., Radmacher M. Atomic force microscopy for cell mechanics and diseases. *Neuroforum*. 2020; 26 (2): 101–109. DOI: 10.1515/nf-2020-0001.
22. Makarova N., Kalaparthy V., Seluanov A., Gorbunova V., Dokukin M. E., Sokolov I. Correlation of cell mechanics with the resistance to malignant transformation in naked mole rat fibroblasts. *Nanoscale*. 2022; 14 (39): 14594–14602. DOI: 10.1039/D2NR01633h. PMID: 36155714.
23. Burn G. L., Foti A., Marsman G., Patel D. F., Zychlinsky A. The Neutrophil. *Immunity*. 2021; 54 (7): 1377–1391. DOI: 10.1016/j.immuni.2021.06.006. PMID: 34260886.
24. Tilley D. O., Abuabed U., Arndt U. Z., Schmid M., Florian S., Jungblut P. R., Brinkmann V., et al. Histone H3 clipping is a novel signature of human neutrophil extracellular traps. *Elife*. 2022; 11: e68283. DOI: 10.7554/eLife.68283. PMID: 36282064.
25. Thiam H. R., Wong S. L., Qiu R., Kittisopikul M., Vahabikashi A., Goldman A. E., Goldman R. D., et al. NETosis proceeds by cytoskeleton and endomembrane disassembly and PAD4-mediated chromatin decondensation and nuclear envelope rupture. *Proc Natl Acad Sci*. 2020; 117 (13): 7326–7337. DOI: 10.1073/pnas.1909546117. PMID: 32170015.
26. Inozemtsev V., Sergunova V., Vorobjeva N., Kozlova E., Sherstyukova E., Lyapunova S., Chernysh A. Stages of NETosis Development upon Stimulation of Neutrophils with Activators of Different Types. *Int J Mol Sci*. 2023; 24 (15): 12355. DOI: 10.3390/ijms241512355. PMID: 37569729.
27. Wei M., Zhang Y., Wang Y., Liu X., Li X., Zheng X. Employing atomic force microscopy (AFM) for microscale investigation of interfaces and interactions in membrane fouling processes: new perspectives and prospects. *Membranes (Basel)*. 2024; 14 (2): 35. DOI: 10.3390/membranes14020035. PMID: 38392662.
28. Миронов В. Л. Основы сканирующей зондовой микроскопии. Нижний Новгород: Российская академия наук, Институт физики микроструктур; 2004: 110. Mironov V. L. Fundamentals of scanning probe microscopy. Nizhny Novgorod: Russian Academy of Sciences, Institute of Physics of Microstructures; 2004: 110. (in Russ.).
29. Schneider C. A., Rasband W. S., Eliceiri K. W. NIH Image to imageJ: 25 years of image analysis. *Nat Methods*. 2012; 9 (7): 671–675. DOI: 10.1038/nmeth.2089. PMID: 22930834.
30. Zhou Y., Xu Z., Liu Z. Impact of neutrophil extracellular traps on thrombosis formation: new findings and future perspective. *Front Cell Infect Microbiol*. 2022; 12: 910908. DOI: 10.3389/fcimb.2022.910908. PMID: 35711663.

Поступила 01.04.2025
 Принята 27.05.2025
 Принята в печать 09.06.2026

Сепсис — краткий обзор основных понятий

П. Г. Мальков^{1*}, Г. А. Франк²

¹ Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова,
Россия, 119991, г. Москва, ул. Ленинские горы, д. 1

² Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования Минздрава России,
Россия, 125993, г. Москва, ул. Баррикадная, д. 2/1, стр. 1

Для цитирования: П. Г. Мальков, Г. А. Франк. Сепсис — краткий обзор основных понятий. *Общая реаниматология*. 2025; 21 (3): 51–56. <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2025-3-2566> [На русск. и англ.]

*Адрес для корреспонденции: Павел Георгиевич Мальков, malkovp@yandex.ru

Резюме

Проблема сепсиса обсуждается в научном медицинском сообществе на протяжении нескольких десятилетий, однако и до настоящего времени подходы к пониманию биологической сущности этого состояния так и не сложились, что отражается в неоднозначности или спорности трактовки базовых понятий.

Цель. Критически обсудить основные понятия в области сепсиса и септического шока, используемые в клинической практике и научной литературе.

Материалы и методы. Анализ данных литературы и собственный профессиональный опыт авторов.

Результаты. С точки зрения методологии изучения проблем сепсиса и септического шока, предлагается признать сепсис патологическим состоянием, характеризующимся генерализованным гнойным процессом. При этом сепсис типичный и септический шок предлагается считать двумя патогенетически отдельными, самостоятельно развивающимися клинико-анатомическими формами сепсиса.

Заключение. Предлагается в качестве сепсиса рассматривать только состояния, связанные с возбудителями, способными вызывать гнойное воспаление. Негнойные состояния, не связанные с возбудителями гнойных инфекций, предлагается расценивать как следствие генерализации бактериальных, вирусных, протозойных, грибковых болезней, течение которых может приобретать токсические и особо токсические клинические формы, обозначаемые как бактериально-токсический, или инфекционно-токсический (но не септический) шок. Сепсис типичный и септический шок предлагается рассматривать как независимо развивающиеся самостоятельные клинико-анатомические формы сепсиса, а не последовательно развивающиеся стадии патологического состояния.

Ключевые слова: сепсис; септический шок

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Sepsis: A Brief Overview of the Key Concepts

Pavel G. Malkov^{1*}, Georgy A. Frank²

¹ M. V. Lomonosov Moscow State University,
1 Leninskiye gory Str., 119991 Moscow, Russia

² Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Ministry of Health of Russia,
2/1 Barricadnaiy Str., Bldg. 1, 125993 Moscow, Russia

Summary

The issue of sepsis has been discussed extensively in the medical and scientific community for decades. However, a unified understanding of the biological nature of this condition has yet to be established.

Aim. To provide a structured review of the key concepts commonly used in clinical practice and in the scientific literature related to sepsis.

Materials and Methods. A review of the scientific literature combined with the authors' professional experience.

Results. From a methodological perspective, it is suggested to conceptualize sepsis as a pathological condition due to generalized suppurative process. In this case, typical sepsis and septic shock are proposed to be considered two pathogenetically separate, independently developing anatomico-clinical forms of sepsis.

Conclusion. It is proposed to consider as sepsis only conditions associated with pathogens that are not capable of causing purulent inflammation. Non-purulent conditions not associated with pathogens of purulent infections are considered as generalization of bacterial, viral, protozoal, fungal diseases that may acquire toxic and especially toxic clinical forms designated as bacterial-toxic, or infectious-toxic (but not septic) shock. Typical sepsis and septic shock are proposed to be considered as independently developing clinical and anatomical forms of sepsis rather than the sequentially developing stages of the pathological condition.

Keywords: sepsis; septic shock

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

Информация об авторах/Information about the authors:

Павел Георгиевич Мальков/Pavel G. Malkov: <https://orcid.org/0000-0001-5074-3513>

Георгий Авраамович Франк/Georgy A. Frank:

<https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=57212995964>

Read the full-text English version at www.reanimatology.com

Введение

Проблема сепсиса в современной медицине длительное время остается одной из самых обсуждаемых [11]. Основные понятия, используемые при обсуждении проблемы сепсиса, до настоящего времени четко не определены. Определения и трактовки, даваемые официальными органами ВОЗ, крайне расплывчаты, что не способствует улучшению понимания биологической сущности процесса, и основных принципов формулировки диагноза.

Так, международным консенсусом Third International Consensus definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3) сепсис определен как «опасная для жизни дисфункция органов, вызванная нарушением регуляции реакции организма на инфекцию» [1].

Также указывается, что «сепсис может быть вызван большинством микроорганизмов, в том числе бактериями, грибами, вирусами и паразитами, например, возбудителями малярии. Чаще всего сепсис вызывают бактерии *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. и *Neisseria meningitidis*. Часто сепсис и септический шок могут являться смертельным следствием инфицирования сезонными вирусами гриппа, вирусами, вызывающими лихорадку денге, высокотрансмиссивными патогенами, представляющими угрозу с точки зрения общественного здравоохранения, например, вирусами птичьего и свиного гриппа, коронавирусами, вызывающими тяжелый острый респираторный синдром и ближневосточный респираторный синдром, а также, в последнее время, вирусами лихорадки Эбола и желтой лихорадки» [2].

При такой трактовке становятся фактически неотличимыми между собой генерализованная гнойная инфекция и генерализованные формы других (не гнойных) инфекций, синдромы, включенные в МКБ-10 [3], такие как:

- септицемия неуточненная, включая септический шок (A41.9),
- шок токсический, включая инфекционно-токсический (A48.3),
- шок септический (R57.2),
- шок эндотоксический (R57.8),
- синдром системного воспалительного ответа, включая тяжелый сепсис (R65.1).

Вместе с тем, консенсус Sepsis-3 привнес и некоторые прогрессивные изменения. Во-первых, из диагностических критериев сепсиса ис-

ключен Systemic Inflammatory Response Syndrome (R65), что исключает большое количество неопределенностей в клинической практике, хотя и современное определение «опасная для жизни дисфункция органов, вызванная нарушением регуляции реакции организма на инфекцию» [1] также весьма неопределенно. Во-вторых, введена новая дефиниция «септический шок» (septic shock), которая определена как «разновидность сепсиса, при которой особенно глубокие нарушения кровообращения, клеточных и метаболических процессов связаны с бóльшим риском смертности, чем при обычном сепсисе» [1, 4].

Введением понятия «септический шок», международный консенсус Sepsis-3 фактически признает концепцию сепсиса [5] более чем 70-летней давности, впервые стройно разработанную академиком И. В. Давыдовским. Фактически, «септический шок» является тем самым вариантом сепсиса без образования гнойных метастазов, который в советской и российской литературе длительное время обозначался термином «септицемия».

Насколько можем судить, эти понятия не тождественны «гнойно-резорбтивной лихорадке», описанной И. В. Давыдовским как «достаточно банальная интоксикация, идущая из раны, и связанная с периодическим поступлением из нее нестерильных продуктов распада» [6].

Основные положения работы

Настоящая публикация имеет своей целью представить в систематизированном виде основные понятия, традиционно используемые в клинической практике и научной литературе при обсуждении проблемы сепсиса. Вопросы патологоанатомической верификации органной дисфункции, в качестве опорных диагностических признаков сепсиса типичного и септического шока, подробно разобраны в статье М. Г. Рыбаковой [7].

Несмотря на то, что сепсис вызывается микроорганизмами (инфекционными агентами), очевидно, что он не соответствует всем базовым признакам типичной инфекции (табл. 1):

- не имеет одного типичного возбудителя (не монокаузален);
- чаще всего не удается выделить возбудитель в чистой культуре;
- экспериментальное воспроизводство невозможно;
- не заразителен;
- характеризуется нециклическим характером течения;

Таблица 1. Принципиальные отличия сепсиса от типичных (классических) инфекций.

Признак	Сепсис	Типичные (классические) инфекции
Возбудитель	Не монокаузальны	Монокаузальны*
Выделение чистой культуры	Не всегда возможно	Возможно*
Экспериментальное воспроизводство	Не возможно	Возможно*
Заразительность	Не заразителен	Заразительны**
Тип течения	Не циклический	Циклический**
Иммунитет	Не вырабатывается	Вырабатывается**
Типичные органые поражения	Не имеются	Имеются**
Первичный инфекционный комплекс	Не имеется	Имеется
Первичный септический очаг	Имеется	Не имеется

Примечание. * — признаки из триады Коха; ** — следствия из триады Коха.

- не вырабатывает специфический иммунитет;

- не имеет типичных органных поражений;
- не имеет первичного инфекционного комплекса (первичный аффект, лимфангит, лимфаденит), но, как правило, имеет первичный септический очаг.

Следует обратить внимание, что первые три параметра — обязательные признаки инфекции из классической триады Коха, а остальные — прямые следствия из них. Следовательно, по отношению к классическим инфекциям, сепсис характеризуется прямо противоположными характеристиками. И потому любые ссылки на инфекцию, как причину сепсиса, представляются некорректными.

По мнению И. В. Давыдовского, не сепсис, и не гнойно-резорбтивная лихорадка, хотя и вызываются инфекционными агентами, на самом деле «инфекционной болезнью в собственном смысле не являются» [5, 6].

Важно отметить, что сепсис практически не удается воспроизвести в эксперименте [8, 9], хотя было предпринято множество попыток моделирования. Процессы, которые удавалось создать в эксперименте, в значительной степени отличались от сепсиса человека.

Сепсис определяется как «опасная для жизни дисфункция органов, вызванная нарушением регуляции реакции организма в ответ на инфекцию» [8]. Такое определение оставляет возможность подмены понятий (*ingoratio elenchī*) «инфекция» и «инфекционный агент», что представляет собой нарушение первого закона классической логики (закон тождества). Использование термина «инфекция» без соответствующих пояснений является демагогическим приемом, позволяющим связать сепсис с любой инфекционной болезнью или любым инфекционным агентом, что логически не верно — первое потому что сепсис не соответствует классическим признакам триады Коха (табл. 1), второе — потому что не всякий инфекционный агент может быть причиной сепсиса.

Традиционно в российской литературе сепсис описывался как генерализованный гнойный процесс, характеризующийся наличием источ-

ника в виде септического очага, и генерализацией в виде гнойных метастазов (септикопиемия), или в виде инфекционно-токсического шока (септицемия) [5].

Принимая во внимание, что генерализация инфекционного процесса имеет место при очень многих бактериальных (брюшной тиф, сыпной тиф, туберкулез, сифилис и другие), вирусных (вирусные гепатиты, оспа, вирусные геморрагические лихорадки и другие), протозойных (шистосомоз, трипаносомоз и другие), грибковых (системный кандидоз и другие), хламидийных (орнитоз и другие), микоплазменных и других болезнях, понятна необходимость отличать их от сепсиса, в связи с чем важными представляются следующие положения:

1. понятие «сепсис» не тождественно понятию «инфекция», даже с оговорками насчет «опасной для жизни дисфункции органов»;

2. понятие «сепсис» не тождественно понятию «генерализованная инфекция» вне зависимости от возможной схожести их клинических проявлений;

3. способность или неспособность соответствующего инфекционного агента вызывать именно гнойное воспаление.

Считаем важным принять, что сепсис — не инфекция в классическом значении этого понятия, а именно генерализованный гнойный процесс, имея ввиду необходимость обозначить различия сепсиса и генерализованных форм типичных инфекций.

Из этого определения логически следуют следующие положения:

1. генерализованные формы типичных инфекций, вызываемых возбудителями, не способными вызывать гнойное воспаление (некоторые бактерии, микоплазмы, вирусы, простейшие, грибы и другие), не следует относить к сепсису;

2. генерализованные формы типичных инфекций, характеризующихся наличием базовых признаков типичной инфекции (например — заразительность), не следует относить к сепсису;

3. шоковые или токсические состояния, связанные с высокотоксичными формами типичных инфекций, следует расценивать как

Таблица 2. Некоторые этиологические особенности сепсиса [10].

<i>Staphylococcus aureus</i>
• Распространенные мелкоочаговые гнойные метастазы
• Септический эндокардит трехстворчатого клапана
<i>Streptococcus pyogenes</i>
• Крупноочаговые гнойные метастазы
• Септический эндокардит двухстворчатого клапана
<i>Streptococcus pneumoniae</i>
• Наклонность к гранулематозным реакциям
Грамотрицательные бактерии
• Бактериальный шок (по современным представлениям — септический шок)

осложнение основного заболевания, но не как септический шок.

Генерализация процесса происходит гематогенным или лимфогенным путем. Однако, «кровь и лимфа здоровых людей время от времени транспортируют различные микроорганизмы. При нарушениях питания, при оперативных вмешательствах и других травматических воздействиях бактериемия вообще — частое явление», потому «бактериемия сама по себе не документирует сепсис» [5].

Примеры правильной записи причин смерти в медицинском свидетельстве о смерти:

I а) Шок инфекционно-токсический (A48.3)
б) Брюшной тиф (A01.0)

в) —

г) —

или:

I а) Шок эндотоксический (R57.8)

б) Коронавирусная инфекция (U07.1)

в) —

г) —

Консенсусом Sepsis III установлены две самостоятельные клиничко-анатомические формы сепсиса — сепсис типичный (sepsis, septicemia) и септический шок (septic shock). Это не последовательные звенья, а именно самостоятельные (то есть взаимоисключающие) клиничко-анатомические формы заболевания. Из этого положения логически следует, что сепсис типичный не следует расценивать как состояние, способное вызвать септический шок, а септический шок не следует расценивать как состояние, вызванное сепсисом типичным. При выборе непосредственной причины смерти (пункт Ia медицинского свидетельства о смерти) следует выбирать либо сепсис (A40–A41), либо септический шок (R57.2).

Пример неправильной записи причин смерти в медицинском свидетельстве о смерти:

I а) Септический шок (R57.2)

б) Сепсис, вызванный *Staphylococcus aureus* (A41.0)

в) Абсцесс кожи, фурункул и карбункул ягодицы (L02.3)

г) —

Пример правильной записи причин смерти в медицинском свидетельстве о смерти:

I а) Сепсис, вызванный *Staphylococcus aureus* (A41.0)

б) Абсцесс кожи, фурункул и карбункул ягодицы (L02.3)

в) —

г) —

Несмотря на известный факт, что нет конкретного возбудителя, вызывающего сепсис — так называемая «полиэтиологичность» или «не монокаузальность» сепсиса, описаны некоторые этиологические особенности клиничко-анатомических проявлений различных форм сепсиса [10] (табл. 2), которые, впрочем, имеют характер эмпирических наблюдений, без должного статистического подтверждения.

Установление факта, что этиологическим фактором септического шока чаще являются грамотрицательные бактерии, а типичного шока — грамположительные бактерии, подчеркивает принципиальное различие основных клиничко-анатомических форм сепсиса, установленных консенсусом Sepsis III — сепсиса типичного и септического шока, и вывод о том, что это не последовательные звенья, а самостоятельные клиничко-анатомические формы.

И. В. Давыдовский указывал, что «практически вопрос о возбудителе сепсиса сводится (почти исключительно) к трем древнейшим симбионтам человеческого организма: стафилококку, стрептококку и кишечной палочке. Этим микробам совершенно не свойственно вступать с организмом в сложные зоологические отношения» [5].

Небезосновательной представляется точка зрения, что обширные очаги нагноения, такие как разлитой гнойный перитонит, эмпиема плевры, фулярные флегмоны, множественные крупные абсцессы легкого, тормозят развитие гнойных метастазов [10], потому не могут являться источником генерализации гнойного процесса, и, следовательно, не могут быть расценены в качестве причины развития сепсиса, а шоковые состояния или интоксикации, связанные с обширными очагами нагноения, следует расценивать как осложнение основного заболевания, но не как сепсис или септический шок.

Пример неправильной записи причин смерти в медицинском свидетельстве о смерти:

Г а) Сепсис, вызванный *Staphylococcus aureus* (A41.0)

б) Разлитой гнойный перитонит (K65.0)

в) Дивертикулярная болезнь толстой кишки с прободением и абсцессом (K57.2)

г) —

Пример правильной записи причин смерти в медицинском свидетельстве о смерти:

Г а) Шок инфекционно-токсический (A48.3)

б) Разлитой гнойный перитонит (K65.0)

в) Дивертикулярная болезнь толстой кишки с прободением и абсцессом (K57.2)

г) —

Основные термины и понятия, традиционно используемые при обсуждении проблемы сепсиса, требуют отдельных комментариев.

Термин «сепсис» (*от англ. sepsis*) равнозначен термину «септицемия» (*от англ. septicemia*). В англоязычной литературе оба термина традиционно используются в одинаковом значении — то есть являются полноценными синонимами.

Термин «септицемия» (*от англ. septicemia*) традиционно использовался в русскоязычной медицинской литературе для обозначения сепсиса без образования гнойных метастазов, эта позиция длительное время не была принята зарубежным профессиональным сообществом, и только консенсусом Sepsis III (2016) введена новая дефиниция «септический шок» (*septic shock*), фактически описывающая то же состояние — сепсис без образования гнойных метастазов. В связи с введением термина «септический шок», термин «септицемия» следует рекомендовать к употреблению лишь в первоначальном его значении — в англоязычной литературе термин «septicemia» используется как синоним термина «sepsis».

Термин «септический шок» (*septic shock*) — новая дефиниция, введенная консенсусом Sepsis III (2016), фактически описывающая сепсис без образования гнойных метастазов с выраженной интоксикацией и клиникой шока.

Термин «тяжелый сепсис» (*severe sepsis*) используется для обозначения типичного сепсиса с образованием гнойных метастазов и выраженными инфекционно-токсическими проявлениями, но не обозначаемыми как септический шок.

Термин «септикопиемия» не имеет англоязычного аналога, был введен в русскоязычную медицинскую литературу в качестве антипода термину «септицемия», имея ввиду типичный сепсис с образованием гнойных метастазов.

Термин «бактериемия» (*bacteriemia*) — транзитное состояние, характеризующееся переносом бактерий (или колоний бактерий) с током крови, сопровождается бактериальной эмбо-

лией. Бактериологические посеы крови не постоянно положительны, что может быть объяснено только тем, что кровь является не средой обитания, а лишь транспортной средой при гематогенной генерализации гнойного процесса. Не случайно бактериемия (A49.9) исключена из диагностических критериев сепсиса.

Термины «шок токсический» и «шок инфекционно-токсический» в МКБ-10 объединены в одну рубрику «шок токсический, включая инфекционно-токсический» (A48.3), в эту же рубрику возможно включить «шок бактериально-токсический».

Термин «шок эндотоксический» имеет отдельный код МКБ-10 (R57.8), хотя принципиально все эти состояния клинически тождественны, и отличаются только по первичному повреждающему воздействию, имеющего характер «воздействия непреодолимой силы».

Термин «синдром системного воспалительного ответа» (*systemic inflammatory response syndrome, SIRS*) содержится в МКБ-10 под трехзначной рубрикой R65. В консенсусе Sepsis III (2016) речь идет не об отмене этого понятия вообще, а лишь об исключении его из диагностических критериев сепсиса. Тем более, что входящая в этот блок четырехзначная рубрика рекомендована к использованию для кодирования тяжелого сепсиса (R65.1).

Заключение

Сепсис (*sepsis, septicemia*) — генерализованный гнойный процесс, принципиально отличающийся от типичных инфекций (не монокаузален, не удается выделить возбудитель в чистой культуре, невозможно экспериментальное воспроизведение, не заразителен, характеризуется не циклическим типом течения, не вырабатывается иммунитет, не имеет типичных органных поражений, как правило имеет первичный септический очаг, а не первичный инфекционный комплекс).

Генерализованные формы инфекций, связанные с возбудителями, не способными вызывать гнойное воспаление, и характеризующихся наличием базовых признаков типичных инфекций, не следует относить к сепсису.

Генерализация гнойного процесса происходит гематогенным или лимфогенным путем, но бактериемия (A49.9) не является ключевым диагностическим признаком сепсиса, так как кровь является не средой обитания, а лишь транспортной средой при генерализации гнойного процесса.

Клинико-анатомические формы сепсиса: сепсис типичный (A40–A41), включая сепсис тяжелый (R65.1) — вызывается преимущественно грамположительной флорой, характеризуется

наличием множественных гнойных метастазов; септический шок (R57.2) — вызывается преимущественно грамотрицательной флорой, в клинических проявлениях преобладают признаки бактериально-токсического шока, тогда как гнойные метастазы к моменту летального исхода сформироваться не успевают. Особые формы сепсиса — такие как бактериальный (инфекционный) эндокардит (I33), хронический сепсис (*sepsis lenta*, не имеет своего кода МКБ-10).

Сепсис типичный (включая сепсис тяжелый) и септический шок представляют собой самостоятельные клинико-анатомические формы сепсиса. Сепсис не следует расценивать как состояние, способное вызвать септический шок, а септический шок не следует расценивать как состояние, вызванное сепсисом.

Обширные очаги нагноения, такие как разлитой гнойный перитонит, эмпиема плевры, фуллярные флегмоны, множественные крупные абсцессы легкого, тормозят развитие гнойных метастазов, потому не могут являться источ-

ником генерализации гнойного процесса, и, следовательно, не могут быть расценены в качестве причины развития сепсиса, а шоковые состояния или интоксикации, связанные с обширными очагами нагноения, следует расценивать как осложнение основного заболевания, но не как сепсис или септический шок.

Несмотря на схожесть клинических проявлений септического шока и шоковых состояний, связанных с типичными инфекциями, последние следует отличать от сепсиса по наличию признаков, характеризующих принадлежность их к типичным инфекциям. Шоковые состояния, связанные с высокотоксичными формами типичных инфекций, следует расценивать как осложнение основного заболевания, но не как септический шок.

Термины «септикопиемия» и «септицемия» не рекомендуются к употреблению. Современным аналогом термина «септикопиемия» является «сепсис типичный», термина «септицемия» — «септический шок».

Литература

1. Singer M., Deuschman C. S., Seymour C. W., Shankar-Hari M., Annane D., Bauer M., Bellomo R., et al. 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.
2. Совершенствование профилактики, диагностики и клинического ведения сепсиса. Доклад Исполнительного комитета Всемирной организации здравоохранения по пункту 7.2 предварительной повестки дня к 140-й сессии Исполнительного комитета (EB 140/12). 2. Improving the prevention, diagnosis, and clinical management of sepsis. Report of the Executive Committee of the World Health Organization on item 7.2 of the provisional agenda for the 140th session of the Executive Committee (EB 140/12). 2017. (in Russ.). https://apps.who.int/gb/ebwha/pdf_files/EB140/B140_12-ru.pdf.
3. Международная статистическая классификация болезней и проблем, связанных со здоровьем: Десятый пересмотр. Всемирная организация здравоохранения. 1992, 2003, 2021. Официальное издание на русском языке в 3-х т. Министерство здравоохранения Российской Федерации. 2003. International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems: The tenth revision. The World Health Organization. 1992, 2003, 2021. The official publication in Russian in 3 volumes. Ministry of Health of the Russian Federation. 07.04. 2021. (in Russ.).
4. Shankar-Hari M., Phillips G. S., Levy M. L., Seymour C. W., Liu V. X., Deuschman C. S., Angus D. C., et al. Developing a new definition and assessing new clinical criteria for septic shock for the Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA*. 2016; 315 (8): 775–787. DOI: 10.1001/jama.2016.0289. PMID: 26903336.
5. Давыдовский И. В. Сепсис. В кн.: Патологическая анатомия и патогенез болезней человека. Том 1. Инфекционные болезни. М.: Медгиз; 1956: 541–574. Davydovsky I. V. Sepsis. In: Pathological anatomy and pathogenesis of human diseases. Volume 1. Infectious diseases. Moscow: Medgiz; 1956: 541–574. (in Russ.).
6. Давыдовский И. В. Гнойно-резорбтивная лихорадка. В кн.: Патологическая анатомия и патогенез болезней человека. Том 1. Инфекционные болезни. М.: Медгиз; 1956: 574–595. Davydovsky I. V. Purulent-resorptive fever. In: Pathological anatomy and pathogenesis of human diseases. Volume 1. Infectious diseases. Moscow: Medgiz; 1956: 574–595. (in Russ.).
7. Рыбакова М. Г. Сепсис: от синдрома системной воспалительной реакции до органной дисфункции. *Архив патологии*. 2021; 83 (1): 67–72. Rybakova M. G. Sepsis: from systemic inflammatory response syndrome to organ dysfunction. *Russian Journal of Archive of Pathology = Arkhiv Patologii*. 2021; 83 (1): 67–72. (in Russ.). DOI: 10.17116/patol20218301167.
8. Черкасова М. Н. К проблеме экспериментального моделирования сепсиса. *Успехи современной биологии*. 2021; 141 (4): 368–381. Cherkasova M. N. On the problem of experimental modeling of sepsis. *The Successes of Modern Biology = Uspekhi Sovremennoy Biologii*. 2021; 141 (4): 368–381. (in Russ.). DOI: 10.31857/S0042132421030054.
9. Rittirsch D., Hoesel L. M., Ward P. A. The disconnect between animal models of sepsis and human sepsis. *J Leukoc Biol*. 2007; 81 (1): 137–143. DOI: 10.1189/jlb.0806542. PMID: 17020929.
10. Пархоменко Ю. Г. Сепсис: Современное состояние, диагностика и спорные проблемы классификации. *Архив патологии*. 2005; 67 (6): 53–57. Parkhomenko Yu. G. Sepsis: state of the art, diagnosis and disputable problems of classification. *Russian Journal of Archive of Pathology = Arkhiv Patologii*. 2005; 67 (6): 53–57. (in Russ.).
11. Мишнев О. Д., Гринберг Л. М., Зайратьянц О. В. Актуальные проблемы патологии сепсиса: 25 лет в поисках консенсуса. *Архив патологии*. 2016; 78 (6): 3–8. Mishnev O. D., Grinberg L. M., Zairatyants O. V. Actual problems of the pathology of sepsis: 25 years in search of a consensus. *Russian Journal of Archive of Pathology = Arkhiv Patologii*. 2016; 78 (6): 3–8. (in Russ.). DOI: 10.17116/patol20167863-8.

Поступила 28.03.2025

Принята 23.04.2025

Принята в печать 29.04.2025

Основная информация для подачи статьи (редакция 21.04.2025)

1. Первичная подача статьи

1 файл в формате Word на русском языке (для русскоязычных авторов) или на английском языке (для нерусскоязычных авторов), включающий:

- название статьи;
- ФИО всех авторов;
- аффилиации всех авторов;
- текст всех разделов статьи;
- таблицы, рисунки, фото с подписями и примечанием;
- библиографию.

2. Формат подписи файла: фамилия первого автора, дата (год, месяц, число). При обновлении версий рукописи и ее приложений (таблицы, иллюстрации) в формате подписи файлов меняется только дата.

3. Объем статьи

Оригинальная статья: около 40 000 знаков с пробелами.

Краткое сообщение: не более 2500 слов.

Обзор, мета-анализ: 25000–40000 знаков с пробелами.

4. Информация на титульной странице

Название статьи: до 12 слов.

ФИО авторов: полные (Иван Иванович Иванов).

Аффилиации: полное название и почтовый адрес организаций с индексом.

Автор по переписке с редакцией: полные ФИО, адрес электронной почты, номер телефона.

5. Структура текста статьи и библиография

Резюме (объем, разделы): 250–300 слов. Масштаб проблемы, цель, материалы и методы, результаты, заключение.

Хайлайты (главные тезисы в форме текста или инфографики, необязательный раздел после резюме): 1–3 тезиса в графической или текстовой форме (для текстовой формы — не более 40 слов каждый тезис).

Ключевые слова: 6–8 слов, перечисленных через точку с запятой (;), без точки в конце.

Разделы статьи (основные): введение, материалы и методы, результаты, обсуждение, заключение.

Информационные разделы после ключевых слов: конфликт интересов, финансирование, информация об авторах (ORCID или другой ID; вклад авторов). Благодарность (по желанию авторов).

Иллюстрации, включая таблицы: оригинальная статья — до 8; краткое сообщение — не более 3; обзор — до 8.

Ссылки: 70% — источники последних 5 лет, из них — не менее 30% источников последних 3-х лет. Оригинальная статья — 25–45 ссылок; краткое сообщение — 10–25; обзор — 80–120. Стиль: см. раздел 3.14. «Библиография».

6. Форматирование

Шрифт: Times New Roman, 12. Выделение разделов — жирный шрифт.

Интервалы и отступы: межстрочный интервал — 1,5; интервал до и после абзаца — нет; интервал между разделами — один дополнительный интервал; отступ первой строки — 1, 25 см.

Поля: 2,5 см со всех сторон.

Нумерация страниц: в правом нижнем углу.

СКОРО СПЕЦИАЛЬНЫЙ ВЫПУСК



Клинические рекомендации «Остановка сердца (взрослые пациенты)» — первые в Российской Федерации —

**Кодирование по Международной статистической классификации
болезней и проблем, связанных со здоровьем: I46, I46.0, I46.9**

Клинические рекомендации (КР) «Остановка сердца (взрослые пациенты)» подготовлены коллективом ведущих специалистов и представителей Общероссийской общественной организации «Федерация анестезиологов и реаниматологов», Российского общества скорой медицинской помощи, Национального совета по реанимации, Российского общества первой помощи и регламентируют проведение реанимационных мероприятий при остановке кровообращения у взрослых пациентов.

В КР изложена терминология по проблеме остановки кровообращения, этиология и патогенез, эпидемиология внебольничной и внутрибольничной остановки кровообращения, принципы диагностики, алгоритмы базовой (с применением автоматического наружного дефибриллятора) и расширенной сердечно-легочной реанимации, особенности экстракорпорального жизнеобеспечения, а также проведения реанимационных мероприятий в рентген-операционной, у кардиохирургических пациентов и у беременных. Отражены юридические аспекты прекращения и обоснованного отказа от проведения реанимационных мероприятий, критерии качества оказания медицинской помощи. Приведены иллюстрированные алгоритмы проведения реанимационных мероприятий.

*КР «Остановка сердца (взрослые пациенты)» содержат
14 приложений и 231 источник литературы.*