

ОБЩАЯ РЕАНИМАТОЛОГИЯ

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

В. В. МОРОЗ,

*Заслуженный деятель науки РФ,
член-корреспондент РАН, профессор,
научный руководитель ФНКЦ РР*

ЗАМЕСТИТЕЛИ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА

Г. А. РЯБОВ,

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

А. М. ГОЛУБЕВ,

*Заслуженный деятель науки РФ,
профессор,
зам. директора ФНКЦ РР*

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

И. Г. БОБРИНСКАЯ,

профессор кафедры анестезиологии-реаниматологии Московского государственного медико-стоматологического университета

Л. БОССАРТ,

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

А. А. БУНЯТЯН,

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

О. А. ДОЛИНА,

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

А. А. ЗВЯГИН,

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

В. Л. ЗЕЛЬМАН,

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

Н. А. КАРПУН,

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

И. А. КОЗЛОВ,

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

П. КОХАНЕК,

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

А. Н. КУЗОВЛЕВ,

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

GENERAL REANIMATOLOGY

Scientific-and-Practical Journal

EDITOR-IN-CHIEF

Viktor V. MOROZ,

*MD, PhD, DSc, Professor, Corr. Member of RAS,
Honored Scientist of Russia, Scientific Director
of Federal Research and Clinical Center
of Intensive Care Medicine and Rehabilitation*

DEPUTY EDITOR-IN-CHIEF

Gennady A. RYABOV,

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

Arkady M. GOLUBEV,

*MD, PhD, DSc, Professor, Honored Scientist of Russia,
Deputy Director of Federal Research and Clinical Center
of Intensive Care Medicine and Rehabilitation*

EDITORIAL COUNCIL

Irina G. BOBRINSKAYA,

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

Leo L. BOSSAERT,

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

Armen A. BUNYATYAN,

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

Olga A. DOLINA,

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

Alfred A. ZVYAGIN,

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

Vladimir L. ZELMAN,

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

Nikolai A. KARPUN,

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

Igor A. KOZLOV,

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

Patrick M. KOCHANNEK,

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

Artem N. KUZOVLEV,

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

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

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

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

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

Г. В. ПОРЯДИН,
член-корреспондент РАН, профессор, зав. кафедрой патологи-
ческой физиологии Российского национального исследователь-
ского медицинского университет им. Н. И. Пирогова Минздра-
ва России

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

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

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

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

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

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

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

НАУЧНЫЕ РЕДАКТОРЫ

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

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

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

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

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

Evgeny A. LUZHNIKOV,
MD, PhD, DSc, Professor, Member of RAS, Head, Research Section
for the treatment of acute poisoning, N. V. Sklifosofsky Moscow
Research Institute of Emergency Medicine, Chief toxicologist,
Russian Ministry of Public Health (Moscow, Russia)

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

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

Gennady V. PORYADIN,
MD, PhD, DSc, Professor, Corr. Member of RAS,
Head, Department of Pathological Physiology,
N. I. Pirogov's Russian National Research Medical
University (Moscow, Russia)

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

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

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

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

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

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

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

SCIENTIFIC EDITORS

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

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

EDITORIAL BOARD

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

Г. А. БОЯРИНОВ, профессор, зав. кафедрой анестезиологии-реаниматологии Нижегородской государственной медицинской академии (Н.-Новгород)	Gennady A. BOYARINOV, MD, PhD, DSc, Professor, Head, Department of Anesthesiology and Reanimatology, Nizhniy Novgorod State Medical Academy (Nizhniy Novgorod, Russia)
М. А. ВЫЖИГИНА, профессор кафедры анестезиологии-реаниматологии Первого Московского государственного медицинского университета им. И. М. Сеченова	Margarita A. VYZHIGINA, MD, PhD, DSc, Professor, Department of Anesthesiology and Reanimatology, I. M. Sechenov 1st Moscow State Medical University (Moscow, Russia)
Г. В. ГВАК, д.м.н., зав. отделением анестезиологии-реаниматологии Областной детской клинической больницы (Иркутск)	Gennady V. GVAK, MD, PhD, DSc, Head, Department of Anesthesiology and Reanimatology, Regional Children's Hospital (Irkutsk, Russia)
Г. А. ГОРОДНИК, профессор, зав. кафедрой анестезиологии, интенсивной терапии и медицины неотложных состояний До- нецкого национального медицинского университета им. М. Горького, зав. отделением нейрохирургической интен- сивной терапии Донецкого клинического территориального медицинского объединения (Донецк)	Georgy A. GORODNIK, DSc, Professor, Head, Department of Anesthesiology, Intensive Care and Critical Care Medicine, M. Gorky Donetsk National Medical University; Head, Department of Neurosurgical Intensive Care, Donetsk Territorial Medical Association
Е. В. ГРИГОРЬЕВ, профессор, зам. директора по научной и лечебной работе НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний СО РАН (Кемерово)	Evgeny V. GRIGORYEV, MD, PhD, DSc, Professor, Deputy Director (Science), Research Scientific Institute of Clinical Studies of complex problems of cardiovascular diseases, Siberian Branch, RAS (Kemerovo, Russia)
А. И. ГРИЦАН, профессор, зав. кафедрой анестезиологии-реаниматологии Красноярского государственного медицинского университета (Красноярск)	Alexey I. GRITSAN, MD, PhD, DSc, Professor, Head, Department of Anesthesiology and Reanimatology, Krasnoyarsk State Medical University (Krasnoyarsk, Russia)
В. Т. ДОЛГИХ, профессор, зав. кафедрой патологической физиологии с курсом клинической патофизиологии Омской государственной медицинской академии (Омск)	Vladimir T. DOLGIH, MD, PhD, DSc, Professor, Head, Department of pathological physiology with the clinical course of pathophysiology, Omsk State Medical Academy (Omsk, Russia)
М. Н. ЗАМЯТИН, профессор, зав. кафедрой анестезиологии-реаниматологии Института усовершенствования врачей Национального медико-хирургического центра им. Н. И. Пирогова (Москва)	Michael N. ZAMYATIN, MD, PhD, DSc, Professor, Head, Department of Anesthesiology and Reanimatology, Institute of Advanced Medical Studies, N. I. Pirogov National Medical Surgery Center (Moscow, Russia)
И. Б. ЗАБОЛОТСКИХ, профессор, зав. кафедрой анестезиологии, реаниматологии и трансфузиологии Кубанского государственного медицинско- го университета (Краснодар)	Igor B. ZABOLOTSKIY, MD, PhD, DSc, Professor, Head, Department of Anesthesiology, Resuscitation and Transfusion Medicine, Kuban State Medical University (Krasnodar, Russia)
Ж.-М. КАВАЙОН, Европейское общество по изучению шока, зав. лабораторией изучения цитокинов и воспаления, Институт Пастера (Париж, Франция)	Jean-Marc CAVAILLON, DSc, European Shock Society (ESS) and the Head of the Cytokines & Inflammation Unit, Institute Pasteur (Paris, France)
В. Б. КОШЕЛЕВ, профессор, зав. кафедрой нормальной и патологической фи- зиологии факультета фундаментальной медицины Московского государственного университета им. М. В. Ломоносова (Москва)	Vladimir B. KOSHELEV, MD, PhD, DSc, Professor, Head, Department of Normal and Pathological Physiology, Faculty of Fundamental Medicine, Moscow State University (Moscow, Russia)
Г. А. ЛИВАНОВ, профессор, ведущий научный сотрудник НИИ скорой медицинской помощи им. И. И. Джanelидзе (С.-Петербург)	Georgy A. LIVANOV, MD, PhD, DSc, Professor, Chief Scientist, I. I. Dzhanelidze Institu- te of Emergency Medical Care (St. Petersburg, Russia)
В. Н. ЛУКАЧ, профессор кафедры анестезиологии-реаниматологии Омской государственной медицинской академии (Омск)	Valery N. LUKACH, MD, PhD, DSc, Professor, Department of Anesthesiology and Reanimatology, Omsk State Medical Academy (Omsk, Russia)
Д. М. САБИРОВ, профессор, ректор Ташкентского института усовершенствования врачей, зав. кафедрой «Анестезиологии и реаниматологии» ТаШИУВ, Главный анестезиолог реаниматолог министерства здраво- охранения Республики Узбекистан, Председатель Ассоциации анестезиологов и реаниматологов Республики Узбекистан	Djurabay M. SABIROV, DSc, Professor, Rector of Tashkent Institute of Postgraduate Medical Education (TIPME), Head of Department of Anesthesiology and Intensive Care TIPME, Chief of Anesthesiology and Intensive Care of the Ministry of Health of the Republic of Uzbekistan, Chairman of the Association Anesthesiologists and Intensive Care of the Republic of Uzbekistan
Д. В. САДЧИКОВ, профессор, зав. кафедрой анестезиологии-реаниматологии Го- сударственного медицинского университета (Саратов)	Dmitry V. SADCHIKOV, MD, PhD, DSc, Professor, Head, Department of Anesthesiology and Reanimatology, State Medical University (Saratov, Russia)

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

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

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

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

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

Технический секретарь Н. В. Голубева

Учредитель журнала
«Общая реаниматология»
© Фонд «Медицина критических состояний»
Издатель журнала
«Общая реаниматология»
Научно-исследовательский институт общей реаниматологии
им. В. А. Неговского ФНКИ
реаниматологии и реабилитологии, Москва, Россия
Адрес редакции:
107031, Москва, ул. Петровка, 25, стр. 2.
Тел./факс: +7-495-650-25-20; +7-495-694-17-73;
+7-495-694-27-08; +7-495-694-65-05
E-mail: journal_or@mail.ru.

Рецензируемый журнал «Общая реаниматология»
зарегистрирован Федеральной службой по надзору
за соблюдением законодательства в сфере массовых коммуникаций
и охране культурного наследия
02 ноября 2004 года.
Свидетельство о регистрации средства массовой информации
ПИ № ФС77-18690
© Оригинал-макет подготовлен в научно-организационном отделе
НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского
ФНКИ реаниматологии и реабилитологии
Верстка С. В. Шишков

Индекс издания по каталогу ООО «Книга-Сервис»:
46338 — для индивидуальных подписчиков.
Установочный тираж 3000 экз.
Периодичность выхода: 6 раз в год.
Подписано в печать 10.10.17.
Отпечатано в типографии:
ООО «Advanced Solutions»
119071, г. Москва, Ленинский пр-т, д. 19, стр. 1.
E-mail: om@aov.ru. Цена свободная.

Рецензируемый журнал «Общая реаниматология»:

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

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

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

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

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

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

Technical Secretary: Natalia V. Golubeva

The founder of the journal
«Obshchaya Reanimatologiya» (General Reanimatology)
© «Emergency Medicine» Fund
The publisher of the journal
«Obshchaya Reanimatologiya» (General Reanimatology)
V. A. Negovsky Research Institute
of General Reanimatology, Federal Research and Clinical Center
of Intensive Care Medicine and Rehabilitology, Moscow, Russia
Editorial Office address
25 Petrovka St., Build. 2, Moscow 107031.
Tel./fax: +7-495-650-25-20; +7-495-694-17-73;
+7-495-694-27-08; +7-495-694-65-05
E-mail: journal_or@mail.ru

Peer-reviewed «General Reanimatology» Journal is registered
in the Federal Inspection Service for the compliance
with the legislation regarding mass media communication
and cultural heritage protection
(November 2, 2004).

Registration certificate PI No. FC77-18690
Artwork: Research-Organizational Department,
V. A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology, Federal Research and Clinical Center
of Intensive Care Medicine and Rehabilitology
Page-proof — Sergey V. Shishkov

Index 46338 — for individual subscribers
(refer to catalog of ООО «Книга-Сервис»).

Circulation — 3000 copies.
The periodicity is 6 numbers per year. The Journal Volume 13 №5
is scheduled to be published 10.10.17
Printed in printing house:
Ltd. «Advanced Solutions»
19, Leninsky Prospekt, Build. 1, Moscow 119071, Russia
E-mail: om@aov.ru

Peer-reviewed «General Reanimatology» Journal:

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

СОДЕРЖАНИЕ

CONTENTS

СОБЫТИЯ

EVENTS

НИИ общей реаниматологии
им. В. А. Неговского ФНКИЦ
реаниматологии и реабилитологии 80 лет
В. В. Мороз, А. В. Гречко

6 The 80th Anniversary of the V. A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology, Federal Research and Clinical Center of Intensive Care Medicine and Rehabilitation
Viktor V. Moroz, Andrey V. Grechko

Профессору В. В. Морозу 80 лет

30 Professor Viktor V. Moroz is 80

Филиал НИИ общей реаниматологии
им. В. А. Неговского г. Новокузнецка:
история, научные исследования, достижения
Ю. А. Чурляев, К. В. Лукашев

33 V. A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology, Novokuznetsk Regional Campus: History, Research, Achievements
Yury A. Churlyayev, Konstantin V. Lukashev

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ
ИССЛЕДОВАНИЯEXPERIMENTAL
STUDIES

Гендерные особенности постреанимационных
изменений экспрессии мозгового нейротрофи-
ческого фактора (BDNF)
*М. Ш. Аврущенко, И. В. Острова,
А. В. Гречко*

44 Gender Peculiarities of Postresuscitation in the Expression of Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF)
Maria Sh. Avrushchenko, Irina V. Ostrova, Andrey V. Grechko

Нелинейные локальные деформации мембран
эритроцитов: нормальные эритроциты (часть 1)
*А. М. Черныш, Е. К. Козлова,
В. В. Мороз, В. А. Сергунова,
О. Е. Гудкова, А. П. Козлов,
Е. А. Манченко*

58 Nonlinear Local Deformations of Erythrocyte Membranes: Normal Erythrocytes (Part 1)
Alexander M. Chernysh, Elena K. Kozlova, Viktor V. Moroz, Viktoria A. Sergunova, Olga E. Gudkova, Alexander P. Kozlov, Ekaterina A. Manchenko

ОБЗОРЫ

REVIEWS

Ингаляционные антибиотики
в реаниматологии: состояние проблемы
и перспективы развития (обзор)
А. Н. Кузовлев, А. В. Гречко

69 Inhaled Antibiotics in Reanimatology: Problem State and Development Prospects (Review)
Artem N. Kuzovlev, Andrey V. Grechko

Детоксикация при критических состояниях: по-
нимание научной проблемы
в XXI веке (обзор)
С. Е. Хорoshiлов, А. В. Никулин

85 Detoxication in Critical Conditions: an Insight into the Scientific Problem in the XXI Century (Review)
Sergey E. Khoroshilov, Artem V. Nikulin

Методы определения
бактериального эндотоксина в медицине
критических состояний (обзор)
*М. Н. Копицына, А. С. Морозов,
И. В. Бессонов, В. М. Писарев*

109 Methods for Detection of Bacterial Endotoxin in Critical Care Medicine (Review)
Maria N. Kopitsyna, Alexey S. Morozov, Ivan V. Bessonov, Vladimir M. Pisarev

Сепсис-ассоциированная
энцефалопатия (обзор)
Н. В. Белобородова, И. В. Острова

121 Sepsis-Associated Encephalopathy (Review)
Nanalia V. Beloborodova, Irina V. Ostrova

Научно-исследовательскому институту общей реаниматологии им. В. А. Неговского ФНКЦ РР — 80 лет

В. В. Мороз, А. В. Гречко

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

The 80th Anniversary of the V. A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology, Federal Research and Clinical Center of Intensive Care Medicine and Rehabilitology

Viktor V. Moroz, Andrey V. Grechko

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

Анестезиология-реаниматология (слова синонимы) — наука о критических, терминальных и постреанимационных состояниях. Без реаниматологии было бы невозможным развитие кардиохирургии, трансплантологии, полостной хирургии и многих других медицинских специальностей.

Научно-исследовательский институт общей реаниматологии им. В. А. Неговского ФНКЦ РР — головное учреждение Российской Федерации по проблемам анестезиологии-реаниматологии. В 2016 г. Институт интегрирован в структуру Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научно-клинический центр реаниматологии и реабилитологии».

Восемьдесят лет назад приказом Наркомздрава СССР была создана Лаборатория специального назначения по проблеме «Восстановление жизненных процессов при явлениях, сходных со смертью». Лабораторию возглавил Владимир Александрович Неговский. Научными направлениями Лаборатории были: изучение общих закономерностей угасания жизненных функций при умирании и их восстановления после оживления (особое значение придавалось угасанию и восстановлению функций головного мозга); создание эффективного универсального алгоритма сердечно-легочной и церебральной реанимации; доказательство реальности внедрения методов оживления в практическую медицину, преодоление почти абсолютного скепсиса, недоверия широких врачебных, а также научных кругов к самой идее оживления и сопротивления ее внедрению в практику.

В. А. Неговский первым обратил внимание на то, что смерть — это процесс. А раз так, то процесс можно и надо изучать. Впервые было доказано, что

Anesthesiology and resuscitation (synonymous words) are the science of critical, terminal and postresuscitation conditions. The development of cardiac surgery, transplantology, cavitary surgery and many other medical specialties would be impossible without resuscitation.

The V. A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology, Federal Research and Clinical Center of Intensive Care Medicine and Rehabilitology is the leading institution of the Russian Federation on the issues of anesthesiology and resuscitation.

In 2016 The Institute was integrated into the structure of the Federal State Budget Scientific Institution «The Federal Research and Clinical Center of Intensive Care Medicine and Rehabilitology».

Eighty years ago, a special purpose laboratory dedicated to restoring life processes in phenomena near death was established by the Order of the USSR People's Commissariat for Public Health. The Laboratory was headed by Vladimir Aleksandrovich Negovsky. The scientific research in the Laboratory was focused on the study of general patterns of extinction of vital functions during dying and their recovery after resuscitation (a special emphasis was given to fading and restoring of brain functions); on the development of an effective universal algorithm of cardiopulmonary and cerebral resuscitation; on proving the reality of introducing the methods of revitalization into practical medicine; on the overcoming of almost absolute skepticism and distrust in broad medical and scientific circles to the very idea of revitalizing and the resistance to its introduction into practice.

V. A. Negovsky was the first to notice that death is a process. And if so, then the process can and

Адрес для корреспонденции:

Виктор Мороз
E-mail: t_makarova@bk.ru

Correspondence to:

Viktor Moroz
E-mail: t_makarova@bk.ru

существует клиническая смерть — обратимый этап, и биологическая — необратимый этап умирания. Обоснованы и предложены термины «агональное состояние», «терминальное состояние», «постреанимационная болезнь», «сердечно-легочная реанимация», комплекс мер по оживлению организма, которые В. А. Неговский успешно применил в годы Великой Отечественной войны. Впервые было доказано, что оживление организма должно стать систематической работой.

В 1943 г. вышла первая монография В. А. Неговского «Восстановление жизненных функций организма, находящегося в состоянии агонии или клинической смерти», в которой подчеркивается необходимость глубокого изучения динамики угасания и восстановления центральной нервной системы, без чего не может быть решена главная задача оживления — полноценное восстановление функций головного мозга, восстановление социально активного человека.

В 1945 г. вышла вторая монография В. А. Неговского «Опыт терапии состояний агонии и клинической смерти в войсковом районе». В 1952 г. Министерство Здравоохранения СССР издал первую инструкцию «О внедрении в лечебную практику методов восстановления жизненных функций организма, находящегося в состоянии агонии или клинической смерти».

В 1954 г. В. А. Неговский опубликовал монографию «Патофизиология и терапия агонии и клинической смерти», а в 1960 г. — «Оживление и искусственная гипотермия».

Развитие фундаментальных наук способствовало возникновению в XX столетии новой науки, изучающей механизмы развития критических состояний и разрабатывающей способы не только поддержания, но и временного замещения функций органов и систем, которую В. А. Неговский в 1961 г. на конгрессе травматологов в г. Будапеште предложил назвать реаниматологией.

Сформировались три важнейших направления в медицине, соответствующие трем состояниям больных, пострадавших и раненых: первое — состояние, когда возможно помочь человеку только консервативными методами — терапия, второе — состояние, когда нужны и агрессивные методы — хирургия, третье — критические, терминальные и постреанимационные состояния — анестезиология-реаниматология.

За прошедшие годы Институт прошел путь от изучения механизмов смерти и проблем оживления, постреанимационной болезни, поддержания функций органов и систем во время операций и в послеоперационном, посттравматическом периодах, до современных реаниматологических технологий и систем жизнеобеспечения, функционального и метаболического мониторинга, изучения неспецифических функций клеток.

should be studied. For the first time it was proved that there is clinical death (a reversible stage) and biological death (an irreversible stage of dying). The terms «agonizing state», «terminal state», «postresuscitative disease», «cardiopulmonary resuscitation», a set of measures to revitalize the organism were proposed, which V. A. Negovsky had successfully applied during the Great Patriotic War. For the first time it was proved that the revitalization of the organism should become a systematic work.

In 1943 the first book by V. A. Negovsky was published on Restoring the vital functions of an organism in a state of agony or clinical death. In the book the need for the in-depth study of the dynamics of fading and recovery of the central nervous system was emphasized, without which the main tasks of revitalization — a complete restoration of brain functions and the social activity of man — is impossible to complete.

In 1945 the second monograph by V. A. Negovsky was published on The experience of treating agony and clinical death in a military region. In 1952 the USSR Ministry of Health issued the first instruction On the introduction of methods to restore the vital functions of an organism in a state of agony or clinical death into curative practice.

V. A. Negovsky published two fundamental monographs: Pathophysiology and therapy of agony and clinical death (1954) and Revitalization and artificial hypothermia (1960).

As a result of the development of fundamental sciences a new science emerged in the XX century that studied mechanisms of the development of critical conditions and developed methods aimed at both the maintaining and temporarily replacing the functions of organs and systems. V. A. Negovsky suggested to call the science Reanimatology in 1961 at the Congress of Traumatologists in Budapest.

Three important directions in medicine emerged that were relevant to three states of patients, injured and wounded: the first is a state where it is possible to help a person only by conservative methods (therapy), the second is a condition when aggressive methods are also needed (surgery), the third group is critical, terminal and postresuscitation conditions (anaesthesiology and resuscitation).

Over the years the Institute transitioned from studying the mechanisms of dying and issues of revival, postresuscitation disease, maintaining the functions of organs and systems during operations and postoperative and post-traumatic periods, to modern resuscitation techniques and life support systems, functional and metabolic monitoring, and the study of nonspecific cell functions.

Vladimir Aleksandrovich Negovsky and his co-workers proved that with the extinction and recovery of life, the general pathological nonspecific reactions of the organism are a good example of the reactions developing in diseases and injuries.

Владимиром Александровичем Неговским и его сотрудниками было доказано, что при угасании и восстановлении жизни, возникающие общепатологические неспецифические реакции организма, являются ярко-выраженным примером реакций, развивающихся при заболеваниях, травмах, ранениях.

Развитие научной школы В. А. Неговского и формирование концепции постреанимационной болезни позволило перейти на другой уровень понимания реаниматологии не только как раздела медицины об умирании и оживлении, но как принципиально новой науки о жизнеобеспечении при критических состояниях. С 1948 г. лаборатория называлась «Лаборатория экспериментальной физиологии по оживлению организма» АМН СССР, а с 1977 г. — «Научно-исследовательская лаборатория общей реаниматологии АМН СССР». В 1985 г. Научно-исследовательская лаборатория общей реаниматологии АМН СССР была реорганизована в Научно-исследовательский институт общей реаниматологии АМН СССР, в котором были организованы лаборатории по различным направлениям реаниматологии.

В 1990 году при НИИ общей реаниматологии РАМН создан Филиал в г. Новокузнецке для изучения проблем критических состояний у шахтеров. В рамках работы Филиала были изучены особенности патогенеза, диагностики и лечения критических состояний у шахтеров, опубликованы несколько монографий. Филиал функционировал до 2012 г.

В 2009 г. Научно-исследовательскому институту общей реаниматологии присвоено имя В. А. Неговского.

В настоящее время в институте функционирует шесть лабораторий:

- гипоксии критических состояний (заведующий — член-корреспондент РАН, профессор В. В. Мороз);
- клинической патофизиологии критических состояний (заведующий — д.м.н., А. Н. Кузовлев);
- патологии клетки при критических состояниях (заведующий — д.м.н., профессор А. М. Голубев);
- молекулярных механизмов критических состояний (заведующий — д.м.н., профессор В. М. Писарев);
- метаболизма критических состояний (заведующая — д.м.н., профессор Н. В. Белобородова);
- биофизики мембран клеток при критических состояниях (заведующий — д.м.н., профессор А. М. Черныш).

Поскольку все живое на земном шаре погибает, в конце концов, от гипоксии, все, что делается в медицине, направлено на профилактику и коррекцию дыхательной, гемической, циркуляторной и тканевой гипоксии. В связи с этим в НИИОР стали интенсивно изучать механизмы развития гипоксии

The development of the scientific school of V. A. Negovsky and the formation of the concept of postresuscitative illness enabled a different level of understanding resuscitation as not only a division of medicine about dying and revitalization, but as a fundamentally new science of life support in critical conditions. Since 1948 the Laboratory has had different names: the Laboratory of Experimental Physiology for the Revitalization of the Organism of the USSR Academy of Medical Sciences; since 1977 — the Research Laboratory of General Reanimatology of the USSR Academy of Medical Sciences. In 1985 the Research Laboratory of General Reanimatology of the Academy of Medical Sciences of the USSR was reorganized into the Research Institute of General Reanimatology of the USSR Academy of Medical Sciences, with laboratories for certain areas of intensive care.

In 1990 the Research Institute of General Reanimatology of the Russian Academy of Medical Sciences established a regional campus in Novokuznetsk to study the problems of critical conditions in miners. The work of the Regional Campus was focused on studying the specifics of the pathogenesis, diagnosis and treatment of critical conditions in miners; several monographs were published. The Regional Campus operated until 2012.

In 2009 the Institute was named after V. A. Negovsky (the V. A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology).

Currently there are six laboratories in the Institute:

- Hypoxia of critical states (headed by Professor V. V. Moroz, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences);
- Clinical pathophysiology of critical conditions (headed by A. N. Kuzovlev, Doctor of Medical Sciences);
- Cell pathology in critical conditions (headed by A. M. Golubev, Professor, Doctor of Medical Sciences);
- Molecular mechanisms of critical conditions (headed by V. M. Pisarev, Professor, Doctor of Medical Sciences);
- Metabolism in critical states (headed by N. V. Beloborodova, Professor, Doctor of Medical Sciences);
- Biophysics of cell membranes in critical conditions (headed by A. M. Chernysh, Professor, Doctor of Medical Sciences).

As all living beings on our planet ultimately die from hypoxia, everything that is done in medicine is aimed at the prevention and correction of respiratory, hemic, circulatory and tissue hypoxia. To this end the RIGR began an intensive study of the mechanisms of the development of hypoxia of critical states, in particular, in Acute Respiratory Distress Syndrome (ARDS).

критических состояний, в частности при остром респираторном дистресс-синдроме (ОРДС).

Наиболее сложные и тяжелые нарушения газообмена в легких наблюдаются у больных ОРДС, летальность у них остается высокой (50–74%). Важным является то, что ОРДС развивается при различных заболеваниях и критических состояниях, связанных как с непосредственным повреждением легких (прямой ОРДС с повреждением эпителия дыхательных путей), так и при вторичном повреждении легких (непрямой ОРДС с повреждением эндотелия сосудов). Сложной клинической проблемой остается своевременная и правильная диагностика различных форм и стадий ОРДС. Принципиально важным моментом является ранняя диагностика ОРДС с использованием новейших медицинских технологий и совершенствование разных методов лечения.

Малоизученные механизмы патогенеза ОРДС, сложности диагностики и низкая терапевтическая эффективность диктуют необходимость поиска новых путей улучшения диагностики, профилактики и результатов лечения этого заболевания.

В связи с этим целью исследования в лаборатории гипоксии критических состояний явилось повышение эффективности диагностики и лечения больных ОРДС на основе использования новейших медицинских технологий. В течение 20 лет в пяти различных лечебно-профилактических учреждениях и лабораториях (клинических и экспериментальных базах НИИОР) было исследовано более 5000 больных и пострадавших с различными заболеваниями и травмами, приведшими к развитию ОРДС. При постановке диагноза ОРДС использовали критерии, разработанные в НИИОР. Впервые были разработаны и запатентованы различные экспериментальные модели развития ОРДС, на основании которых выполнено более 300 лабораторных экспериментов. На различных этапах эксперимента использовались гистологические, морфометрические, гистохимические, электронномикроскопические, в том числе и атомно-силовые методы исследования легких. В комплексном изучении данной проблемы впервые был использован широкий спектр новейших диагностических технологий, в том числе нанотехнологий: иммуноферментные, биохимические, цитологические, гистологические и гистохимические методы, электронная и атомно-силовая микроскопия, генетические, иммунологические, а также методы инвазивного мониторинга показателей кардиогемодинамики, транспорта и потребления кислорода, состояния водных секторов организма и внесосудистой жидкости в легких, биохимических легких, показателей газообмена, метаболизма и сонографические методы диагностики.

Всем больным проводили искусственную вентиляцию легких (ИВЛ). Использовали респираторы высшего функционального класса в соот-

The most complex and severe problems with gas exchange in the lungs are observed in patients with ARDS, the mortality rate remains high (50–74%). It is important that ARDS develops in various diseases and critical conditions associated with both direct damage to the lungs (direct ARDS with epithelial damage to the respiratory tract) and secondary damage to the lungs (indirect ARDS with endothelial damage of blood vessels). Timely and correct diagnosis of various forms and stages of ARDS has been a complicated clinical issue. The early diagnosis of ARDS using the latest medical technologies and the improvement of different treatment methods is essential.

Little research on the mechanisms of the ARDS pathogenesis, the complexity of diagnosis and low therapeutic efficacy have indicated the need to seek new ways of improving diagnosis, prevention and treatment outcomes of this disease.

In this regard the goal of the research in the laboratory of hypoxia of critical states was to increase the effectiveness of diagnosis and treatment of ARDS patients based on the use of the latest medical technologies. For over 20 years more than 5,000 patients and victims (with various diseases and injuries causing the development of ARDS) were examined in five different treatment and prophylactic institutions and laboratories (clinical and experimental facilities of the RIGR). During the diagnosis of ARDS the criteria developed at the RIGR were used. For the first time various experimental models of the development of ARDS were developed and patented, more than 300 laboratory experiments were performed based on the models. At different stages of the experiment histological, morphometric, histochemical, electron microscopic, including atomic force, methods of lung research were applied. In a comprehensive study of this problem, a wide range of new diagnostic methods were used for the first time, including nanotechnology: immunoenzyme, biochemical, cytological, histological and histochemical methods, electron and atomic force microscopy, genetic and immunological methods, invasive monitoring of cardiohemodynamics, transport and oxygen consumption, the state of the water sectors of the body and extravascular fluid in the lungs, biochemical lungs, gas exchange parameters, metabolism and sonographic methods of diagnosis.

All patients had artificial ventilation (IVL) performed. Respirators of the higher functional class were used following the concept of «safe» ventilation, modern invasive monitoring, including PiCCOPlus technology and non-invasive monitoring of cardiohemodynamics, water sectors, gas composition, acid-base state and biochemical parameters of blood, lung biochemical parameters, oxygen transport and consumption, and radiation diagnostic methods (radiography, sonography and computed to-

ветствии с концепцией «безопасной» ИВЛ, современный инвазивный мониторинг, в том числе технология PiCCoPlus и неинвазивный мониторинг кардиогемодинамики, водных секторов, газового состава, кислотно-щелочного состояния и биохимических параметров крови, биохимических показателей легких, состояния транспорта и потребления кислорода, лучевые методы диагностики (рентгенография, сонография и компьютерная томография легких). С целью профилактики и лечения ОРДС был использован комплекс разработанных в НИИОР инновационных медицинских технологий с применением фармакологических, респираторных и нереспираторных методов, направленных на коррекцию дыхательной, циркуляторной, гемической и тканевой гипоксии. На этапах исследования изучали динамику вышеперечисленных показателей, число и характер легочных и внелегочных осложнений, продолжительность респираторной поддержки, пребывания в отделении реаниматологии, летальность.

Полученные результаты позволили предложить новую классификацию ОРДС, которая включает 3 стадии:

- I стадия (обратимая) — стадия острого повреждения легких
- II стадия — прогрессирующая дыхательная недостаточность
- III стадия — исходы ОРДС: а) выздоровление с восстановлением структуры и функции легких; б) выздоровление с фиброзом и нарушением функций легких; в) летальный исход.

Предлагаемая классификация ОРДС базируется на информативных и объективных данных, позволяющих в режиме реального времени оценивать его важнейшие признаки: содержание внесосудистой жидкости в легких, индекс оксигенации, нарушения кардиогемодинамики, клинические признаки острой дыхательной недостаточности.

Полученные в НИИОР новые данные по этиологии и патогенезу ОРДС, а также внедрение в клиническую практику обоснованных, разработанных методов диагностики, профилактики, комплексного и дифференцированного лечения ОРДС с использованием новейших медицинских технологий и фармакологических препаратов позволили сократить продолжительность ИВЛ на 5–6 суток, коматозного состояния на 3–4 суток, пребывания в отделении реаниматологии на 8–10 суток, развитие легочных осложнений на 24,7%, материальные затраты на лечение больного до 134114 рублей, летальность на 29,6%.

Проведен значительный объем исследований по изучению методов экстракорпоральной детоксикации при тканевой гипоксии критических состояниях (С. Е. Хорошилов, А. В. Никулин). Доказано, что наиболее частой причиной острой почечной недостаточности (63,8% больных) является наруше-

мографии of the lungs). A set of innovative medical techniques developed at the RIGR involving the use of pharmacological, respiratory and non-respiratory methods aimed at correcting respiratory, circulatory, hemic and tissue hypoxia were used with the purpose of prevention and treatment of ARDS. During the research the dynamics of the above indices, the amount and nature of pulmonary and extrapulmonary complications, the duration of respiratory support and stay in the department of intensive care, and mortality were studied.

The results obtained in the RIGR were used to propose a new classification of ARDS that included three stages:

- Stage I (reversible): the stage of acute lung injury
- Stage II: progressive respiratory failure
- Stage III: ARDS outcomes а) recovery with the lung structure and function restored; б) recovery with fibrosis and impaired lung function; в) lethal outcome.

The proposed classification of ARDS is based on informative and objective data, which allows real-time evaluation of its most important signs: the content of extravascular fluid in the lungs, the oxygenation index, cardiohemodynamic disorders, and clinical signs of acute respiratory failure.

The new data on the etiology and pathogenesis of ARDS, as well as the introduction into the clinical practice of well-founded developed methods for diagnosis, prevention, comprehensive and differentiated treatment of ARDS using the newest medical technologies and pharmacological preparations, made it possible to shorten the duration of artificial ventilation by 5–6 days, coma by 3–4 days, stay in the department of resuscitation by 8–10 days, the development of pulmonary complications by 24.7%, material costs for treating the patient to 134,114 rubles and mortality rate by 29.6%.

A significant amount of research has been performed on the methods of extracorporeal detoxification in tissue hypoxia of critical conditions (S. E. Khoroshilov, A. V. Nikulin). It has been proved that the most frequent cause of acute renal failure (63.8% of patients) is the systemic and organ hemodynamics disorder as a result of sepsis, severe combined trauma, hypovolemia and acute cardiovascular insufficiency. Renal acute renal failure is less frequent (18.9%) that is caused by the effects of rhabdomyolysis or toxic-allergic reaction to medications. Early diagnosis of kidney damage most benefits from the study of the concentration of urine sodium, the calculation of the glomerular filtration rate and the daily excretion of nitrogen metabolites. An increase in the concentration of urine sodium of more than 35 mmol/l in patients with impaired systemic hemodynamics should be the basis for intensive «nephroprotective» therapy. It has been proved that high-volume hemofiltration

ние системной и органной гемодинамики в результате сепсиса, тяжелой сочетанной травмы, гиповолемии, острой сердечно-сосудистой недостаточности. Реже (в 18,9% случаев) наблюдается ренальная острая почечная недостаточность, вызванная последствиями рабдомиолиза или токсико-аллергической реакцией на лекарственные препараты. Для ранней диагностики почечного повреждения наиболее информативно изучение концентрации натрия мочи, расчет скорости клубочковой фильтрации, суточной экскреции азотистых метаболитов. Повышение концентрации натрия мочи более 35 ммоль/л у больных с нарушением системной гемодинамики должно быть основанием для проведения интенсивной «нефропротективной» терапии. Доказано, что высокообъемная гемофильтрация (с замещением 90 мл/кг/час) по сравнению со стандартной гемофильтрацией (с замещением 35 мл/кг/час) является эффективным средством стабилизации гемодинамики при септическом шоке, в 59% случаев позволяет предупредить развитие анурической острой почечной недостаточности, а в 33% — и вовсе избежать почечного повреждения. Высокообъемная гемофильтрация при септическом шоке приводит к восстановлению равновесия между доставкой и потреблением кислорода (с увеличением насыщения кислородом гемоглобина смешанной венозной крови с 72 до 98%), а также сопровождается нормализацией показателей, характеризующих компенсацию тканевой (гистотоксической) гипоксии. Гемодиализ оказывает выраженный катаболический эффект, проявляющийся в потере за 4 часа стандартного гемодиализа до 2000 кДж энергии и до 37,4 г глюкозы в экстракорпоральном контуре, и сопровождается снижением концентрации инсулина и нарастанием уровня глюкагона в плазме. Оптимальная компенсация катаболического эффекта достигается применением изотермического диализата с интрадиализной инфузией глюкозо-инсулиновой смеси. Изучен альбуминовый диализ, который является эффективным методом элиминации как гидрофобных, так и гидрофильных токсических веществ, накапливающихся в крови при острой печеночно-почечной недостаточности. В результате проведения альбуминового диализа билирубинемия уменьшается в 2,4 раза, аммониемия в 2,1 раза. В результате проведения альбуминового диализа при острой печеночно-почечной недостаточности происходит стабилизация гемодинамики, нормализация скорости клубочковой фильтрации и восстановление суточного диуреза. Доказано, что диагностика начальной стадии острой почечной недостаточности и назначение медикаментозной нефропротективной терапии позволяет избежать развития анурической формы почечной недостаточности у 49% больных. Отсутствие выраженного диуретического эффекта или нарастание азотистых шлаков крови более чем в 1,5 раза за 12 часов следует считать показанием для начала про-

tion (with substitution of 90 ml/kg/h), as compared to standard hemofiltration (with substitution of 35 ml/kg/h) is an effective means of stabilizing hemodynamics in septic shock; it prevents the development of anuric acute renal failure in 59% of cases; in 33% kidney damage can be completely avoided. High volume haemofiltration in septic shock leads to a restoration of equilibrium between oxygen delivery and consumption (with an increase in the oxygen saturation of hemoglobin in mixed venous blood from 72 to 98%). Besides, it is also followed by normalization of indicators characterizing the compensation of tissue (histotoxic) hypoxia. Hemodialysis has a pronounced catabolic effect manifested in the loss of 4 hours of standard hemodialysis up to 2.000 kJ energy and up to 37.4 g of glucose in the extracorporeal circuit. It is accompanied by a decrease in the insulin concentration and an increase in the level of glucagon in the plasma. Optimum compensation of the catabolic effect is achieved by using isothermal dialysate with intra-dialysis infusion of the glucose-insulin mixture. Albumin dialysis was studied, which is an effective method of eliminating both hydrophobic and hydrophilic toxic substances accumulating in the blood in acute hepatic renal insufficiency. As a result of albumin dialysis, bilirubinemia decreases 2.4 times, ammoniasis 2.1 times. As a result of albumin dialysis in acute hepatic renal failure hemodynamics stabilizes, the glomerular filtration rate normalizes and diurnal diuresis is restored. It is proved that the diagnosis of the initial stage of acute renal failure and the prescription of nephroprotective medication prevents the development of an anuric form of renal failure in 49% of patients. The absence of a pronounced diuretic effect or the growth of nitrogenous blood slags more than 1.5 times in 12 hours should be considered an indication to initiate renal replacement therapy. Complex nephroprotective therapy performed simultaneously with the early use of renal (dialysis) replacement therapy results in the reduction of mortality in acute renal failure by 34.2%.

One of the new directions in the laboratory of hypoxia of critical states is the fundamental research aimed at studying the mechanisms of development, methods of early diagnosis and treatment of critical conditions in neonates arising in the early neonatal period (S. A. Perepelitsa). Three directions of research in neonatology have been defined at the RIGR: perinatal hypoxia, the respiratory distress syndrome of the newborn and the perinatal state of lipid metabolism. The directions are of the medical and social significance aimed at solving the main task of modern medicine: the reduction of neonatal and infant mortality and morbidity.

The onset of premature birth may be caused by perinatal hypoxia as a result of the development of placental insufficiency. A substantial part of the research was focused on the morphological study of the

ведения заместительной почечной терапии. Комплексная нефропротективная терапия одновременно с ранним использованием заместительной почечной (диализной) терапии позволяет снизить летальность при острой почечной недостаточности на 34,2%.

Одним из новых направлений лаборатории гипоксии критических состояний является проведение фундаментальных исследований, направленных на изучение механизмов развития, методов ранней диагностики и лечения критических состояний у новорожденных, возникающих в раннем неонатальном периоде (С. А. Перепелица). В НИИОР выделены три направления научных исследований в неонатологии: перинатальная гипоксия, респираторный дистресс-синдром новорожденного и перинатальное состояние липидного обмена. Выделенные направления имеют медико-социальную значимость, направленную на решение основной задачи современной медицины: снижение неонатальной и младенческой смертности и заболеваемости.

Предпосылкой для наступления преждевременных родов является перинатальная гипоксия, обусловленная развитием плацентарной недостаточности. Морфологическому исследованию плаценты уделено большое внимание, т.к. результат дает возможность провести анализ течения беременности и понять механизм, закономерности и глубину патологического процесса. Гестационный возраст 24–31 неделя является критическим, т.к. существует патологическая незрелость плаценты, в этом сроке определяется два варианта ранней формы патологической незрелости: истощение компенсаторных реакций в виде малого числа синцитиальных почек, обильного отложения фибриноида, крупных афункциональных зон ворсин, запустевания капилляров и вариант промежуточных дифференцированных ворсин. При всех преждевременных родах встречаются изолированные или множественные изменения в плаценте: хроническая плацентарная недостаточность II–III степени, крупные ишемические инфаркты, при этом компенсаторные реакции низкие, характерны склероз синцитиальных почек, малое число терминальных специализированных ворсин. Для 54,5% недоношенных новорожденных с гестационным возрастом 32–34 недели также характерны низкие компенсаторные реакции в плаценте и выявлена аномалия пуповины (короткая пуповина), в 18% случаев причиной преждевременных родов является отслойка плаценты. Многоплодие вносит свой негативный вклад в перинатальную заболеваемость и смертность. В плацентах близнецов в 100% случаев выявлены нарушения созревания ворсин, инволютивно-дистрофические изменения различной степени выраженности. В большинстве случаев компенсаторные реакции в плаценте слабо выражены, и при малом

плацента since the result enables the analysis of the course of pregnancy and an insight into the mechanism, patterns and depth of the pathological process. The gestational age of 24–31 weeks is critical because there is a pathological immaturity of the placenta; in this period there may be two variants of the early form of pathological immaturity: the depletion of compensatory reactions in the form of a small number of syncytial nodules, abundant fibrinoid deposition, large afunctional villi areas, capillary dropout and a variant of intermediate differentiated villi. In all premature births there are isolated or plural changes observed in the placenta: chronic placental insufficiency of II–III degree, large ischemic infarcts (with low compensatory reactions). Besides, sclerosis of syncytial nodules and a small number of terminal specialized villi are typical too. 54.5% of preterm infants with a gestational age of 32–34 weeks also have low compensatory reactions in the placenta and abnormalities of the umbilical cord (the short umbilical cord); in 18% of cases preterm labor is caused by placental abruption. Multiple fetation contributes negatively to the statistics in perinatal morbidity and mortality. In twins' placentas in 100% of cases there are villi maturation disorders, involute and dystrophic changes of various severity. In most cases compensatory reactions in the placenta are hardly pronounced, and at early gestation periods in 62.1% of cases acute placental insufficiency develops causing premature birth.

Placental insufficiency contributes to the formation of perinatal hypoxia that adversely affects the development of the fetus due to intrauterine hypoxia causing disruption in hemopoiesis and in the structure of erythrocyte membranes, which aggravates the course of the early neonatal period. The NTEGRA Prima atomic force microscope (Russia) used in a semi-contact mode allowed the study of the structure of erythrocyte membranes. It turned out that at birth and in the first week of postnatal life planocytes are the main morphological form of erythrocytes in term infants and they probably provide full oxygen transport during the perinatal period. With perinatal hypoxia the nano-structure of erythrocyte membranes is damaged in utero at all levels. Hypoxia impacts on the erythrocyte membrane; the severity of the process is determined by the severity and duration of hypoxemia. Twelve hours after birth oxidative defects appear on the surface of the planocyte in newborns that have undergone PH. The revealed changes indicate the effect of the degree of hypoxia on all nanostructures of the erythrocyte membrane: the phospholipid bilayer (h_1), the membrane protein components (h_2), and the spectra matrix (h_3). The altered heights of the erythrocyte membrane h_1 and h_3 associated with hypoxia appear to be aimed at increasing the surface of the erythrocyte membrane, which contributes to an increase in the

сроке гестации в 62,1% случаев развивалась острая плацентарная недостаточность, что явилось причиной преждевременных родов.

Плацентарная недостаточность способствует формированию перинатальной гипоксии, которая неблагоприятно влияет на развитие плода, вследствие формирующейся внутриутробной гипоксии, вызывает нарушение гемопоэза, структуры мембран эритроцитов, что усугубляет течение раннего неонатального периода. С помощью атомного силового микроскопа «NTEGRA prima» (Россия) в полуконтактном режиме, изучении структуры мембран эритроцитов. Оказалось, что при рождении и в первую неделю постнатальной жизни планциты являются основной морфологической формой эритроцитов у доношенных новорожденных, которые, вероятно, обеспечивают полноценный транспорт кислорода в перинатальный период. При перинатальной гипоксии уже внутриутробно происходит повреждение наноструктуры мембран эритроцитов на всех уровнях. Гипоксия оказывает негативное влияние мембрану эритроцитов, выраженность процесса зависит от тяжести и длительности гипоксемии. Через 12 часов после рождения, у новорожденных, перенесших ПГ, на поверхности планцита появляются окислительные дефекты. Выявленные изменения свидетельствуют о влиянии степени гипоксии на все наноструктуры мембраны эритроцита: фосфолипидный бислой (h_1), белковые компоненты мембраны (h_2), спектринный матрикс (h_3). Изменение высот мембраны эритроцитов h_1 и h_3 , связанное с гипоксией, по-видимому, направлено на увеличение поверхности мембраны эритроцита, способствующее увеличению площади газообмена. Данные изменения являются приспособительной реакцией в ответ на гипоксию, направленной на сохранение функциональной способности эритроцита. Постгипоксический период характеризуется нестабильностью всех наноструктур мембран эритроцитов, большой вариабельностью морфологических форм.

При рождении у недоношенных новорожденных, в том числе с респираторным дистресс-синдромом (РДСН) с определяется внутриутробный пойкилоцитоз. Стоматоцитоз характерен для 80% недоношенных новорожденных, остальные эритроциты представлены планцитами, эхиноцитами. Течение заболевания характеризуется нарушением микроструктуры мембран эритроцитов на уровне h_1 и h_2 порядков. На изменение спектринного матрикса влияют многоплодие, тяжелая форма гестоза, предлежание плаценты. При многоплодии происходит антенатальное повреждение мембран эритроцитов у новорожденных. Течение раннего неонатального периода у недоношенных новорожденных характеризуется активным процессом на мембране эритроцитов, сменой морфо-

gas exchange area. These changes constitute an adaptive response to hypoxia aimed at preserving the functional capacity of the erythrocyte. The instability of all nanostructures in erythrocyte membranes and a great variability of morphological forms are common in the post-hypoxic period.

When preterm infants are born (including those with respiratory distress syndrome of the newborn (RDSN)), intrauterine poikilocytosis is identified. Stomatocytosis is typical for 80% of premature newborns; planocytes and echinocytes represent the rest of the red blood cells. The course of the disease is characterized by the disrupted microstructure of erythrocyte membranes at the level of h_1 and h_2 . The change in the spectra matrix is affected by multiple fetation, severe forms of gestosis and placenta previa. In multiple pregnancies antenatal damage to erythrocyte membranes is common in newborns. The course of the early neonatal period in premature newborns is characterized by an active process on the erythrocyte membrane and changes in the morphological forms. Macrocytosis and plannocytosis reflect the compensatory state of erythropoiesis and are the physiological state of erythrocytes in premature infants. The largest changes in the erythrocyte membrane nanostructure are typical for the h_1 height which reflects the membrane flickering. The morphological composition of erythrocytes does not recover by the end of the early neonatal period.

Intrauterine rhesus immunization of the fetus together with the early antibody titers and Class G immunoglobulins during pregnancy promote the development of erythrocyte polymorphism with sites of destruction. At birth the h_1 height is subject to the greatest changes in newborns with Rh-conflict. After the intravenous immunoglobulins have been administered the erythrocyte composition is normalized, while topological defects on the membrane surface disappear. Complex isoimmunization therapy of a newborn following the Rh factor or an ABO system stops the cascade of immunological reactions, leads to the cessation of hemolysis of erythrocytes and affects the morphological composition and macrostructure of erythrocyte membranes.

Respiratory distress syndrome of the newborn (RDSN) is a disease specific only for premature newborns. It remains one of the most urgent diseases in the early neonatal period. The development of RDSN is facilitated by the morphofunctional features of the respiratory system in premature babies, profound combined disorders of metabolism and oxygen status. As a rule, decompensated metabolic acidosis, hyperlactatemia and severe hypoxemia are detected, which are difficult to treat using traditional artificial ventilation. The surfactants applied in order to prevent the development of the disease is ineffective with the decompensation of metabolism and disrupted hemo- and microcirculation in the

логических форм. Макроцитоз и планоцитоз отражают компенсаторное состояние эритропоэза, являются физиологическим состоянием эритроцитов для недоношенных детей. Наибольшие изменения наноструктуры мембраны эритроцитов характерны для высоты h_1 , отражающей мембранный flickering. Нормализации морфологического состава эритроцитов к концу раннего неонатального периода не происходит.

Внутриутробная резус — иммунизация плода, сопровождающаяся ранним появлением титра антител и иммуноглобулинов класса G во время беременности, способствует возникновению полиморфизма эритроцитов с участками деструкции. При рождении у новорожденных с резус-конфликтом наибольшим изменениям подвержена высота h_1 . После введения внутривенных иммуноглобулинов происходит нормализация состава эритроцитов, исчезают топологические дефекты на поверхности мембраны. Комплексная терапия изоиммунизации новорожденного по резус-фактору или АВО-системе прекращает каскад иммунологических реакций, приводит к прекращению гемолиза эритроцитов, влияет на морфологический состав и макроструктуру мембран эритроцитов.

Респираторный дистресс-синдром новорожденного (РДСН) является заболеванием, специфичным только для недоношенных новорожденных и остается одним из наиболее актуальных заболеваний в раннем неонатальном периоде. Развитию РДСН способствуют морфофункциональные особенности дыхательной системы недоношенного ребенка, глубокие сочетанные нарушения метаболизма и кислородного статуса. Как правило, выявляются декомпенсированный метаболический ацидоз, гиперлактатемия и тяжелая гипоксемия, которые трудно поддаются лечению с помощью традиционной ИВЛ. Применение сурфактантов, с целью профилактики развития заболевания, на фоне декомпенсации метаболизма, нарушений гемо- и микроциркуляции в легких, малоэффективно и у новорожденных, несмотря на введение препарата, быстро формируются гиалиновые мембраны и возникает риск развития бронхолегочной дисплазии.

В случае тяжелого течения РДСН с высоким риском развития осложнений и формирования бронхолегочной дисплазии, для сокращения продолжительности ИВЛ применяли ингаляционное введение экзогенного сурфактанта. Цель лечения — временное замещение экзогенным препаратом, устранение вторичного дефицита собственной продукции сурфактанта. Используется препарат сурфактант БЛ в дозе 75 мг. Ингаляция проводится через небулайзер, встроенный в дыхательный контур на линию вдоха. После ингаляции препарата у новорожденных восстанавливается эффективное самостоятельное дыхание, и у них

lungs. Despite the medication hyaline membranes are rapidly formed in newborns hence the risk of bronchopulmonary dysplasia.

In the case of a severe course of RDSN with high risks of complications and the formation of bronchopulmonary dysplasia, the inhalation of an exogenous surfactant was applied to reduce the duration of artificial ventilation. The treatment is aimed at the temporary replacement with an exogenous preparation and the elimination of the secondary deficit of the own production of the surfactant. The preparation Surfactant-BL is used in a dose of 75 mg. Inhalation is maintained through the nebulizer integrated into the breathing circuit in the inhalation line. After the medication inhalation the newborn's effective independent breathing is restored, and they can be extubated. There following plan of transferring newborns to spontaneous breathing is used: artificial ventilation → auxiliary ventilation of the lungs → positive end-expiratory pressure → extubation. There have been no cases of complications or re-intubation after the inhalation therapy.

Disorders of lipid metabolism (the production of cholesterol and triglycerides, in particular), in newborns is a serious problem in perinatology, as in the early neonatal period the imbalance of lipids in newborns can contribute to the development of respiratory failure. Postnatal restructuring in children born after an unfavorable pregnancy, as well as in preterm infants, causes changes in metabolic rate, including triglycerides and cholesterol, which is of scientific interest to this topic. With the development of perinatal hypoxia a complex metabolic disorder occurs manifested at birth by metabolic acidosis of varying severity and the imbalance of triglycerides and cholesterol. The longer and heavier the hypoxia is, the more pronounced changes in the acid-base composition and blood lactate at birth are. The maximum duration of mechanical ventilation is observed in newborns with extremely unfavorable obstetrical anamnesis, multiple organ failure and low triglyceride levels in the blood.

The research produced new ideas about the mechanism of the RDSN development, the role of surfactants in the treatment of the disease, and the reduction of the duration of artificial ventilation. The new data on perinatal hypoxia and its effects on metabolism and lipid metabolism and the nanostructure of erythrocyte membranes contributed to alterations in the therapeutic tactics in newborns. This, on the whole, enabled the prevention of such complications as intense pneumothorax, intraventricular hemorrhages, and the reduction of neonatal mortality to 0.6%.

For the first time, genetic studies of critical states (V. M. Pisarev, S. V. Smelaya) and new methods for diagnosis and treatment of acute respiratory failure in nosocomial pneumonia have been started at the Institute. New data has been obtained on the

можно экстубировать трахею. Используется схема перевода новорожденных на спонтанное дыхание: ИВЛ→вспомогательная вентиляция легких→создание положительного давления в конце выдоха→экстубация. Случаев осложнений, повторной интубации после проведения ингаляционной терапии не было.

Нарушения липидного обмена, в частности, продукции холестерина (ХС) и триглицеридов (ТГ) у новорожденных является серьезной проблемой перинатологии, т.к. в раннем неонатальном периоде дисбаланс липидов у новорожденных может способствовать развитию дыхательной недостаточности. Постнатальная перестройка у детей, рожденных от неблагоприятно протекавшей беременности, а также у недоношенных новорожденных, вызывает изменения показателей обмена, в том числе триглицеридов и холестерина, что представляет научный интерес к этой теме. При развитии перинатальной гипоксии происходит комплексное нарушение метаболизма, проявляющееся при рождении метаболическим ацидозом различной степени выраженности, дисбалансом триглицеридов и холестерина. Чем длительнее и тяжелее гипоксия, тем больше выражены нарушения кислотно-основного состава и лактата крови при рождении. Максимальная длительность ИВЛ наблюдается у новорожденных с крайне неблагоприятным акушерским анамнезом, полиорганной недостаточностью и низким содержанием триглицеридов в крови.

Проводимые исследования позволили получить новые представления о механизме развития РДСН, роли сурфактантов в лечении заболевания, сокращения длительности ИВЛ. Новые данные о перинатальной гипоксии, ее влиянии на метаболизм и липидный обмен, наноструктуру мембран эритроцитов способствовали изменению лечебной тактики у новорожденных, что, в целом, позволило добиться профилактики таких осложнений, как напряженный пневмоторакс, внутрижелудочковые кровоизлияния, снизить неонатальную смертность до 0,6 %.

Впервые в НИИОР начаты генетические исследования критических состояний (В. М. Писарев, С. В. Смелая) и новых методов диагностики и лечения острой дыхательной недостаточности на фоне нозокомиальной пневмонии. Получены новые данные о ДНК-повреждениях, апоптозе, некрозе клеток крови у больных с тяжелой сочетанной травмой, кровопотерей и нарушениями гемодинамики. Выявлены генотипы предрасположенности к развитию внебольничной и нозокомиальной пневмонии. Выявлено, что сочетание двух и более рисков аллелей в генах *CYP1A1*, *AhR*, *ACE*, *AGT* и *AGTR1* (*CYP1A1* rs2606345-T, *AhR* rs2066853-A, *ACE* rs4340-D, *AGT* rs699-C и *AGTR1* rs5186-C) у одного и того же больного повышает риск развития нозокомиальной пневмо-

DNA damage, apoptosis, and necrosis of blood cells in patients with severe combined trauma, blood loss and hemodynamic disorders. Genotypes of predisposition to the development of community-acquired and nosocomial pneumonia have been identified. It was found that the combination of two or more risk alleles in the genes *CYP1A1*, *AhR*, *ACE*, *AGT* and *AGTR1* (*CYP1A1* rs2606345-T, *AhR* rs2066853-A, *ACE* rs4340-D, *AGT* rs699-C and *AGTR1* rs5186-C) in the same patient increased the risk of nosocomial pneumonia. A number of allelic variants of xenobiotic detoxification genes are associated with a risk of developing ARDS in nosocomial pneumonia: *CYP1A1* rs2606345-T/T, *AhR* rs2066853 G/A-A/A and *AGT* rs699 C/C. With the greatest possible number of risk alleles equal to twelve, an increase in the number of risk alleles to four or more in patients with nosocomial pneumonia is associated with a risk of developing ARDS.

It has been demonstrated that allelic variants of the xenobiotic detoxification gene *GSTP1* A313G are associated with the efficacy of antibiotic therapy when treating community-acquired pneumonia: patients with genotype A/A have better results of the amoxicillin/clavulanate ($P=0.00004$, $OR=2.13$) and levofloxacin ($P=0.003$; $OR=1.73$) therapy; in those with the G-allele in the homo- and heterozygous state the results of the treatment with cephalosporins of the third and fourth generations ($P=0.00010$, $OR=2.08$) are better. The results of the associative study helped to identify a group of people at increased risk of community-acquired pneumonia, to hospitalize patients at early stages of the disease, to implement an individual approach to the prescription of the antibacterial therapy according to genotyping, which contributed to a reduction in the number of cases of the complicated course of the disease from 69.1% to 9.1% and a reduction in the length of hospitalization from 28.7 ± 3.1 to 16.6 ± 1.9 days. It was shown that a progradient increase in the level of pro-inflammatory cytokines in the serum (TNF- α ($P=0.035$), IL-1p ($P=0.00001$) and IL-6 ($P=0.0001$)) is the prognostic marker of the development of critical states (ARDS, sepsis, organ failure).

New molecular biomarkers of ARDS and nosocomial pneumonia have been studied and introduced into clinical practice. It has been proven that the Clara cell protein is a sensitive and specific diagnostic molecular biomarker for the presence of *Pseudomonas aeruginosa* in nosocomial pneumonia in patients with abdominal surgical infection. It was found that the surfactant protein D is a sensitive and specific diagnostic molecular biomarker of damage to the alveolar epithelium of Type II in nosocomial pneumonia complicated by ARDS; the surfactant protein A is a sensitive and specific prognostic molecular biomarker of damage to the alveolar epithelium of Type II in nosocomial pneumonia complicated by ARDS.

нии. Ряд аллельных вариантов генов детоксикации ксенобиотиков сопряжены с риском развития ОРДС при нозокомиальной пневмонии: *CYP1A1* rs2606345-T/T, *AhR* rs2066853 G/A-A/A и *AGT* rs699 C/C. При максимально возможном числе рискованных аллелей равном 12, увеличение количества рискованных аллелей до четырех и более у больных нозокомиальной пневмонией сопряжено с риском развития ОРДС.

Доказано, что аллельные варианты гена детоксикации ксенобиотиков *GSTP1* A313G сопряжены с эффективностью антибактериальной терапии при лечении внебольничной пневмонии: у носителей генотипа A/A лучше результаты лечения амоксициллином/клавуланатом ($p=0,00004$; OR=2,13) и левофлоксацином ($p=0,003$; OR=1,73); у носителей G-аллеля в гомо- и гетерозиготном состоянии лучше результаты лечения цефалоспорином 3–4 генерации ($p=0,00010$; OR=2,08). Результаты ассоциативного исследования позволили выявить группу людей повышенного риска возникновения внебольничной пневмонии; госпитализировать больных на ранних сроках заболевания, осуществить индивидуальный подход к назначению антибактериальной терапии по данным генотипирования, что способствовало уменьшению количества случаев осложненного течения болезни с 69,1 до 9,1% и сокращению длительности госпитализации с $28,7 \pm 3,1$ до $16,6 \pm 1,9$ суток. Показано, что прогностическим маркером развития критических состояний (ОРДС, сепсис, органная недостаточность) является прогredientное увеличение уровня провоспалительных цитокинов в сыворотке крови: TNF- α ($p=0,035$), IL-1 β ($p=0,00001$) и IL-6 ($p=0,0001$).

Изучены и внедрены в клиническую практику новые молекулярные биомаркеры ОРДС и нозокомиальной пневмонии. Доказано, что белок клеток Клара является чувствительным и специфичным диагностическим молекулярным биомаркером наличия *Pseudomonas aeruginosa* при нозокомиальной пневмонии у больных абдоминальной хирургической инфекцией; установлено, что сурфактантный протеин D является чувствительным и специфичным диагностическим молекулярным биомаркером повреждения альвеолярного эпителия II типа при нозокомиальной пневмонии, осложненной ОРДС; сурфактантный протеин A является чувствительным и специфичным прогностическим молекулярным биомаркером повреждения альвеолярного эпителия II типа при нозокомиальной пневмонии, осложненной ОРДС.

Изучены новые методы антибиотикотерапии нозокомиальной пневмонии с использованием ингаляционных антибиотиков (А. Н. Кузовлев). Доказано, что при неэффективности базового режима антибиотикотерапии нозокомиальной пневмонии у больных абдоминальной хирургической

New methods of the antibiotic therapy for nosocomial pneumonia with the use of inhalation antibiotics have been studied (A. N. Kuzovlev). It was proved that in case of the ineffectiveness of the basic regimen of antibiotic therapy in nosocomial pneumonia in patients with abdominal surgical infection caused by multiresistant gram-negative flora, 300 mg of 2 mg/day of inhaled tobramycin should be used as a supplement to systemic antibiotics, which improves the results of treating pneumonia: the frequency of resolution of nosocomial pneumonia increases up to 84% (against 52%, $P=0.0322$).

The neuromorphology of critical states is the main direction of research in the laboratory of cell pathology in critical conditions (A. M. Golubev, M. Sh. Avrushchenko). Neuromorphological research conducted in the RIGR is aimed to study general regularities, individual typological and gender features of the formation of postresuscitative disorders in the morphofunctional state of the nerve cells of the central nervous system, and to develop approaches to pathogenetically substantiated prevention and therapy of posthypoxic encephalopathies.

A complete restoration of the functions of the central nervous system after severe ischemia is one of the most important tasks in resuscitation. In this regard studies of the relationship between changes in brain function and disturbances in its structure, the study of the nature of postresuscitative neurological disorders and the search for possibilities of their prevention and correction have become of great importance. The solution of these problems led to the expediency of creating a new direction in studying the postresuscitative pathology of the organism: the significance of the changes developing in the brain at the level of neuronal populations in the pathogenesis of posthypoxic encephalopathies.

A method of differential morphometric analysis was developed to quantify the intensity and severity of the changes detected. This approach allowed us to establish the dynamics and to determine the stages of postresuscitation reorganization in neuronal populations, to reveal the unequal reactivity of various elements of heterogeneous neuronal populations, to discover the relationship between a population density and a population composition with the rates of neurologic recovery, to establish differences in sensitivity to ischemia of different populations (even within the same brain region) and also to determine the efficacy of various treatment activities. The general patterns of postresuscitative changes in neuronal populations were revealed. It was found that, after cardiac arrest of different duration, the dystrophic and destructive changes in nerve cells are not immediately detected, but appear and develop long-term during the postresuscitation process. The revealed disturbances in the state of neuronal populations can be the basis for the development of latent and delayed

инфекцией, вызванной полирезистентной грамотрицательной флорой, следует в качестве дополнения к системным антибиотикам использовать ингаляционный тобрамицин 300 мг 2 р/сут., что улучшает результаты лечения пневмонии: увеличивает частоту разрешения нозокомиальной пневмонии до 84% (против 52%, $p=0.0322$).

Нейроморфология критических состояний — основное направление научных исследований в лаборатории патологии клетки при критических состояниях (А. М. Голубев, М. Ш. Аврущенко). Нейроморфологические исследования, проводимые в НИИОР, посвящены изучению общих закономерностей, индивидуально-типологических и гендерных особенностей формирования постреанимационных нарушений морфофункционального состояния нервных клеток центральной нервной системы; разработке подходов к патогенетически обоснованной профилактике и терапии постгипоксических энцефалопатий.

Полноценное восстановление функций центральной нервной системы после тяжелой ишемии является одной из важнейших задач реаниматологии. В связи с этим большое значение приобретают исследования взаимосвязи между изменениями функции мозга и нарушениями его структуры, изучение природы постреанимационных неврологических нарушений, поиск возможностей их профилактики и коррекции. Решение этих проблем обусловило целесообразность создания нового направления в изучении постреанимационной патологии организма: значение изменений, развивающихся в мозге на уровне нейрональных популяций, в патогенезе постгипоксических энцефалопатий.

Для количественной оценки глубины и выраженности выявляемых изменений был разработан метод дифференцированного морфометрического анализа. Такой подход позволил установить динамику и определить этапы постреанимационных перестроек нейрональных популяций, выявить неодинаковую реактивность различных элементов гетерогенных нейрональных популяций, обнаружить взаимосвязь плотности распределения и состава популяций с темпами неврологического восстановления, установить отличия в чувствительности к ишемии разных популяций даже в пределах одного отдела мозга, а также определить эффективность различных лечебных мероприятий. Выявлены общие закономерности постреанимационных изменений нейрональных популяций. Обнаружено, что после остановки сердца разной длительности дистрофические и деструктивные изменения нервных клеток обнаруживаются не сразу, а возникают и длительно развиваются в ходе постреанимационного процесса. Выявленные нарушения состояния нейрональных популяций могут быть основой для развития

posthypoxic encephalopathies. The unequal vulnerability of various elements in heterogeneous neuronal populations was shown. The value of the protein synthesis process in the phenomenon of different neuronal reactivity was established.

It was found that the presence of satellite macroglia and an increase in its number is one of the significant factors that determine the stability of neurons to postresuscitative lesions. Postresuscitative changes in the state of the astrocytic glia were revealed: there is a sharp increase in the immunoreactivity of fibrous astrocytes of the brain white matter to the marker of reactive astrocytes (the acidic glial fibrillar protein GFAP) while GFAP-immunoreactive astrocytes appear in the grey matter of the brain. In general, an important role of macroglia in the formation of postresuscitative changes in the brain was established. It was shown that the glia actively reacts to the ischemic effect and contributes to the maintenance of the homeostasis of neuronal populations, with the changes in its condition significantly contributing to the development of the postresuscitation process.

It was revealed that after ischaemia of various duration in animals with the absent external neurological disorders similar unidirectional shifts in density and composition of neuronal populations develop. However, there are the reactions to a longer duration of ischemia are specific, which is manifested in the depth of the detectable shifts, and in the extent to which different elements of neuronal populations are involved in the postresuscitation process. Differences in neuronal populations have been established even within the same brain region in their response to ischemia/reperfusion. The relationship between the selective sensitivity of neuronal populations to ischemia caused by cardiac arrest was shown, with specific reparative changes in the form of an increase in protein synthesis at a certain stage of the postresuscitation process. The revealed differences in the vulnerability of neuronal populations in different parts of the brain appear to be essential for the prognosis and prevention of neurological disorders occurring in the postischemic period.

It has been demonstrated that the severity of the dystrophic changes and death of cells in the postresuscitation period can be prevented and/or reduced with the use of Perfthoranum, mexidol, and succinic acid, as well as by neurophysiological influence (activation of behavior). It was established that a number of neuropeptides and hormones (oxytocin, oxytocin with estradiol, somatostatin, kyotorphin, sandostatin, synthetic peptide TGS-33) once applied immediately after successful cardiopulmonary resuscitation not only improve the state of neuronal populations, but also accelerate the pace of neurologic recovery, reduce postresuscitative lethality and norma-

скрытых и отсроченных постгипоксических энцефалопатий. Показана неодинаковая ранимость различных элементов гетерогенных нейрональных популяций и установлено значение процесса синтеза белка в феномене различной реактивности нейронов.

Обнаружено, что одним из существенных факторов, обуславливающих устойчивость нейронов к постреанимационным повреждениям, является наличие сателлитной макроглии, а также увеличение ее числа. Выявлены постреанимационные изменения состояния астроцитарной глии: резкое увеличение иммунореактивности фиброзных астроцитов белого вещества мозга к маркеру реактивных астроцитов (кислоте глиального фибриллярного белка GFAP) и появление GFAP-иммунореактивных астроцитов в сером веществе мозга. В целом установлена важная роль макроглии в формировании постреанимационных изменений мозга. Показано, что глия, активно реагируя на ишемическое воздействие, способствует поддержанию гомеостаза нейрональных популяций, а изменения ее состояния вносят существенный вклад в развитие постреанимационного процесса.

Выявлено, что после ишемии разной длительности у животных с отсутствием внешних неврологических нарушений развиваются однотипные и однонаправленные сдвиги плотности и состава нейрональных популяций. Однако, существуют особенности реакции на более продолжительную ишемию, которые заключаются в глубине обнаруживаемых сдвигов, в степени вовлечения разных элементов нейрональных популяций в постреанимационный процесс. Установлены отличия нейрональных популяций даже в пределах одного отдела мозга в их реакции на ишемию-реперфузию. Показана взаимосвязь селективной чувствительности нейрональных популяций к ишемии, вызванной остановкой сердца, с особенностями реализации репаративных изменений в виде увеличения синтеза белка на определенном этапе постреанимационного процесса. Выявленные различия в ранимости нейрональных популяций разных отделов мозга представляют существенными для прогнозирования и профилактики возникающих в постишемическом периоде неврологических нарушений.

Доказана возможность предотвратить и/или уменьшить выраженность процессов дистрофического изменения и гибели клеток в постреанимационном периоде при применении перфторана, мексидола, янтарной кислоты, а также путем чисто нейрофизиологического воздействия (активизация поведения). Установлено, что однократное применение сразу после успешной сердечно-легочной реанимации ряда нейропептидов и гормонов (окситоцин, окситоцин с эстрадиолом, соматостатин, китотрофин, сандостатин, синтетиче-

лизировать эмоциональную реактивность животных. Recently we have obtained convincing data on the positive effect of the mitochondrial antioxidant SkQ1 on the structural and functional state of the brain in the postresuscitation period. The efficacy of the nerve growth factor mimetic GK-2 was also shown to prevent the death of neurons and to accelerate the neurological recovery after resuscitation.

Autoradiographic, cytochemical, biochemical and morphometric research (M. Sh. Avrushchenko) previously conducted in the Institute revealed postresuscitative changes in the protein synthesis in nerve cells, both at the level of translation and at the level of transcription. The importance of the protein synthesis in the development of postresuscitation reorganizations of neuronal populations, (as well as in the restoration of brain function after clinical death), has been shown: there is a direct correlation between the rates and completeness of neurological recovery and the intensity of the protein synthesis in the tissues of the cerebral cortex, hippocampus and cerebellum. It was established that the different sensitivity of nerve cells to ischemia/reperfusion is associated with the reactivity of their protein synthesizing system. It was found that in order to fully restore the neurological status it is necessary to raise the level of the protein synthesis in the brain at a certain stage of the postresuscitation process. It was revealed that the activation of the protein synthesis in the postresuscitation period ensures preservation of both the density and composition of neuronal populations, with the development of the prolapse and dystrophic changes of neurons occurring with a decrease in the intensity of protein synthesis. Further studies revealed that the stability of nerve cells to ischemia/reperfusion is due not only to the level of protein synthesis as a whole, but also to the level of expression of specific proteins (endogenous neuroprotective factors). The significance of heat shock proteins HSP70 in postresuscitation period was shown. It was shown that the immunoreactivity of various neuronal populations to the HSP70 protein is associated with the severity of morphological changes in neurons. The value of the initial level in immunoreactivity of neuronal populations to HSP70 in their resistance to ischemia/reperfusion was first shown: a high content of cells expressing the constitutive form of HSP70 in the neuronal population is an important factor in providing its resistance to subsequent ischemia/reperfusion. The value of the glucose-regulated protein GRP78 in postresuscitation process was found. The complex analysis of the results of histological and immunocytochemical studies showed that in the postresuscitation period there are significant changes in the immunoreactivity to the GRP78 protein varying in dynamics and direction in different neuronal populations. It was found that the process of neuronal death in the postresuscitation period is closely

ский пептид ТГС-33) позволяет не только улучшить состояние нейрональных популяций, но и ускорить темпы неврологического восстановления, снизить постреанимационную летальность и нормализовать эмоциональную реактивность животных. В последнее время получены убедительные данные о положительном воздействии на структурно-функциональное состояние мозга в постреанимационном периоде митохондриально-направленного антиоксиданта SkQ1. Показана также эффективность миметика фактора роста нервов ГК-2 для предупреждения гибели нейронов и ускорения неврологического восстановления после реанимации.

Проведенные в НИИОР ранее автордиографические, цитохимические, биохимические и морфометрические исследования (М. Ш. Аврущенко) позволили выявить постреанимационные изменения процесса синтеза белка в нервных клетках, как на уровне трансляции, так и на уровне транскрипции. Показано значение процесса синтеза белка в развитии постреанимационных перестроек нейрональных популяций, а также в восстановлении функции мозга после клинической смерти, выявлена прямая взаимосвязь темпов и полноты неврологического восстановления с интенсивностью синтеза белка в ткани коры больших полушарий, гиппокампа и мозжечка. Установлено, что различная чувствительность нервных клеток к ишемии-реперфузии связаны с реактивностью их белоксинтезирующей системы. Обнаружено, что для полноценного восстановления неврологического статуса необходим подъем уровня синтеза белка в мозге на определенном этапе постреанимационного процесса. Выявлено, что в постреанимационном периоде активация синтеза белка обеспечивает сохранение плотности и состава нейрональных популяций, а развитие процессов выпадения и дистрофического изменения нейронов происходит на фоне снижения интенсивности синтеза белка. Дальнейшие исследования позволили обнаружить, что устойчивость нервных клеток к ишемии-реперфузии обусловлена не только уровнем синтеза белка в целом, но также и уровнем экспрессии конкретных белков — эндогенных нейропротективных факторов. Показано значение белков теплового шока HSP70 в развитии постреанимационного процесса. Выявлена взаимосвязь иммунореактивности различных нейрональных популяций к белку HSP70 с выраженностью морфологических изменений нейронов, впервые показано значение исходного уровня иммунореактивности нейрональных популяций к HSP70 в их устойчивости к ишемии-реперфузии: высокое содержание в нейрональной популяции клеток, экспрессирующих конститутивную форму HSP70, является важным фактором обеспечения ее устойчивости к последующей ишемии-реперфузии. Установлено

related to changes in the immunoreactivity of neuronal populations to the GRP78 protein. Nerve cell proliferation always occurs with a decrease in the immunoreactivity of the population, with immunomodulatory neurons dying. Therefore, the immunoreactivity to GRP78 is one of the important factors ensuring the stability of nerve cells to death after ischemia/reperfusion.

Recently other endogenous neuroprotective factors have been studied that play an important role in maintaining neuronal resistance to ischemia/reperfusion. Thus, histological and immunocytochemical studies in reanimated patients revealed postresuscitant changes in the expression level of the Glial Neurotrophic Factor (GDNF) and the main growth factor of fibroblasts bFGF. It was shown that the death of nerve cells can be prevented with an initial increase in the expression level of GDNF and bFGF in neuronal populations. The subsequent decrease in the expression level of these factors is accompanied by loss (death) of neurons. In this case GDNF-negative cells and bFGF-negative cells die (that is, neurons that do not express these proteins). The changes in the expression levels of GDNF and bFGF are associated with the development of the process of neuronal death in the postresuscitation period. It was shown that the expression levels of these proteins are an important factor affecting the stability of neurons in the postresuscitation period. This leads to the promise of using GDNF and bFGF to develop approaches to brain protection in ischemia/reperfusion.

New data on the significance of the expression level of the cerebral neurotrophic factor (BDNF) in the postresuscitation process was obtained at the Institute. The dynamics of postresuscitation shifts of the BDNF immunoreactivity in neuronal populations of pyramidal hippocampal cells and Purkinje cells of the cerebellum was established. It was shown that in both neuronal populations the level of the BDNF expression decreases, which is accompanied by the death of neurons, to which only BDNF-negative and weak-positive nerve cells are exposed, i.e. neurons that do not express or hardly express this protein. The results of the research indicate the shifts in the BDNF expression are associated with the postresuscitative destruction of neurons. Therefore the level of the BDNF expression in neurons is one of the factors that have a significant effect on their resistance to ischemia/reperfusion.

It is proved that the individual and typological parameters of the organism play an important role in the development of the postresuscitation process (Yu. V. Zarzhetsky). We found that there are differences in the severity of the postresuscitative brain damage associated with the behavioral activity of animals. It turned out that morphological brain damage is al-

значение в постреанимационном процессе глюкозо-регулируемого белка GRP78. Комплексный анализ результатов гистологических и иммуноцитохимических исследований показал, что в постреанимационном периоде происходят существенные изменения иммунореактивности к белку GRP78, неодинаковые по динамике и направлению в разных нейрональных популяциях. Установлено, что процесс гибели нейронов в постреанимационном периоде тесно взаимосвязан с изменениями иммунореактивности нейрональных популяций к белку GRP78. Выпадение нервных клеток всегда происходит на фоне сниженной иммунореактивности популяции, и при этом гибели подвергаются иммуноотрицательные нейроны. Следовательно, наличие иммунореактивности к GRP78 является одним из важных факторов, обеспечивающих устойчивость нервных клеток к гибели после ишемии-реперфузии.

В последнее время были исследованы и другие эндогенные нейропротективные факторы, играющие важную роль в поддержании устойчивости нейронов к ишемии реперфузии. Так, с помощью гистологических и иммуноцитохимических исследований у реанимированных нами были выявлены постреанимационные изменения уровня экспрессии глиального нейротрофического фактора (GDNF) и основного фактора роста фибробластов bFGF. Показано, что первоначальный подъем уровня экспрессии GDNF и bFGF в нейрональных популяциях позволяет предупредить гибель нервных клеток. Последующее уменьшение уровня экспрессии этих факторов сопровождается выпадением (гибелью) нейронов. При этом гибели подвергаются GDNF-отрицательные клетки и bFGF-отрицательные клетки, т.е. нейроны, неэкспрессирующие эти белки. Выявлена взаимосвязь между изменениями уровня экспрессии GDNF и bFGF и развитием процесса гибели нейронов в постреанимационном периоде. Показано, что уровень экспрессии этих белков является важным фактором, влияющим на устойчивость нейронов в постреанимационном периоде. Это обуславливает перспективность применения GDNF и bFGF для разработки подходов к защите мозга при ишемии-реперфузии.

В НИИОР были получены новые данные о значении уровня экспрессии мозгового нейротрофического фактора (BDNF) в развитии постреанимационного процесса. Установлена динамика постреанимационных сдвигов BDNF-иммунореактивности нейрональных популяций пирамидных клеток гиппокампа и клеток Пуркинье мозжечка. Показано, что в обеих нейрональных популяциях происходит снижение уровня экспрессии BDNF, что сопровождается гибелью нейронов, которой подвергаются только BDNF-нега-

ways more pronounced in «active» animals compared to that of «passive» ones. Similar differences were found in animals with different learning abilities. Morphometric and cytochemical studies have shown that in rats with different learning abilities the differences in the resistance of neurons to ischemia are associated with the specifics of their protein metabolism. It is interesting that the neuroprotective properties of proteins of the HSP70 family are also manifested in different ways depending on the individual and typological features of the organism.

Recently the issue of the sexual dimorphism of development, course and outcome of critical states is of great interest. Gender differences in the severity and topography of postresuscitative brain damage were found. This gave grounds to believe that sex may influence the efficacy of therapy aimed at preventing and/or mitigating brain damage after ischemia/reperfusion. Indeed, we have found that some pharmacological effects contribute to the prevention of post-resuscitation death of neurons, but their effectiveness varies depending on the sex of an organism. Differences in the dynamics and direction of postresuscitative shifts in the immunoreactivity to the GRP78 protein (as well as in the realization of its neuroprotective properties) associated with sex were also revealed.

The main topics of the laboratory of molecular mechanisms of critical illness (V. M. Pisarev) include: a) research of the role of genetic polymorphism in cytoprotection factors and innate immunity in the development of life-threatening critical conditions (severe sepsis, septic shock, pulmonary edema with sepsis, multiple organ failure); b) the detection of new cellular and molecular mechanisms in the state of immunosuppression developing in sepsis; c) search and validation of informative candidate molecular biomarkers for the prognosis and diagnosis of life-threatening critical conditions (sepsis, severe nosocomial pneumonia and acute respiratory distress syndrome). During the joint studies in a group of patients with septic shock with a developed bacteriologically confirmed infection in the lungs, the homozygous variant (genotype GG of the transcription factor NRF2 177238501 A>G (rs6726395)) was found to be associated with the development of resistance to the treatment of pulmonary edema, the increased 28-day mortality of patients and higher values of the severity of the condition assessed by the APACHE II scale. These facts can be explained by the fact that the protein factor NRF2 is not only a master regulator of the expression of the antioxidant cell defense genes, but it is also an antagonist of the key proinflammatory regulator (the transcription factor NFkB). Therefore, with an increased level of NRF2 expression typical for genotype GG rs6726395 NRF2, the production of the NFkB factor controlling antibacterial reac-

тивные и слабопозитивные нервные клетки, т.е. неэкспрессирующие или слабоэкспрессирующие этот белок нейроны. Результаты проведенных исследований свидетельствуют о наличии взаимосвязи между сдвигами экспрессии BDNF и постреанимационной гибелью нейронов. Следовательно, уровень экспрессии BDNF в нейронах является одним из факторов, оказывающих существенное влияние на их устойчивость к ишемии-реперфузии.

Доказано, что важную роль в развитии постреанимационного процесса играют индивидуально-типологические особенности организма (Ю. В. Заржецкий). Установлено, что существуют различия в выраженности постреанимационного повреждения мозга, связанные с поведенческой активностью животных. Оказалось, что у «активных» животных морфологические повреждения мозга всегда выражены сильнее, чем у «пассивных». Аналогичные отличия выявлены и у животных с различной способностью к обучению. Морфометрические и цитохимические исследования показали, что у крыс с различной способностью к обучению отличия в устойчивости нейронов к ишемии связаны с особенностями их белкового метаболизма. Интересно, что в зависимости от индивидуально-типологических особенностей организма по-разному реализуются и нейропротективные свойства белков семейства HSP70.

В последнее время большой интерес вызывает проблема полового диморфизма развития, течения и исхода критических состояний. Обнаружены гендерные различия в выраженности и топографии постреанимационного повреждения мозга. Это дало основание полагать, что половая принадлежность должна, вероятно, влиять и на эффективность терапии, направленной на предупреждение и/или смягчение повреждений мозга после ишемии — реперфузии. Действительно, нами установлено, что некоторые фармакологические воздействия способствуют предупреждению постреанимационной гибели нейронов, однако их эффективность различна в зависимости от половой принадлежности организма. Выявлены также половые особенности в динамике и направлении постреанимационных сдвигов иммунореактивности к белку GRP78, а также в реализации его нейропротективных свойств.

Основная тематика Лаборатории молекулярных механизмов критических состояний (В. М. Писарев) включает: а) исследование роли генетического полиморфизма факторов цитопroteкции и врожденного иммунитета в развитии угрожающих жизни критических состояний (тяжелый сепсис, септический шок, устойчивый к лечению отек легких при сепсисе, полиорганная недостаточность); б) выявление новых клеточных и молекулярных механизмов состояния иммуносупрессии, развивающегося при сепсисе; в) поиск

tions of innate immunity and production of reactive oxygen species (ROS) by cells of innate immunity (neutrophils, macrophages, and dendritic cells) may be reduced. In this case the bacterial load may increase, which will result in an increase in the content of toxic products of bacteria (endotoxins), endothelial damage, the development of severe manifestations of multiple organ failure, and septic shock. These assumptions were indirectly confirmed in further studies of the laboratory that determined in patients both the genotype rs6726395 NRF2 and polymorphic variants of the DNA receptor gene rich in repeats of cytosine-guanosine-TLR9, the latter triggering NFkB-dependent pro-inflammatory reactions of innate immunity. It was found that septic shock and nosocomial pneumonia developed in patients with the combination of the NRF2 (rs6726395) GG and TLR9 (rs352162) CC genotypes (the mutation in the promoter zone of the gene determining an increased level of synthesis of the extracellular DNA receptor product). The data suggests that the genetic variant of TLR9 52218953T>C (rs352162) CC had a significant protective potential even in the presence of the genetic variant NRF2 177238501A>G (rs6726395) GG, which is a risk factor for adverse course and outcome of a critical condition in patients with septic shock.

In subsequent laboratory studies new data was obtained on the significance of allelic variants of the intron site rs3736309 of the aquaporin AQP5 gene in the efficacy of treating pulmonary edema in patients with septic shock. Thus, for the first time the informative value of the allele variant rs3736309 of AQP5 gene was demonstrated as a candidate predictive marker of lung edema resistance to treatment in patients with septic shock. For example the carriers of the genotype A/A rs3736309 AQP5 were more susceptible to treatment of pulmonary edema as compared to other genotypes (G/G and G/A). Interestingly, in the heaviest subgroup of patients (with septic shock) it was the more prognostically favorable genotype A/A that was associated with a reduced content of the circulating surfactant lung protein (SP-D) in the circulation, whose concentration increase in the circulation corresponds to a more pronounced pulmonary involvement tissue.

The results of the laboratory studies substantiated the role of polymorphic variants of the genes of cytoprotection and innate immunity (NRF2, TLR9 b AQP5) as candidate prognostic markers of unfavourable outcomes in patients of resuscitation departments. The data obtained contributes to an understanding of the development mechanisms of deadly complications of critical conditions in patients with bacterial infection so that genetically polymorphic variants of NRF2, TLR9 and AQP5 may be considered as candidate prognostic biomarkers.

и валидация информативности кандидатных молекулярных биомаркеров прогноза и диагностики жизнеугрожающих критических состояний — сепсиса, тяжелой нозокомиальной пневмонии и острого респираторного дистресс-синдрома.

В ходе совместных исследований в группе пациентов септическим шоком на фоне развившегося, бактериологически подтвержденного инфекционного процесса в легких была впервые обнаружена выраженная ассоциация гомозиготного варианта — генотипа GG транскрипционного фактора NRF2 177238501 A>G (rs6726395) и развития устойчивости к лечению отека легких, повышенной 28-дневной летальности пациентов и более высоких значений тяжести состояния, оцениваемого по шкале APACHE II. Данные факты можно объяснить тем, что белковый фактор NRF2, является не только мастер-регулятором экспрессии генов противоокислительной защиты клетки, но и антагонистом ключевого провоспалительного регулятора — транскрипционного фактора NFκB. Поэтому при повышенном уровне экспрессии NRF2, характерной для генотипа GG rs6726395 NRF2, может быть снижена и продукция фактора NFκB, контролирующего антибактериальные реакции врожденного иммунитета, и продукция активных форм кислорода (АФК) клетками врожденного иммунитета — нейтрофилами, макрофагами, дендритными клетками. В этом случае может увеличиться бактериальная нагрузка, что приведет к повышению содержания токсических продуктов бактерий — эндотоксинов, поражению эндотелия, развитию тяжелых проявлений полиорганной недостаточности, септического шока. Косвенное подтверждение эти предположения получили в дальнейших исследованиях лаборатории, в ходе которых у пациентов определяли и генотип rs6726395 NRF2, и полиморфные варианты гена рецептора ДНК, богатой повторами цитозин-гуанозина — TLR9, запускающего NFκB-зависимые провоспалительные реакции врожденного иммунитета. Обнаружили, что именно у пациентов — носителей комбинации генотипов NRF2 (rs6726395) GG и TLR9 (rs352162) CC (мутация в промоторной зоне гена, определяет повышенный уровень синтеза продукта — рецептора внеклеточной ДНК) реже развивались септический шок и нозокомиальная пневмония. Данные свидетельствовали о том, что генетический вариант TLR9 52218953T>C (rs352162) CC обладал значительным защитным потенциалом даже при наличии генетического варианта NRF2 177238501A>G (rs6726395) GG, являющегося фактором риска неблагоприятных течения и исхода критического состояния у пациентов с септическим шоком.

В последующих исследованиях лаборатории были получены новые данные о значении аллельных вариантов интронного сайта rs3736309 гена

Another area of research in the laboratory is the study of the cellular and molecular grounds for immunological failure in patients with infectious complications at intensive care units. These studies were a continuation of earlier research conducted by the head of the laboratory in oncoimmunology that revealed new mechanisms of immunosuppression performed by a specific population of regulatory cells of the immune system: myeloid immunosuppressive cells (MICs). It was shown in foreign experimental and individual clinical studies that, as in cancer, in the case of infectious diseases there are granulocyte and monocyte subpopulations with a phenotype of MIC (gran-MIC and mono-MIC, respectively) appearing in the circulating blood. In 2013–2014 the laboratory staff showed that in patients with severe sepsis and septic shock sepsis in the blood there are gran-MIC and mono-MIC, while the former significantly prevail over the second ($P<0.001$). The content of gran-MICs (granulocytes of low density of the phenotype CD33⁺, CD15⁺ and HLA-DR⁻) was several times higher in patients with severe sepsis and septic shock compared to patients with no signs of sepsis (in the Sepsis-3 classification, i.e. without signs and infection and multi-organ failure) and conditionally healthy donors ($P<0.001$). At the same time, the increased accumulation of mono-MICs (cells of the phenotype CD33⁺, CD14⁺ and HLA-DR⁻) in circulation was associated with an unfavourable outcome of sepsis. For the first time it was found that the MIC content did not depend on the belonging of bacteria isolated from the patients' bio-samples to gram (+) or gram (-) types ($P>0.05$). A study of the functional activity of MICs showed that only 5–10% of affinity isolated MICs in patients significantly reduced the proliferative response of allogeneic human mononuclear cells to the T-cell mitogen-ConA estimated by the incorporation of tritium-labeled thymidine. Further studies using cellular models of various suppressor cells of a human myeloid (immature dendritic cells, macrophages M2) showed that only some non-proliferating (dormant or persistent) forms of opportunistic pathogenic bacteria (OPB) of *E. coli* and *P. aeruginosa* (the main antibiotic-resistant pathogens of intrahospital urogenital and abdominal infections) are capable of inducing the expression of the key enzyme MIC-arginase I in MICs. It is the increased MIC production of this enzyme that is associated with the absence of the amino acid arginine in the MIC microenvironment and, as a consequence, the functional activity of immunocompetent cells impaired with the development of immunosuppression. Immunological insufficiency, which develops during sepsis, leads to a slowing down of the removal of bacteria from the body, an increase in the content of bacterial endotoxins disrupting the endothelial function of cells and aggravating mul-

аквапорина AQP5 в эффективности лечения отека легких у пациентов с септическим шоком. Тем самым впервые продемонстрирована информативность аллельного варианта rs3736309 гена AQP5 как кандидатного предиктивного маркера устойчивости отека легких пациентов с септическим шоком к лечению. Так, носители генотипа A/A rs3736309 AQP5 были более восприимчивы к лечению отека легких ассоциации в сравнении с другими генотипами (G/G и G/A). Интересно, что в наиболее тяжелой подгруппе пациентов — у больных с септическим шоком — именно прогностически более благоприятный генотип A/A был ассоциирован с пониженным содержанием в кровотоке циркулирующего сурфактантного белка легких — SP-D), увеличение концентрации которого в циркуляции соответствует более выраженному поражению легочной ткани.

Результаты проведенных исследований лаборатории обосновали роль полиморфных вариантов генов цитопротекции и врожденного иммунитета — NRF2, TLR9 и AQP5 как кандидатных прогностических маркеров неблагоприятных исходов пациентов отделений реаниматологии. Полученные данные вносят вклад в понимание механизмов развития смертельно опасных осложнений критических состояний у больных с бактериальной инфекцией и позволяют рассматривать генетически полиморфные варианты NRF2, TLR9 и AQP5 как кандидатные прогностические биомаркеры.

Еще одно направление исследований лаборатории — изучение клеточных и молекулярных основ иммунологической недостаточности у пациентов реаниматологического профиля с инфекционными осложнениями. Эти исследования явились продолжением более ранних исследований руководителя лаборатории в области онкоиммунологии, в ходе которых были охарактеризованы новые механизмы иммуносупрессии, осуществляемой специфической популяцией регуляторных клеток иммунной системы — миелоидными иммуносупрессорными клетками (МИК). В зарубежных экспериментальных и единичных клинических исследованиях было показано, что как и при раке, при инфекционных заболеваниях в циркулирующей крови появляются гранулоцитарные и моноцитарные субпопуляции с фенотипом МИК (гран-МИК и моно-МИК, соответственно). В 2013–2014 гг. сотрудниками лаборатории было показано, что у больных тяжелым сепсисом и септическим шоком сепсисом в крови появляются гран-МИК и моно-МИК, при этом первые значительно преобладают над вторыми ($p < 0,001$). Содержание гран-МИК (гранулоциты низкой плотности фенотипа CD33⁺, CD15⁺, HLA-DR⁻) оказалось в несколько раз выше у больных с тяжелым сепсисом и септическим шоком, по сравнению с больными без признаков сепсиса (в классифика-

multiple organ failure in sepsis. The research also showed that it is the dormant (persistent) forms of opportunistic bacteria that significantly lose the ability to activate the expression of the proinflammatory molecule genes NFkB and IL12 in immunocompetent human cells and gain an increased ability to stimulate the key pathway of immunosuppression in the MIC-activation of the arginase I gene. Limited clinical studies of bio-samples obtained from immunocompromised patients of different profiles demonstrated significant differences in the content of persistent bacterial cells, i.e. bacteria that are temporarily not proliferating and therefore tolerant to antibiotics. More than a quarter of the randomly selected strains of the most common OPB *E. coli* and *P. aeruginosa* obtained from patients with oncohematological diseases in a clinical hospital, showed persistent bacteria that were capable of proliferation after a change of environment. Interestingly, massive antibiotic therapy (according to medical indices, at least five courses, in addition to the antibiotic therapy protocol) led to a much greater accumulation of highly performing strains in the samples than conventional antibiotic therapy. The results obtained by the laboratory relate antibiotic tolerance, the massiveness of antibioticoterapia, and the accumulation of temporarily non-infiltrating dormant forms of persistent bacteria with the activation of immunosuppressive MIC mechanisms that are intensively generated in sepsis.

Using the obtained data the laboratory developed an original concept of the development of immunosuppression in sepsis, according to which the accumulation of persistent forms of OPB during antibiotic therapy promotes the generation and/or activation of MICs that suppress antibacterial immunity and determine the duration of the infectious process. At the same time, persisters and MICs act as new potential targets, which, being affected, may cause an increase in the efficacy of modern methods of treating patients in intensive care units.

In the laboratory of metabolism in critical states (N. V. Beloborodova):

- The involvement of microbial metabolites in the pathogenesis of sepsis was proved
- The expediency of fundamental studies of the connection between the metabolites of microbiota and the central organs of homeostasis regulation was substantiated
- The role of metabolites in the development of organ dysfunctions was revealed
- The metabolic activity of pure cultures of anaerobic and opportunistic aerobic microorganisms *in vitro* was studied
- Normal levels of phenylcarbonic acids in the serum of healthy people were established, their microbial origin was shown

ции Sepsis-3, т.е. без признаков и инфекции, и полиорганной недостаточности) и условно-здоровыми донорами ($p < 0,001$). При этом повышенное накопление моно-МИК (клетки фенотипа CD33⁺, CD14⁺, HLA-DR⁻) в циркуляции ассоциировалось с неблагоприятным исходом сепсиса. Впервые было установлено, что содержание МИК не зависело от принадлежности выделенных из биообразцов пациентов бактерий к грамм(+) или грамм(-) типам ($p > 0,05$). Изучение функциональной активности МИК показало, всего 5–10% аффинно выделенных МИК пациентов значительно снижало пролиферативный ответ аллогенных мононуклеаров крови человека на Т-клеточный митоген — ConA, оцениваемый по включению тритий-меченного тимидина. Дальнейшие исследования с использованием клеточных моделей различных супрессорных клеток человека миелоидного происхождения (незрелые дендритные клетки, макрофаги M2) показали, что только лишь некоторые, не пролиферирующие (дормантные, или персистерные) формы условно-патогенных бактерий (УПБ) *E. coli* и *P. aeruginosa* — основных устойчивых к антибиотикам возбудителей внутрибольничных урогенитальных и абдоминальных инфекций, способны индуцировать в МИК экспрессию гена ключевого фермента МИК — аргиназы I. Именно с повышенной продукцией МИК этого фермента связывают отсутствие аминокислоты аргинина в микроокружении МИК и, как следствие — нарушение функциональной активности иммунокомпетентных клеток с развитием иммуносупрессии. Иммунологическая недостаточность, развивающаяся в ходе сепсиса, приводит к замедлению удаления бактерий из организма, повышению содержания бактериальных эндотоксинов, нарушающих функции эндотелия клеток и усугубляющих полиорганную недостаточность при сепсисе. В ходе исследований было также обнаружено, что именно дормантные (персистерные) формы условно-патогенных бактерий значительно теряют способность активировать в иммунокомпетентных клетках человека экспрессию генов провоспалительных молекул — NFκB, IL12, приобретая повышенную способность стимулировать ключевой путь иммуносупрессии в МИК — активацию гена аргиназы I. В ограниченных клинических исследованиях биообразцов, полученных от иммунокомпрометированных пациентов разного профиля, были обнаружены существенные различия по содержанию персистерных бактериальных клеток, т.е. бактерий, временно не пролиферирующих и поэтому толерантных к антибиотикам. Более чем в четверти случайно отобранных штаммов наиболее распространенных УПБ *E. coli* и *P. aeruginosa*, полученных от пациентов с онкогематологическими заболеваниями в условиях клинического стационара

• In resuscitated patients sepsis-associated metabolites with higher prognostic significance than previously known markers and severity scales were identified, hence they were recommended for the diagnosis and monitoring of septic conditions

• Data on the ability of phenolic metabolites (products of microbial biodegradation of tyrosine and phenylalanine) to influence the functions of mitochondria in sepsis was obtained

• The ability of the microbiota to affect the metabolism of aromatic amino acids and the synthesis of catecholamines is revealed, which is extremely important for the development of new methods for the prevention and treatment of septic shock.

Over the past 7 years, seven patents for developed new technologies were received: «Method of laboratory diagnosis of sepsis», 2011; «Method of laboratory evaluation of the efficacy of treating intoxication in resuscitators», 2014; «Method of laboratory diagnosis of septic encephalopathy in newborns with perinatal hypoxic lesions of the central nervous system», 2014; «Method of laboratory evaluation of antibacterial therapy effectiveness», 2015; «Method for evaluating the efficacy of dialysis filtration blood purification», 2015; «Method for assessing the readiness of the wound surface for plastic closure», 2017; «Method for assessing the severity of the condition and the risk of death in patients by the level of phenyl-lactic acid in the blood», 2017.

In the laboratory of biophysics of cell membranes in critical conditions (A. M. Chernysh) an original method of atomic force microscopy is used to study erythrocyte membranes in patients in critical states. The first difficulty encountered by the laboratory of biophysics of cell membranes in critical conditions was the interpretation of nanoimages in the field of an atomic force microscope (AFM). This remains to be one of the most difficult tasks in world practice. We developed a method for decomposing the nanosurface of membranes using the spatial Fourier expansion. This method allows you to interpret the resulting nanoimages in physiological terms as follows: the first order displays membrane flickering; the second order contains information about the state of the spectra matrix; changes in the third order correspond to changes in the characteristics of protein molecules and/or protein clusters, as well as to changes in the bonds of the spectra matrix during its destruction.

A series of studies on the effect of modifiers of various physico-chemical nature on erythrocyte membranes has been carried out in the laboratory. Verapamil, furosemide, chemical agents (hemin, NaNO₂), Ca²⁺ salts, ions of heavy metals, ionizing radiation were studied. The purpose of the study was to determine the degree of influence of these agents on the membrane of the blood cells and, most importantly, the corrective effect caused by Perftoranum after membrane modification. Membrane modifiers

нара, встречались бактерии-персистеры, которые были способны к пролиферации после смены среды. Интересно, что массивная антибиотикотерапия (по медицинским показателям, не менее 5 курсов, в дополнение к протоколу антибиотикотерапии) приводила к значительно большему накоплению высокоперистерирующих штаммов в образцах, чем обычная антибиотикотерапия. Результаты, полученные лабораторией, связывают антибиотикотолерантность, массивность антибиотикотенрапии и накопление временно непрофилирующей, дормантной формы бактерий — персистеров, с активацией иммуносупрессорных механизмов МИК, усиленно генерирующихся при сепсисе.

На основании полученных данных в лаборатории разработана оригинальная концепция развития иммуносупрессии при сепсисе, согласно которой накопление персистерных форм УПБ в ходе антибиотикотерапии способствует генерации и/или активации МИК, подавляющих антибактериальный иммунитет и определяющих длительность течения инфекционного процесса. При этом персистеры и МИК выступают как новые потенциальные мишени, воздействуя на которые можно добиться повышения эффективности современных методов лечения пациентов реаниматологического профиля.

В лаборатории метаболизма при критических состояниях (Н. В. Белобородова):

- доказано участие микробных метаболитов в патогенезе сепсиса;
- обоснована целесообразность фундаментальных исследований связи метаболитов микробиоты с центральными органами регуляции гомеостаза;
- выявлена роль метаболитов в развитии органных дисфункций;
- исследована метаболическая активность чистых культур анаэробных и условно-патогенных аэробных микроорганизмов *in vitro*;
- методами газовой хроматографии с плазменно-ионизационным (ГХ-ПИД) и масс-селективным детекторами (ГХ-МС) установлены нормальные уровни фенолкарбоновых кислот в сыворотке крови здоровых людей, доказано их микробное происхождение;
- у реанимационных больных выявлены сепсис-ассоциированные метаболиты, обладающие более высокой прогностической значимостью, чем известные ранее маркеры и шкалы оценки тяжести, что позволило рекомендовать их для диагностики и мониторинга септических состояний;
- получены данные о способности фенольных метаболитов — продуктов микробной биодеградации тирозина и фенилаланина — влиять на функции митохондрий при сепсисе;

disrupted the nanostructure of red blood cells and changed their shape. Hemin on the surface of erythrocytes in 90% of cases formed characteristic domains in the form of a group of grains with characteristic dimensions ($L_2\ 140\pm60\ \text{nm}$ and $h_2\ 12.1\pm4.2\ \text{nm}$). Such domains were formed as a result of modifying the cells of the spectra matrix with the parameter h_2 increasing by a factor of 6. The action of NaNO_2 caused changes in the parameters of h_2 and h_3 , which could be explained by the oxidation of the lipid bilayer. Only 28% of the discocytes remained in the sample, the remaining cells were echinocytes 11%, dentites 55%, and flat red blood cells. CaCl_2 formed 80% of echinocytes (20% of discocytes) and significantly changed the rigidity of the membrane. Furosemide caused typical concentric structures in 90% of the observed cells with a period of 80–200 nm on the surface. In this case, the ratio of h parameters on the free parts of the membrane did not change. Verapamil caused topographic defects in the form of deep depressions with a characteristic size of 500–1000 nm. The ratio of h parameters on the free parts of the membrane did not change. It was shown that Perftoranum almost completely restored the nanostructure of membranes for all the above agents.

The formation of grain domains on the surface of membranes under the action of hemin was of particular interest. It was the first time such formations have been shown. The influence of hemin on the spectrin and the protein of the 4.1 band has been studied. Protein 4.1R is a multifunctional component of the red cell membrane. It forms a complex with actin and spectrin, which determines the nodal transitions of the membrane-skeletal network. Due to the damage shown the membrane together with the protein complex 4.1 is locally dropped, while the anchorin complexes remain on the surface. Therefore, granular topological defects appear on the membrane surface. They are shown in the form of red peaks of grains in the image. According to this mechanism the distance between the grains should be about 200 nm, which was observed in the experiments. This phenomenon was called «internal vesiculation».

The organoprotective properties of Sevoflurane (an inhalation anesthetic) (V. V. Likhvantsev) have been proved in the RIGR in the experiment and clinical practice. In the experiment it was proved that the inhalation of sevoflurane at a dose of 2 MAC results in an increase in the phospho-GSK- 3β content by 200% in brain homogenates and by 160% in the rat myocardial homogenate. The administration of Propofol Lipuro at a dose of 5 mg/kg 15 minutes prior to the modeling of anesthetic preconditioning (APC) completely eliminates the specified effect of sevoflurane. The reversion of the APC block occurs 40 minutes after the administration of Propofol.

Sevoflurane also exhibits the effects of anesthetic preconditioning: in the modeling of clinical death

- выявлена способность микробиоты влиять на метаболизм ароматических аминокислот и синтез катехоламинов, что крайне важно для разработки новых методов профилактики и лечения септического шока.

За последние 7 лет получено 7 патентов на разработанные новые технологии: «Способ лабораторной диагностики сепсиса», 2011; «Способ лабораторной оценки эффективности лечения интоксикации у реаниматологических больных», 2014; «Способ лабораторной диагностики септической энцефалопатии у новорожденных с перинатальным гипоксическим поражением ЦНС», 2014; «Способ лабораторной оценки эффективности антибактериальной терапии», 2015; «Способ оценки эффективности диализно-фильтрационной очистки крови» 2015; «Способ оценки готовности раневой поверхности к пластическому закрытию», 2017; «Способ оценки тяжести состояния и риска летального исхода больных по уровню фенилмолочной кислоты в крови» 2017.

В лаборатории биофизики мембран при критических состояниях (А. М. Черныш) используется оригинальная методика атомной силовой микроскопии для изучения мембран эритроцитов у пациентов в критических состояниях. Первая трудность, с которой столкнулся коллектив лаборатории биофизики мембран клеток при критических состояниях — интерпретация наноизображений в поле атомного силового микроскопа (АСМ). Это и до сих пор одна из трудно решаемых задач в мировой практике. Мы разработали метод разложения наноповерхности мембран с помощью пространственного разложения Фурье. Этот метод позволяет интерпретировать полученный наноизображения в физиологических терминах следующим образом: первый порядок — отображает мембранный flickering. Второй порядок — несет информацию о состоянии спектринового матрикса. Изменения третьего порядка — соответствуют изменениям характеристик белковых молекул и/или белковых кластеров, а также изменениям связей спектринового матрикса при его деструкции.

Затем в лаборатории был проведен цикл работ по изучению действия модификаторов различной физико-химической природы на мембраны эритроцитов. Исследовались лекарственные препараты — верапамил, фуросемид, химические агенты — гемин, NaNO_2 , соли Ca^{2+} , ионы тяжелых металлов, ионизирующие излучения. Цель исследования — определить степень влияния данных агентов на мембраны клеток крови и, главное, какое корректирующее действие вызывает перфторан после модификации мембран. Модификаторы мембран нарушали наноструктуру красных клеток крови и изменяли их форму. Гемин на поверхности эритроцитов в 90 % случаев образовывал характерные домены в виде группы зерен с

anesthetic preconditioning with sevoflurane enables an increase of the «survival rate» of the neurons in the cerebellum Purkinje fibers by 8.8%, the pyramidal neurons of the CA1 hippocampal field by 25.3% and the CA4 of the hippocampal field by 14.2%.

The clinical study showed that in the general population of patients the choice of the anesthetic method did not affect the incidence of myocardial ischemia episodes, increased levels of troponin T; hospital and mortality rates per year. In patients with cerebrovascular insufficiency the inhalation anesthesia with sevoflurane reduces the risk of postoperative delirium. In a subgroup of patients with a high risk of developing cardiac complications, patients with sevoflurane inhalation anesthesia showed perioperative ischemia 1.9-fold less frequently and the transient elevation of troponin T in the postoperative period 2.3 times less frequently than in the group of patients with total intravenous anesthesia applied. There was no effect of an anesthetic method on the frequency of perioperative complications studied and the mortality revealed.

It has been proved that in surgical correction of coronary blood flow in patients with various forms of coronary heart disease (CHD) the option of inhaled anesthesia with sevoflurane (up to 1.2 MAC) with an increase in the analgesic component of fentanyl should be considered as the most acceptable. This technique is the most universal for the vast majority of clinical situations. Epidural anesthesia in cardiosurgery has a number of limitations. This method should not be applied with the lesion of the left coronary artery trunk and a significant breach of contractile myocardial function (ejection fraction less than 40%) in patients who are operated on urgently with antiplatelet therapy and anticoagulant therapy applied. In case of using a high extended epidural block the catheterization of the epidural space should be performed on the surgery eve in order to minimize the risk of epidural hematoma formation. This technique can be considered a method of choice for operations without artificial circulation on the working heart. Operational hemodilution is an effective way to conserve blood and reduce the risk of blood transfusion complications. The use of Perftorane in the perioperative period in patients with low oxygen capacity of blood can optimize oxygen transport and promote a favourable course of the postoperative period.

Experimental and clinical studies of the Russian perfluorocarbon preparation Perftoranum (V. V. Moroz) were carried out. It has been proved that Perftoranum when administered intravenously even in small doses (1.5–2.5 ml/kg of weight) normalizes the structure of erythrocyte membranes, reduces the activity of lipid peroxidation in erythrocyte membranes as compared to the basic therapy of 1.6–3.2 times (cytoprotective effect), increases the index of

характерными размерами (L_2 140 ± 60 нм и h_2 $12,1 \pm 4,2$ нм). Такие домены образовывались в результате модификации ячеек спектринового матрикса — параметр h_2 возрастал в 6 раз. Действие NaNO_2 вызывало изменение параметров h_2 и h_3 , что могло быть связано с окислением липидного бислоя. В образце оставалось лишь 28% дискоцитов, остальные клетки были представлены эхиноцитами 11%, стоматоцитами 55%, и плоскими эритроцитами. CaCl_2 образовывал 80% эхиноцитов (20% дискоцитов) и существенно изменял жесткость мембраны. Фуросемид вызывал у 90% наблюдаемых клеток характерные концентрические структуры с периодом 80–200 нм на поверхности. При этом соотношение h параметров на свободных участках мембраны не изменялось. Верапамил вызывал топографические дефекты в виде глубоких впадин с характерным размером 500–1000 нм. Соотношение h параметров на свободных участках мембраны не изменялось. Показано, что для всех указанных выше агентов перфторан практически полностью восстанавливал наноструктуру мембран.

Особый интерес вызвало явление образования зерновых доменов на поверхности мембран при действии гемина. Такие образования были показаны впервые. Изучено влияние гемина на спектрин и белок полосы 4.1. Протеин 4.1R (4.1R) является многофункциональным компонентом мембраны красных клеток. Он образует комплекс с актином и спектрином, который определяет узловые переходы мембранно-скелетной сети. За счет показанных повреждений, мембрана вместе с протеиновым комплексом 4.1 локально опускается, а на поверхности остаются анкириновые комплексы. Таким образом, на поверхности мембраны возникают зернистые топологические дефекты. На изображении они представлены в виде красных вершин зерен. Согласно этому механизму расстояние между зернами должно быть около 200 нм, что и наблюдалось в экспериментах. Данное явление получило название «внутренняя везикуляция».

В НИИОР в эксперименте и клинике доказаны органопротективные свойства ингаляционного анестетика севофлурана (В. В. Лихванцев). В эксперименте доказано, что ингаляция севофлурана в дозе 2 минимальные альвеолярные концентрации (МАК) приводит к повышению содержания фосфо-ГСК-3 β на 200% в гомогенатах головного мозга и на 160% в гомогенате миокарда крыс. Введение пропофола-липура в дозе 5 мг/кг за 15 минут до моделирования анестетического прекодиционирования (АПК) полностью нивелирует указанный эффект севофлурана. Реверсия блока АПК наступает через 40 минут после введения пропофола.

Севофлуран также проявляет эффекты анестетического прекодиционирования: при моде-

tissue oxygen extraction (by 1.3 times) and its consumption (by 2.2 times), reduces disruptions in the blood coagulation system and the severity of endothelial damage (the von Willebrand factor activity decreases 1.4 times), reduces the duration of coma in patients by 6.5 days, and the lethality by 20.9% compared with baseline therapy. The experiment revealed components of the Perftoranum mechanism as pronounced anti-edematous, anti-inflammatory and wound-healing effect. It has been proved that in patients with chronic hypoxic lesions of lower limbs Perftoranum increases systemic and local blood flow by 1.5–2.7 times, reduces peripheral resistance of blood vessels and improves blood filling in the affected area by a factor of 2 without causing the syndrome of «tissue robbing».

Since 1963 the Institute has been providing vocational training through the clinical residency and postgraduate school in anesthesiology and intensive care, and pathological physiology.

Since 2005 the Institute has been publishing the General Reanimatology Journal, which is focused on research and practice, is peer reviewed and listed by the Higher Attestation Commission of Russia as one of the journals recommended for the publication of the main results of dissertations for the academic degree of Doctor or Candidate of Science. Since 2015 the Journal is included in the Scopus database.

Since 2001 there is a Dissertation Board Д 001.051.01 in the V. A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology for the defense of dissertations for the Candidate and Doctoral degrees in Anesthesiology and Resuscitation and Pathological Physiology, Medical Sciences.

The V. A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology, Federal Research and Clinical Center of Intensive Care Medicine and Rehabilitology, works in cooperation with the European Resuscitation Council. The National Council for Resuscitation is a full member of the European Resuscitation Council and its exclusive representative in the Russian Federation. The National Resuscitation Council was established in 2004 to unite the scientific and practical potential of regions of the Russian Federation in the field of anaesthesiology and resuscitation, to analyze the accumulated experience, to create unified training programs for first aid and cardiopulmonary resuscitation, and to provide unified methods that meet international standards. The National Council for Resuscitation has been conducting certified courses of the European Resuscitation Council since 2008: over 100 instructors and more than 5,000 experts have been trained.

The academic results of the Institute over the past 10 years are demonstrated by 44 monographs, 101 textbooks and manuals, 74 guidelines and instructions, 3,665 papers and proceedings (of which 547 were pu-

лировании клинической смерти анестетическое прекодиционирование севофлюраном позволяет повысить «выживаемость» нейронов волокон Пуркинье мозжечка на 8,8%, пирамидных нейронов поля СА1 гиппокампа на 25,3% и поля СА4 гиппокампа на 14,2%.

В клиническом исследовании доказано, что в общей популяции больных не выявлено влияния выбора метода анестезии на частоту эпизодов ишемии миокарда; повышение уровня тропонина Т; госпитальную и годовую летальность. У пациентов с церебро-васкулярной недостаточностью ингаляционная анестезия севофлюраном снижает риск развития послеоперационного делирия. В подгруппе пациентов с высоким риском развития кардиальных осложнений у пациентов с ингаляционной методикой анестезии севофлюраном периоперационная ишемия регистрируется в 1,9 раза реже, а транзиторное повышение уровня тропонина Т в послеоперационном периоде в 2,3 раза реже по сравнению с группой больных, анестезию которым проводили по методике тотальной внутривенной анестезии. Влияние метода анестезии на частоту изученных периоперационных осложнений и летальность не обнаружено.

Доказано, что при хирургической коррекции коронарного кровотока у больных различными формами ишемической болезни сердца (ИБС) наиболее приемлемым следует считать вариант ингаляционной анестезией севофлюраном (до 1,2 МАК) с усилением анальгетического компонента фентанилом. Такая методика является наиболее универсальной для подавляющего большинства клинических ситуаций. Эпидуральная анестезия в кардиохирургии имеет ряд ограничений. Не следует использовать данный метод при поражении ствола левой коронарной артерии, значительном нарушении контрактильной функции миокарда (фракция изгнания менее 40%) у больных, оперируемых в экстренном и неотложном порядке на фоне приема антиагрегантов и проведения антикоагулянтной терапии. В случае использования высокой продолженной эпидуральной блокады, катетеризацию эпидурального пространства следует выполнять накануне операции с целью минимизации риска образования эпидуральной гематомы. Данный метод можно считать методом выбора при операциях без искусственного кровообращения на работающем сердце. Операционная гемодилюция является эффективным способом кровосбережения и снижения рисков гемотранфузионных осложнений. Использование в периоперационном периоде перфторана у больных с низкой кислородной емкостью крови позволяет оптимизировать транспорт кислорода и способствовать благоприятному течению послеоперационного периода.

blished abroad), 74 copyright certificates for inventions and patents, and in 97 dissertations including 16 doctoral theses. Scientific works of the Institute are presented in two editions of a bibliographic index, as well as in twelve volumes of a collection of scientific papers.

In 1952 the Laboratory employees were awarded the State (Stalin) Prize of the USSR. In 1970 a group of scientists at the Laboratory were awarded the USSR State Prize for a series of works on electropulse therapy. V. V. Moroz, a Corresponding Member of the RAS, was awarded the RF Government Prize for fundamental research in the field of medicine. The creation of perfluorocarbon media for the control of the vital activity of cells, organs and the body. In 2002 the Minister of Health of the Russian Federation awarded him the diploma of the first national award to the best doctors of Russia Prizvanye (Vocational Calling). In 2011 a group of scientists in the Institute (V. V. Moroz, a Corresponding Member of the Russian Academy of Medical Sciences, the head of the project, G. A. Ryabov, an academician of RAMS, A. M. Golubev, Professor, Yu. A. Churlyayev, Professor, A. V. Vlasenko, Candidate of Medical Sciences) were awarded the 2010 RF Government Prize in Science and Technology for improving the efficiency of diagnosis and treatment of Acute Respiratory Distress Syndrome (ARDS) based on the development and implementation of cutting-edge medical technology.

In 2017 the scientific staff of the Institute (A. N. Kuzovlev, A. Yu. Bedova, V. A. Sergunova) became laureates of the Moscow Government Prize for young scientists in the year 2016 for their scientific research «Increasing the efficacy of diagnosis and treatment of infectious complications of critical conditions on the basis of the development and implementation of latest technologies.» A number of the Institute's employees have been awarded the Presidential Scholarship, as well as other Russian and international awards.

The Institute will continue clinical and experimental studies of the mechanisms of development of critical conditions at the molecular, cellular, organ and organism levels, as well as the study of new methods for diagnosis and treatment of critical, terminal and postresuscitative conditions.

Recived 01.08.17

Проведены экспериментальные и клинические исследования отечественного перфторуглеродного препарата перфторан (В. В. Мороз). Доказано, что перфторан при внутривенном введении даже в малых дозах (1,5–2,5 мл/кг массы) нормализует структуру мембран эритроцитов, уменьшает активность перекисного окисления липидов в

мембранах эритроцитов по сравнению с базовой терапией в 1,6–3,2 раза (цитопротекторное действие), увеличивает индекс тканевой экстракции кислорода (в 1,3 раза) и его потребление (в 2,2 раза), уменьшает нарушения в свертывающей системе крови и тяжесть повреждения эндотелия (активность фактора Виллебранда снижается в 1,4 раза), уменьшает длительность коматозного состояния у больных на 6,5 суток, а летальность — на 20,9% по сравнению с базовой терапией. Компонентами механизма действия перфторана является выраженное противоотечное, противовоспалительное и ранозаживляющее действие, выявленные в эксперименте. Доказано, что у больных с хроническим гипоксическим поражением нижних конечностей перфторан увеличивает системный и местный кровоток в 1,5–2,7 раза, снижает периферическое сопротивление сосудов и улучшает кровенаполнение в зоне поражения в 2 раза, не вызывая синдрома «обкрадывания тканей».

С 1963 г. Институт осуществляет подготовку кадров через клиническую ординатуру и аспирантуру по специальности «Анестезиология и реаниматология» и «Патологическая физиология».

С 2005 г. Институт издает рецензируемый научно-практический журнал «Общая реаниматология», включенный в Перечень ВАК периодических научных и научно-технических изданий, выпускаемых в Российской Федерации, в которых рекомендуется публикация основных результатов диссертаций на соискание ученой степени или кандидата наук. С 2015 г. журнал входит в международную информационную базу данных «Scopus».

С 2001 г. в НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского функционирует диссертационный совет Д 001.051.01 по защите диссертаций на соискание ученой степени доктора и кандидата наук по специальности «Анестезиология и реаниматология и «Патологическая физиология» — медицинские науки.

НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского ФНКЦ РР сотрудничает с Европейским Советом по реанимации (European Resuscitation Council). Национальный совет по реанимации является полноправным членом Европейского совета по реанимации и его эксклюзивным представителем в Российской Федерации. Национальный совет по реанимации был создан в 2004 г. для объединения научно-практического потенциала регионов Российской Федерации в области анестезиологии-реаниматологии, анализа накопленного опыта, создания единых программ обучения методам первой помощи и сердечно-легочной реанимации, унифицированных методик, соответствующих международным требованиям. Национальным советом по реанимации с 2008 г. проводятся сертификационные курсы Европей-

ского совета по реанимации, подготовлено более 100 инструкторов, обучено более 5000 человек.

Результаты научной деятельности Института за последние 10 лет отражены в 44 монографиях; 101 учебниках и пособиях; 74 методических рекомендациях и инструкциях; 3665 статьях и тезисах, из которых 547 изданы за рубежом; 74 авторских свидетельствах на изобретения и патентах; 97 диссертациях, в том числе 18 докторских. Научные работы Института отражены в трех изданиях библиографического указателя, а также в 12 томах научных трудов.

В 1952 г. работы В. А. Неговского и сотрудников лаборатории удостоены Государственной (Сталинской) Премии СССР. В 1970 г. за цикл работ по электроимпульсной терапии группа ученых Лаборатории была удостоена Государственной премии СССР. За проведение фундаментальных исследований в области медицины «Создание перфторуглеродных сред для управления жизнедеятельностью клеток, органов и организма» (1999 г.) член-корреспондент РАН В.В.Мороз награжден Премией Правительства РФ, а в 2002 г. Министр здравоохранения Российской Федерации вручил ему диплом Первой Национальной Премии лучшим врачам России «Призвание». В 2011 г. сотрудники Института (член-корреспондент РАМН В. В. Мороз — руководитель работы, академик РАМН Г. А. Рябов, профессор А. М. Голубев, профессор Ю. А. Чурляев, к. м. н. А. В. Власенко, профессор Авдеев С. Н., академик РАМН Чучалин А. Г., профессор Алексеев В. Г., профессор Яковлев В. Н., профессор Ливанов Г. А.) получили Премию Правительства Российской Федерации 2010 г. в области науки и техники «За повышение эффективности диагностики и лечения ОРДС на основе разработки и внедрения новейших медицинских технологий».

В 2017 г. научные сотрудники Института А. Н. Кузовлев, А. Ю. Бедова, В. А. Сергунова стали лауреатами Премии Правительства Москвы молодым ученым за 2016 г. за научное исследование «Повышение эффективности диагностики и лечения инфекционных осложнений критических состояний на основе разработки и внедрения новейших технологий». Ряд сотрудников Института награждены Стипендией Президента Российской Федерации, а также иными российскими и международными наградами.

В Институте будут продолжены клинические и экспериментальные исследования механизмов развития критических состояний на молекулярном, клеточном, органном и организменном уровнях, а также изучение новых методов диагностики и лечения критических, терминальных и постреанимационных состояний.

Поступила 01.08.17

Профессору В. В. Морозу 80 лет

Professor Viktor V. Moros is 80

Научному руководителю ФНКЦ реаниматологии и реабилитологии, члену-корреспонденту РАН Морозу Виктору Васильевичу исполняется 80 лет.

Виктор Васильевич Мороз родился 14 октября 1937 года в городе Ростове-на-Дону. В 1961 году он закончил Военно-медицинскую академию им. С. М. Кирова, а в 1965 году — ординатуру при кафедре госпитальной хирургии. В 1969 году Виктор Васильевич защитил кандидатскую диссертацию «Объем циркулирующей крови и его компоненты при хирургических заболеваниях легких и их оперативном лечении». С 1967 по 1996 годы работал в ГВКГ имени Н. Н. Бурденко, занимая последовательно должности старшего ординатора отделения анестезиологии, начальника лаборатории вспомогательного кровообращения и искусственной оксигенации, детоксикации, начальника отделения реаниматологии. В 1994 году защитил докторскую диссертацию на тему «Пути коррекции гипоксии при критических состояниях».

В 1995 году Виктор Васильевич был избран профессором кафедры анестезиологии и реаниматологии ММА имени И. М. Сеченова, в 1996 году ему присвоено звание профессора. В этом же году по приглашению академика РАМН В. А. Неговского Виктор Васильевич избран директором НИИ общей реаниматологии Российской академии медицинских наук, в 2005 году — заведующим кафедрой анестезиологии-реаниматологии МГМСУ (по совместительству).

Основными направлениями научной деятельности В. В. Мороза являются исследования патогенеза, клиники, диагностики, лечения и профилактики развития критических и терминальных состояний, различных форм гипоксии, шока, сепсиса, эндотоксикоза, полиорганной недостаточности, изучение перфторуглеродов для медико-биологических целей, патогенеза боевой травмы. Он обосновал, разработал и внедрил в клиническую практику длительную внеорганную малопоточную оксигенацию, применив впервые в мире фторуглеродный оксигенатор в клинике, новый класс препаратов с газотранспортной функцией на основе перфторуглеродов.

В. В. Мороз является одним из пионеров исследований роли генетической предрасположенности, роли биоритмов в течении критических состояний, исследований и внедрения в клиническую практику сорбционной детоксикации, плазмафереза, ультрафильтрации, методов лечения острой дыхательной недостаточности, алгоритмов инфузионно-трансфузионной терапии, кровевосполнения,



Viktor Vasilyevich Moroz, the Scientific Director of the Federal Research and Clinical Center of Intensive Care Medicine and Rehabilitology, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, is celebrating his 80th birthday

Viktor Vasilyevich Moroz was born on October 14, 1937 in the town of Rostov-on-Don. In 1961 he graduated from the S. M. Kirov Military Medical Academy. In 1965 he completed his residency training at the Department of Hospital Surgery. In 1969 he defended his thesis on The circulating blood volume and its components in surgical lung diseases and their surgical treatment. From 1967 to 1996 he worked in the N. N. Burdenko Main Military and Clinical Hospital consecutively as a Senior Resident of the Department of Anesthesiology, Head of the Laboratory of Ancillary Circulation and Artificial Oxygenation, Detoxification, and Head of the Department of Reanimatology. In 1994 he defended his doctoral thesis on Ways of correcting hypoxia in critical conditions.

In 1995 Viktor V. Moroz got his Professorship in the Department of Anaesthesiology and Reanimatology, I. M. Setchenov Moscow medical Academy. In 1996 he was awarded with the title of full Professor. In the same year Dr. Moroz was invited by V. A. Negovsky, an academician of the RAM, to be elected as a Director of the Research Institute of General Reanimatology of the Russian Academy of Medical Sciences; in 2005 he also became the Head of the Department of Anaesthesiology and Reanimatology of Moscow State University of Medicine and Dentistry (concurrently).

The main areas of V. V. Moroz's scientific activity include studies of pathogenesis, clinical findings, diagno-

парентерального и энтерального питания при критических и терминальных состояниях. Под руководством и при непосредственном участии В. В. Мороза созданы фторуглеродные оксигенаторы, кровезаменитель с газотранспортной функцией на основе перфторуглеродов — «Перфторан», аппараты и устройства для гемосорбции.

За фундаментальные исследования «Создание перфторуглеродных сред для управления жизнедеятельностью клеток, органов и организма» В. В. Морозу в составе авторского коллектива в 1999 году присуждена премия Правительства РФ, а в 2002 году он стал лауреатом первой национальной премии лучшим врачам России «Призвание». Большой вклад В. В. Мороз внес в исследования и разработку организационных и анестезиолого-реаниматологических проблем военной медицины и медицины катастроф как непосредственный участник ликвидации последствий событий в Афганистане, Армении, Чечне, Чернобыле и других катастроф.

В. В. Морозом опубликовано более 800 научных работ, в их числе — монографии, главы в руководствах, книгах, статьи в трудах института, конгрессов, съездов, в том числе международных форумов, информационные бюллетени, методические рекомендации и инструкции. Виктор Васильевич имеет 26 патентов. Под его редакцией опубликовано 12 томов трудов НИИ общей реаниматологии РАМН, 9 тематических сборников научных трудов. В 2005 году он основал журнал «Общая реаниматология», который входит в перечень ВАК России периодических научных и научно-технических изданий, рекомендованных для публикаций основных результатов диссертаций на соискание ученой степени доктора или кандидата наук. В. В. Мороз многократно выступал с докладами и лекциями на конгрессах, съездах, конференциях, симпозиумах за рубежом и в нашей стране.

Под руководством и при консультации В. В. Мороза выполнены 19 докторских и 34 кандидатских диссертаций. Виктор Васильевич — видный руководитель и организатор здравоохранения.

В марте 2000 года он был избран член-корреспондентом Российской Академии медицинских наук, членом бюро ОМБН РАН. В. В. Мороз также является академиком и членом Президиума Академии медико-технических наук России с 1999 года. Много лет В. В. Мороз работал в президиуме Всесоюзного, Всероссийского обществ анестезиологов и реаниматологов, Федерации анестезиологов и реаниматологов России, членом правления Московского научного общества анестезиологов и реаниматологов (МНОАР), являясь сегодня почетным членом всех этих обществ. В 1987 году на альтернативной основе МНОАР избрало его первым председателем МНОАР. На этом посту он пробыл более 10 лет. В 2014 году профес-

sis, treatment and prevention of the development of critical illness and terminal conditions; various forms of hypoxia, shock, sepsis, endotoxycosis and multiple organ failure; studies of perfluorocarbons for medical and biological purposes; pathogenesis of combat trauma. He has developed and clinically proved the long-term extracorporeal low-flow oxygenation. He was first to employ a fluorocarbon oxygenator in a clinical setting, and suggested for clinical use a new class of medications that employs perfluorocarbon-based gas transfer.

V. V. Moroz was among pioneers in the research on the role of the genetic predisposition and biorhythms in critical illness. He clinically proved early the principles of sorption detoxification, plasmapheresis, ultrafiltration, methods of treating of acute respiratory failure, algorithms of infusion-transfusion therapy, blood supply, and parenteral and enteral nutrition in critical and terminal illnesses. Fluorocarbon oxygenators, Perftoranum (a blood substitute with a gas transportation function based on perfluorocarbons), hemosorption devices and equipment have been designed under the guidance and with the direct contribution by V. V. Moroz.

In 1999 V. V. Moroz is becoming a member of a group of inventors awarded with the RF Government prize for a fundamental research The creation of perfluorocarbon media for the control of the vital activity of cells, organs and the body. In 2002 he became the laureate of the first national award to the best doctors of Russia *Prizvanye* (Vocational Calling). V. V. Moroz has made a significant contribution to the research and development of organizational issues and anesthesiology and resuscitation problems of military medicine and disaster medicine being a direct participant in eliminating the consequences of combat or natural disaster events in Afghanistan, Armenia, Chechnya, Chernobyl and others.

V. V. Moroz has published more than 800 scientific publications, including monographs, chapters, papers in peer-reviewed journal, manuals, books, congresses materials of national and international forums, newsletters, methodological recommendations and instructions. Dr. Moroz is an outstanding inventor: he invented 26 patents. Twelve volumes of publications of the Research Institute of General Reanimatology of the Russian Academy of Medical Sciences and nine thematic collections of scientific works have been published under his editorship. In 2005 he has founded a new journal *General Reanimatology*, which is listed by the Higher Attestation Commission of Russia among periodic scientific and technical publications that are recommended for publication of main results of dissertations for the academic degree of a doctor or candidate of sciences. V. V. Moroz has repeatedly delivered reports and lectures at congresses, conferences and symposia in Russia and abroad.

Under the guidance and consultation of V.V. Moroz 19 doctoral and 34 candidate theses have been completed. Viktor V. Moroz continuously stays as a prominent leader in reanimatology-anesthesiology and organizer of public health in the area of critical illness and resuscitation.

In March 2000 he was elected to become Corresponding Member of the Russian Academy of Medical Sciences, a Member of the Bureau of the Division of Medical and

сор В. В. Мороз выступил инициатором и организатором создания российского Общества по изучению шока, ставшего частью Международной федерации обществ по изучению шока. В. В. Мороз был избран и по настоящее время остается Президентом российского Общества по изучению шока. На этом посту он осуществляет публикацию научных исследований и образовательную деятельность в области изучения шока. Виктор Васильевич — председатель ученого совета Института, проблемных комиссий «Экстремальные и терминальные состояния», «Гипоксия критических состояний», член экспертного совета ВАК России, Фармакологического комитета Минздрава РФ, член редколлегии журналов «Анестезиология и реаниматология», «Вестник интенсивной терапии», «Реаниматология, интенсивная терапия, анестезиология», «Вестник службы крови России», международных журналов «Journal of Critical Care», «Нейронауки: теоретические и клинические аспекты», с 2005 года — главный редактор журнала «Общая реаниматология».

С 2008 по 2010 годы В. В. Мороз был главным анестезиологом-реаниматологом МЗСР РФ. Виктор Васильевич Мороз является президентом Национального Совета по реанимации, почетным членом и членом Президиума Европейского Совета по реанимации, почетным членом словацкого научного медицинского общества анестезиологов. Награжден 14 медалями, знаком «Отличник здравоохранения». В 1999 году В. В. Морозу присвоено звание «Заслуженный врач РФ», в 2008 году — «Заслуженный деятель науки РФ». Распоряжением Правительства РФ от 25 февраля 2011 года Виктору Васильевичу Морозу вместе с группой исследователей (руководитель работы) присуждена премия Правительства РФ в области науки и техники — «за повышение эффективности диагностики и лечения острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС) на основе разработки и внедрения новейших медицинских технологий». В настоящее время Виктор Васильевич Мороз назначен научным руководителем Федерального научно-клинического центра реаниматологии и реабилитологии. В этой должности он продолжает успешно руководить несколькими направлениями российских научных исследований в области реаниматологии и медицины критических состояний.

Глубокоуважаемый Виктор Васильевич! Коллегив НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского ФНЦ РР и редакция журнала «Общая реаниматология» поздравляют Вас с юбилеем и желают крепкого здоровья, долгих плодотворных лет жизни.

Biological Sciences of the RAS. V. V. Moroz has also been an academician and a member of the Presidium of the Academy of Medical and Technical Sciences of Russia since 1999. For a long time V. V. Moroz worked as a Member of the Presidium of the All-Union and All-Russian Societies of Anaesthesiologists and Reanimatologists, the Federation of Anaesthesiologists and Reanimatologists of Russia; he was a board member of the Moscow Scientific Society of Anaesthesiologists and Reanimatologists (MSSAR). Today he is an honorary member of all these societies. In 1987 he was elected on an alternative basis the first Chairperson of the MSSAR. He spent more than ten years in this position. In 2014, professor Viktor V. Moroz initiated, organized and was elected as a President of the Society for Shock Studies in Russia that joined the International Federation of Shock Studies. He remains in this position until nowadays contributing to shock studies by research publications and educational activity. Victor Vasilyevich Moroz for many years was remaining the Chairperson of the Academic Council of the V. A. Negovsky Institute of General Reanimatology, task groups Extreme and Terminal Conditions and Hypoxia in Critical Illness, a member of the Expert Council of the Higher Attestation Commission of Russia, the Pharmacological Committee of the Ministry of Public Health of Russian Federation, a member of the editorial boards several peer-reviewed national journals (*Anesthesiology and Reanimatology*, *Intensive Care Bulletin*, *Reanimatology*, *Intensive Care*, *Anesthesiology*, *The Bulletin of the Blood Service of Russia*); and international journals (*Journal of Critical Care*, *Theoretical and Clinical Aspects of Neuroscience*). Since 2005 he continues to serve as the Editor-in-Chief at the *General Reanimatology*, the journal that recently (2015) joined Scopus.

From 2008 to 2010 V. V. Moroz was the Chief Anesthesiologist and Resuscitator at the Russian Ministry of Public Health. Viktor Vasilyevich Moroz continues to serve as the President of the National Council for Resuscitation, being a honorary member and a member of the Presidium of the European Resuscitation Council, and a honorary member of the Slovak Scientific Medical Society of Anaesthesiology and Intensive Medicine. He has been awarded with fourteen medals and an Excellent Worker of Public Health badge. In 1999 V.V. Moroz was awarded with the Honored Doctor of the Russian Federation title, in 2008 he received the title of a Honored Scientific Worker of the Russian Federation. February 25, 2011 Viktor Vasilyevich Moroz along with a group of colleagues was awarded with one of the supreme prizes in Russia, the RF Government Prize in Science and Technology «For improving the efficiency of diagnosis and treatment of Acute Respiratory Distress Syndrome (ARDS) on the basis of the development and implementation of cutting-edge medical technology». Recently, Viktor V. Moroz has been appointed as a Scientific Head of Federal Research and Clinical Center of Critical Care Medicine and Rehabilitology. In this position, he continues to successfully lead several directions of reanimatology and critical illness research studies in Russia.

Филиал НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского в городе Новокузнецке: история, научные исследования, достижения

Ю. А. Чурляев, К. В. Лукашев

Новокузнецкий государственный институт усовершенствования врачей —
филиал Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования Минздрава России,
Россия, 654005, Кемеровская область, г. Новокузнецк, пр-т Строителей, д. 5

V. A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology, Novokuznetsk Regional Campus: History, Research, Achievements

Yury A. Churlyayev, Konstantin V. Lukashev

Novokuznetsk State Institute of Advanced Medical Education,
regional campus of Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Ministry of Healthcare, Russia,
5 Stroitelei Av., Novokuznetsk 654005, Kemerovo region, Russia

В обзоре представлены история создания, проведенные научные исследования и достижения сотрудников Филиала НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского в городе Новокузнецке.

Ключевые слова: Филиал ГБУ РАМН НИИ ОР им. В.А. Неговского РАМН; Кузбасс; нарушения гомеостаза у шахтеров; критические состояния при шахтной травме

The review presents the history of establishing the Institute, studies and achievements of employees of the V. A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology' former regional campus in the city Novokuznetsk.

Keywords: Regional Campus of the V.A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology of the Russian Academy of Medical Sciences; Kuzbass; disruption of homeostasis in miners; critical conditions in mine trauma

DOI:10.15360/1813-9779-2017-5-33-43

Филиал НИИ общей реаниматологии РАМН в г. Новокузнецке был организован в соответствии с Постановлением Президиума АМН СССР № 173 от 25 апреля 1990 г. и Приказом Министерства здравоохранения СССР № 420 от 25 октября 1990 г.

У истоков организации филиала стояли ведущие ученые, посвятившие многие годы становлению и развитию реаниматологии в России: академик РАМН В. А. Неговский, член-корреспондент РАМН В. Н. Семенов, заслуженный деятель науки России, член-корреспондент РАН В. В. Мороз. Организация такого научного центра в г. Новокузнецке была обусловлена в первую очередь, тем, что Кузбасс является крупным промышленным регионом с огромным индустриальным потенциалом; во вторых — высоким уровнем травматизма у шахтеров, и наличием высококвалифицированной подготовленной научной базы в лице кафедры анестезиологии и реаниматологии Новокузнецкого Государственного института усовершенствования врачей (ГИУВа) и врачей городской клинической больницы №1. Первым директором филиала и его

The Regional Campus of the Research Institute of General Reanimatology of the Russian Academy of Medical Sciences in Novokuznetsk was organized by the Decree of the Presidium of the Academy of Medical Sciences of the USSR № 173 as of April 25, 1990 and by the Order of the USSR Ministry of Health № 420 as of October 25, 1990.

The initiators of the Regional Campus were outstanding scientists who dedicated many years to the establishment and development of the resuscitation science in Russia: V.A. Negovsky, an academician of the RAMS, V.N. Semenov, a Corresponding Member of the RAMS, V.V. Moroz, an Honored Scientific Worker of Russia, a Corresponding Member of RAS. The primary reasons for organizing such a scientific center in Novokuznetsk were the facts that Kuzbass was a large industrial region with a significant industrial potential and the level of injuries among miners was high while there was a highly qualified scientific base available (the Department of Anesthesiology and Reanimatology of Novokuznetsk State Institute of Advanced Medical Education and doctors of the Moscow City Clinical Hospital № 1). V. D. Slepsh-

Адрес для корреспонденции:

Константин Лукашев
E-mail: luka1975@yandex.ru

Correspondence to:

Konstantin Lukashev
E-mail: luka1975@yandex.ru

организатором был заведующий кафедрой анестезиологии и реаниматологии Новокузнецкого ГИУВа профессор В. Д. Слепушкин.

Будучи 20 лет директором НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского, заслуженный деятель науки России, член-корреспондент РАН, профессор Виктор Васильевич Мороз, уделял большое внимание в становлении и развитии Филиала Института. Под руководством Виктора Васильевича на базе Института и его Филиала проводились научные исследования, посвященные:

- изучению особенностей патофизиологических изменений у шахтеров в зависимости от длительности подземного стажа работы;
- установлению механизмов изменения центральной гемодинамики и кислород-транспортной функции сердечно-сосудистой системы у шахтеров с длительным стажем подземных работ;
- разработке эффективных методов оказания реаниматологической помощи пострадавшим и больным шахтерам на этапах лечения;
- апробации новых диагностических и лечебных технологий с последующим внедрением в клиническую практику реаниматологических отделений.

Приказом директора Института заслуженного деятеля науки России, члена-корреспондента РАН, профессора В. В. Мороза в 1999 году директором Филиала НИИ общей реаниматологии РАМН был назначен Юрий Алексеевич Чурляев, Заслуженный врач РФ, лауреат Премии Правительства РФ, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой анестезиологии и реаниматологии ГОУ ДПО Новокузнецкого государственного института усовершенствования врачей. Юрий Алексеевич длительное время был членом Президиума правления Федерации анестезиологов и реаниматологов России. Он автор 3 монографий, более 400 научных статей, 40 патентов, награжден медалями «За особый вклад в развитие Кузбасса» III степени (2001); «За служение Кузбассу» II степени (2005), серебряной медалью им. академика В. А. Неговского Европейской академии естественных наук (Ганновер, Германия, 2006), почетным знаком «Золотой знак «Кузбасса». Профессору Чурляеву Ю. А. присвоено звание «Почетный профессор Кузбасса» (2007). В 2007 г. Ю. А. Чурляев был введен в состав рабочей группы Европейской комиссии по реанимации.

Филиал поддерживал научные связи с Российской Академией медицинских наук, ГОУ ДПО «Государственный Новокузнецкий институт усовершенствования врачей Росздрава», НИИ комплексных проблем гигиены и профзаболеваний СО РАМН (г. Новокузнецк), ГОУ ВПО «Кемеровская государственная медицинская академия», с Кузбасским научным центром СО РАМН (г. Кемерово), Федеральным государст-

kin, Professor, the head of the Department of Anesthesiology and Reanimatology of Novokuznetsk State Institute of Stomatology was the first director and the organizer of the Regional Campus.

Having been in the position of the director of the V. A. Negovsky Institute of General Reanimatology for 20 years, Viktor Vasilyevich Moroz greatly contributed to the establishment and development of the Institute Regional Campus. Viktor Vasilyevich supervised the research in the Institute and its Regional Campus in the following areas:

- studying the characteristics of pathophysiological changes in miners depending on the duration of the underground work experience;
- identifying the mechanisms for changes in the central hemodynamics and the oxygen-transport function of the cardiovascular system in miners with a long history of underground work;
- development of effective methods for providing resuscitation assistance to injured and sick miners at the treatment stages;
- approbation of new diagnostic and therapeutic methods and their subsequent use in the clinical practice of resuscitation departments.

In 1999 Yuri Alekseyevich Churlyayev, an Honored Doctor of the Russian Federation, a laureate of the RF Government Prize, Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Anesthesiology and Reanimatology of Novokuznetsk State Institute of Advanced Medical Education, was appointed as a Director of the Regional Campus of the V. A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology of RAMS by the Order of V. V. Moroz, Director of the Institute. For a long time Yuri Alekseyevich has been a member of the Presidium of the Federation of Anesthesiologists and Reanimatologists of Russia. He is the author of three monographs, more than 400 academic publications, and 40 patents. He has awarded with medals: «For a special contribution to the development of Kuzbass» (III degree, 2001); «For Service to Kuzbass» (II degree, 2005); V. A. Negovsky Silver Medal of the European Academy of Natural Sciences (Hanover, Germany, 2006); the honorary badge «The Golden Symbol of Kuzbass». Professor Yu. A. Churlyayev has been awarded the title of the Honorary Professor of Kuzbass (2007). In 2007 Yu. A. Churlyayev joined the Working Group of the European Resuscitation Council.

The Regional Campus has maintained scientific contacts with the Russian Academy of Medical Sciences (RAMS), the State Novokuznetsk Institute of Advanced Medical Education, the Scientific Research Institute for Complex Problems of Hygiene and Occupational Diseases of the Siberian Section of the Russian Academy of Medical Sciences (Novokuznetsk), Kemerovo State Medical Academy, Kuzbass Scientific Center of the Siberian Section of the RAMS (Kemerovo),

венным лечебно-профилактическим учреждением «Научно-клинический центр охраны здоровья шахтеров» (г. Ленинск-Кузнецк).

Предметом научных исследований Филиала впервые в России, являлось изучение гомеостаза и особенностей течения критических состояний у шахтеров с разработкой и внедрением эффективных методов интенсивной терапии. Эти направления изысканий связаны с большой концентрацией предприятий угольной отрасли в Кузбассе.

На организм горняков, добывающих «черное золото», негативное воздействие оказывают вредные факторы угольной шахты. Рабочую смену шахтер проводит под землей среди угольной пыли, породы и самого угля, который содержит большое количество химических примесей и элементов, пагубно влияющих на состояние здоровья. Несмотря на то, что кузнецкие угли отличаются высоким качеством, в их составе содержится мышьяк, хром, кадмий, цинк, медь, никель, фтор, содержание которых нередко превышает предельно допустимую концентрацию в 2–8 раз, а в Осинниковском районе еще и высокое содержание ртути (2–7 г/т). Доказано, что с увеличением стажа подземных работ от 10 и более лет в лимфоцитах периферической крови нарастает содержание хрома, что приводит к иммунодепрессивному состоянию.

Необходимо отметить и радиоактивное воздействие от источников ионизирующего излучения естественного происхождения. Особенно опасно повышенное содержание в атмосфере шахт радиоактивных газов — радона и торона. При этом естественная радиоактивность вмещающих пород значительно выше, чем самого угля.

Бурение угольных пластов почти всегда сопровождается выделением большого количества метана (CH_4), концентрация которого, несмотря на наличие в шахтах системы вентиляции, может достигать достаточно высокого уровня. В результате газ оказывает токсическое действие на организм шахтеров и создается взрывоопасная ситуация. Так, например, степень взрываемости пылевоздушной угольной смеси при содержании метана равном нулю составляет 40 мг/м³, при $\text{CH}_4=0,5\%$ этот предел снижается до 30 мг/м³, а при $\text{CH}_4=2\%$ до 10 мг/м³. Особенностью угольных месторождений Кузбасса является малая величина верхней границы нахождения метана и высокий градиент роста газоносности с увеличением глубины шахты.

Еще один неблагоприятный производственный фактор, которому подвергаются работники угольных шахт — воздействие локальной низко- и среднечастотной вибрации. Ее источником являются механизмы добычи угля, такие как проходческие комбайны, а в некоторых случаях и ручные инструменты. Превышение предельно-допустимого уровня локальной вибрации на рукоятках этих механизмов достигает 10 дБ.

the Federal State Medical and Prophylactic Institution «Scientific and Clinical Center for Miners' Health Care» (Leninsk-Kuznetsk).

For the first time in Russia the subject of scientific research of the Regional Campus was the homeostasis and the specifics of critical conditions in miners and the development and implementation of effective methods of intensive care. These areas of research were associated with a large concentration of coal companies in Kuzbass.

The harmful conditions in a coal mine have a negative impact on the organisms of miners who mine «black gold». A miner spends his working shift underground in coal dust, surrounded by rock and coal, the latter containing a quantity of chemical impurities and elements that adversely affect health. Despite of the high quality of Kuznetsk coals they contain arsenic, chromium, cadmium, zinc, copper, nickel, and fluorine that often exceed the maximum permissible concentration by 2–8 times, with a high content of mercury in the Osinnikovsky region (2–7 g/t). It has been proved that, the chromium content in peripheral blood lymphocytes increases with an increase in the duration of underground work from 10 years and more, which results in an immunosuppressive condition.

It should be noted that there is a radioactive effect from naturally occurring sources of ionizing radiation. The increased content of radioactive gases (radon and thoron) in the atmosphere of mines is especially dangerous. At the same time the natural radioactivity of the wall rocks is much higher than that of the coal itself.

Drilling of coal seams is almost always accompanied by the release of a large amount of methane (CH_4) with the concentrations (despite ventilation systems in the mines) sometimes reaching quite high levels. As a result, the gas exerts a toxic effect on miners and creates an explosive situation. For example, the degree of explosivity of a dust-coal mixture with a zero methane content is 40 mg/m³, with $\text{CH}_4=0.5\%$ this limit is reduced to 30 mg/m³, and with $\text{CH}_4=2\%$ — to 10 mg/m³. The coal deposits of Kuzbass are characterized by small values of the upper limit for methane and high gradients of gas-bearing growth with an increase in the depth of a mine.

The impact of local low- and mid-frequency vibrations is another unfavorable production factor faced by workers in coal mines. The vibrations are caused by the mechanisms of coal mining applied (such as tunneling combines and sometimes hand tools). The maximum permissible level of local vibration on the handles of these mechanisms may be exceeded by 10 dB.

Considering the above stated, experts of the Regional Campus of the V. A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology studied the home-

Учитывая выше изложенное в филиале НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского были проведены исследования гомеостаза работающих шахтеров при различном стаже подземных работ.

Изучены особенности функции внешнего дыхания у работающих шахтеров, выявившие наличие у шахтеров серьезных, но пока бессимптомных проявлений и изменений функций внешнего дыхания. И этот факт, по нашему мнению, имеет непосредственное отношение к медицине критических состояний, так как должен учитываться при проведении комплексной интенсивной (в том числе и респираторной) терапии у тяжелообольного или травмированного шахтера. Выявленные особенности — преобладание рестриктивных расстройств над obstructивными, предъявляют особые требования к проведению респираторной поддержки, а также к оснащению больниц шахтерских регионов современной дыхательной аппаратурой с возможностью выбора различных режимов вентиляции [1].

Исследование изменений эритрона у шахтеров при различном стаже подземных работ показало, что у шахтеров-подземников при стаже подземных работ менее 10 лет в условиях интермиттирующей гипоксии и интоксикации угольно-породистой пылью происходит компенсаторное увеличение количества эритроцитов и гемоглобина. При стаже подземной работ от 10 лет и более происходит истощение адаптационных ресурсов организма, что проявляется тенденцией снижением количества эритроцитов и гемоглобина, компенсирующихся за счет увеличения объема эритроцита и концентрации гемоглобина в них. Увеличение числа эритроцитов и концентрации гемоглобина в периферической крови у шахтеров-подземников до 10 лет связано с ускоренным выходом эритроцитов из костного мозга в кровь, что косвенным образом свидетельствует о напряжении компенсаторных возможностей системы эритрона у этой группы работающих. С увеличением стажа происходит истощение адаптационных ресурсов организма, и происходит компенсация за счет увеличения «кислородной емкости эритроцита» [2].

При изучении изменений газового состава и кислотно-основного состояния артериализованной крови (КОС) у шахтеров было выявлено, что на фоне вредных условий труда при подземном стаже более 10 лет происходит снижение напряжения кислорода и сатурации крови с одновременным увеличением напряжения углекислого газа. Метаболические и гематологические реакции, развивающиеся в ответ на изменение газового состава крови, имеют прогрессирующий и фазный характер, зависящий от стажа подземной работы и в меньшей степени от возраста. Поддержание КОС у шахтеров в пределах нормальных значений при изменении газообмена осуществляется, в первую

остasis of working miners for various durations of the underground work experience.

The specifics of the function of external respiration in miners have been studied that revealed serious but so far asymptomatic manifestations and changes in the functions of external respiration in miners. In our opinion, this fact is directly related to the medicine of critical conditions since it should be taken into account when performing complex intensive (including respiratory) therapy in seriously ill or injured miners. The revealed features (the predominance of restrictive disorders over obstructive ones) imply special requirements to respiratory assistance and to the equipment of hospitals in miner regions (modern respiratory devices with different ventilation regimes) [1].

The study of changes in erythron in miners with different experience of underground work showed that underground miners with less than ten years of underground work experience under conditions of intermittent hypoxia and intoxication with carbon dust have a compensatory increase in the number of erythrocytes and hemoglobin. Miners who have spent from 10 years and more doing underground work demonstrate an adaptive deficit in the resources of their organisms, which is manifested by a tendency to reduced numbers of red blood cells and hemoglobin compensated by an increase in the volume of red blood cells and the concentration of hemoglobin in them. The increase in the number of erythrocytes and hemoglobin concentration in the peripheral blood of underground miners with work experience up to 10 years is associated with an accelerated release of red blood cells from the bone marrow into the blood, which indirectly indicates the stress of the compensatory capacities of the erythron system in this group of workers. With the longer work experience the adaptive resources of the organisms are depleted, which is compensated by an increase in the «oxygen capacity of the erythrocyte» [2].

When studying the changes in the gas composition and the acid-base balance of arterialized blood, miners were found to have a decrease in the partial oxygen tension and the blood saturation with a simultaneous increase in the partial voltage of carbon dioxide against the harmful working conditions after more than ten year experience of underground work. Metabolic and hematological reactions that develop in response to changes in the gas composition of the blood have a progressive and phase character dependent on the duration of the underground work and, to a lesser extent, on the age of a person. When the gas exchange is altered, the acid-base balance in miners is maintained within the limits of normal values primarily via the lungs, hemoglobin and hydrocarbonate buffer systems and real system included in the compensatory mechanisms after 20 years of profes-

очередь, за счет легких, а также за счет включения в механизмы компенсации гемоглобиновой и гидрокарбонатной буферных систем. Не исключается, что с увеличением подземного стажа работы свыше 20 лет в механизмы компенсации включается и почечный. Все это может иметь значимое влияние на течение патологических процессов в случаях развития заболеваний и получения тяжелых травматических повреждений.

Выявлены общие закономерности изменений центральной гемодинамики у шахтеров, так полученные нами данные свидетельствуют о двух типах адаптации сердечно-сосудистой системы к вредным условиям труда в условиях шахты. При стаже до 10 лет адаптивные механизмы обусловлены, прежде всего, повышением производительности насосной функции миокарда. Сердечный тип адаптации функционально более физиологичен, но для сохранения высоких индексов сердечного выброса и ударного объема требуется хороший венозный возврат, т.е. стабильная прекардиальная нагрузка. При развитии гиповолемии (травма, кровопотеря) и снижении прекардиальной нагрузки наиболее вероятен срыв адаптации с тяжелыми нарушениями функции сердечно-сосудистой системы. Усиление работы сердца связано с большим потреблением энергии, кислорода и быстрого восстановления энергетического запаса миофибрилл. Скорость восстановления энергетического запаса миокарда у исследованного контингента снижена, о чем косвенно свидетельствует угнетение интервала ST на ЭКГ. При стаже работы от 20 лет и более — накапливается «усталость» сердечной мышцы, опережающая возрастные изменения, что проявляется отсутствием повышения производительности миокарда на физическую нагрузку во время работы. По-видимому, у данной категории горнорабочих при критических состояниях, возникающих при травматическом и геморрагическом шоке, следует проводить более осторожный подход к выбору скорости и объема трансфузионно-инфузионной терапии. У шахтеров со стажем работы более 20 лет наблюдается переход системы кровообращения на сосудистый тип адаптации с повышением тонуса симпатической системы. Поскольку данный тип адаптации менее физиологичен и может сопровождаться не только функциональными, но и морфологическими изменениями системы кровообращения, что, несомненно, может влиять на течение критических состояний, обусловленных травматическим и геморрагическим шоком [3].

При изучении функциональных изменений микроциркуляции у шахтеров было показано, что у шахтеров с увеличением стажа подземных работ происходит изменение функционального состояния микроциркуляции. Выявленные изменения сопоставимы со стадиями общего адаптационного

сional work in miners. All above significantly affect the course of pathological processes leading to development of diseases and consequences of severe traumatic injuries.

The general patterns of changes in the central hemodynamics in miners were revealed, as the data obtained showed two types of the adaptation of the cardiovascular system to harmful working conditions in the mine environment. With an experience of up to 10 years the adaptive mechanisms involve, above all, an increase in the productivity of the pump function of the myocardium. The cardiac type of adaptation is functionally more physiologic, but a good venous return (i.e. stable precardial load) is required to maintain high indices of the cardiac output and the stroke volume. With the development of hypovolemia (trauma, blood loss) and a decrease in the precardial load the adaptation is most likely to be disrupted with severe impairment of the function of the cardiovascular system. Increased cardiac performance is associated with a large consumption of energy, oxygen and a rapid recovery of the energy reserve of myofibrils. The rate of recovery of the energy reserve in the myocardium in the examined sample was reduced, which was indirectly indicated by the depression of the ST interval on the ECG. With a work experience of 20 years or more, the «fatigue» of the heart muscle accumulates that outstrips the age-related changes, which is manifested by the lack of an increase in myocardial performance associated with physical activity during work. Apparently in this category of miners a more cautious approach to the choice of rate and volume of transfusion-infusion therapy should be pursued in critical conditions arising from traumatic and hemorrhagic shock. Miners with a work experience of more than 20 years demonstrated a transition of the circulatory system to a vascular type of adaptation with an increase in the tone of the sympathetic system. This type of adaptation is less physiological and can be accompanied not only by functional but also by morphological changes in the circulatory system, which undoubtedly can influence the course of critical conditions caused by traumatic and hemorrhagic shock [3].

The study of the functional changes in microcirculation in miners showed that miners with an increase in the length of the underground work experience have changes in the functional state of the microcirculation. The revealed changes are comparable with the stages of the general adaptation syndrome. The stress stage that develops in miners with an operational experience of 1 to 9 years is characterized by a decrease in peripheral resistance and a decrease in the response of the restrictive link of microcirculation to the central and local mechanisms of the modulation of tissue blood flow. With the activation of

синдрома. Стадия напряжения, развивающаяся у шахтеров со стажем работы от 1-го до 9 лет, характеризуется снижением периферического сопротивления, снижения ответа рестриктивного звена микроциркуляции на центральные и локальные механизмы модуляции тканевого кровотока. При активизации различных компенсаторных механизмов у шахтеров, работающих во вредных условиях, от 10 до 19 лет, наступает резистивная стадия адаптационного синдрома. При стаже работы 20 и более лет, с истощением компенсаторных систем, появляются признаки дезадаптации, характеризующиеся увеличением периферического сопротивления и нарастанием шунтового кровотока [4].

Проведенное изыскание общих закономерностей изменений гемостаза и функционального состояния эндотелия у шахтеров при различном стаже подземных работ выявило, что у шахтеров со стажем работы под землей десять и более лет имеются косвенные признаки изменений функций сосудистого эндотелия, дисфункции тромбоцитов, нарушение внутреннего и активация внешнего механизмов коагуляции и фибринолиза. Для подтверждения найденных изменений функции эндотелия было проведено исследование с определением маркеров дисфункции сосудистого эндотелия у шахтеров, выявлено, что все вышеперечисленные факторы реализуются среди шахтеров уже со стажем менее 4 лет и возрастом $24,93 \pm 0,76$ лет, среди которых наблюдается выраженное снижение оксида азота. Дисфункция эндотелия — это локальная неспецифическая реакция сосудов, которая выражается дисбалансом факторов вызывающих их сужение (вазоконстрикторов) и факторов вызывающих их расширение (вазодилаторов), протромбогенных факторов. Длительное воздействие неблагоприятных условий труда оказывает негативное влияние на состояние эндотелиальной системы шахтеров-подземников. Постоянная стимуляция эндотелия стрессовыми агентами приводит к усиленной экспрессии клетками гуморальных факторов, запуская сложный патофизиологический процесс, итогом которого является эндотелиальная дисфункция. В то же время возрастные изменения, которые в норме также влияют на функциональное состояние системы эндотелия, имеют второстепенную роль в развитии эндотелиальной дисфункции у работающих шахтеров. Изменения сосудистого эндотелия с увеличением подземного стажа работы могут быть не только основными факторами в патогенезе гипертонической болезни, атеросклероза, и других сосудистых заболеваний, но и обуславливать особенности течения критических состояний у шахтеров, развивающихся вследствие тяжелых травм и заболеваний. Длительное комплексное воздействие неблагоприятных факторов работы в условиях угольной шахты приводит к гипергомоцистеинемии и прогрессирующе-

various compensatory mechanisms in miners working in harmful conditions from 10 to 19 years there is a resistive stage of the adaptation syndrome. With work experience of 20 years and more there are signs of disadaptation demonstrating the failure of compensatory systems characterized by an increase in peripheral resistance and shunt blood flow [4].

The research on the general patterns of changes in hemostasis and the functional state of the endothelium in miners with different underground work experience revealed that the miners with 10 years or more of the underground work have indirect signs of changes in the functions of the vascular endothelium, platelet dysfunction, the disrupted internal mechanism of coagulation and the activated external mechanism of coagulation and fibrinolysis. To prove the changes in endothelial function, a study was performed to determine the markers of vascular endothelial dysfunction in miners. It was revealed that all above factors were realized in miners with an experience of less than 4 years and age of 24.93 ± 0.76 years, among which there was a significant decrease in oxide nitrogen. Endothelial dysfunction represents a local nonspecific vascular response, which is expressed by an imbalance of the factors causing their constriction (vasoconstrictors) and the factors causing their expansion (vasodilators), prothrombogenic factors. The prolonged impact of unfavourable working conditions had a negative impact on the state of the endothelial system of underground miners. The constant stimulation of endothelium with stress agents resulted in the enhanced production of humoral factors by cells that triggered various complex pathways led to endothelial dysfunction. At the same time age-related changes, which normally also affect the functional state of the endothelial system, might also impact the development of endothelial dysfunction in working miners. Changes in the vascular endothelium with an increase in underground work experience can both be principle factors in the pathogenesis of hypertension, atherosclerosis and other vascular diseases and determine the specifics of critical conditions in miners that develop due to severe injuries and diseases. A long-term complex impact of unfavourable work factors in coal mine conditions leads to hyperhomocysteinemia and a progressive increase in the total amount of plasma peroxides with an increase in underground work experience. In miners who have been working for 10 years or more and have hyperhomocysteinemia the oxidated free radicals are easily developing that complicate the damaging effect of homocysteine on the vascular endothelium and represents one of the main causes of developing the endothelial dysfunction.

The use of the normalized oxidation coefficient enables the detection of oxidation-antioxidant imbalance in underground miners with the work experience of more than 10 years with moderate hyperho-

му возрастанию суммарного количества перекисей плазмы с увеличением подземного стажа работы. У шахтеров со стажем 10 и более лет с гипергомоцистеинемией развивается активация свободнорадикального окисления, которое реализует повреждающее действие гомоцистеина на сосудистый эндотелий и является одной из главных причин в развитии эндотелиальной дисфункции.

Использование нормализованного коэффициента оксидации позволяет выявлять оксидативно-антиокислительный дисбаланс у шахтеров с подземным стажем более 10 лет с умеренной гипергомоцистеинемией (ГГЦ), и свидетельствует о увеличении общей окислительной и снижении общей антиоксидантной активности.

Увеличение растворимой формы тромбомодулина в плазме крови шахтеров со стажем 10–19 лет, с гипергомоцистеинемией свидетельствует о повреждающем действии гомоцистеина на сосудистый эндотелий. Снижение тромбомодулина среди шахтеров с умеренной ГГЦ более 20 лет стажа связано с угнетением его синтеза, что ассоциировано со снижением тромборезистентности, и формированием коагуляционной формы дисфункции сосудистого эндотелия [5–7].

Основываясь на полученных данных, вторым этапом были изучены особенности течения критических состояний у шахтеров при тяжелых травматических повреждениях.

Исследовано функциональное состояние центральной гемодинамики у шахтеров с тяжелой механической травмой обнаружено, что в первые сутки в ответ на тяжелые механические повреждения у шахтеров с подземным стажем работы более 10 лет и пострадавших, не имеющих подземного стажа работы, отмечаются идентичные гемодинамические реакции. Начиная с 3-их и по 7-е сутки у шахтеров в отличие от пострадавших, не имеющих подземного стажа работы, меняется соотношение гемодинамических типов в сторону роста гиподинамических реакций. Возможной причиной отсутствия в динамике повышения показателей ударного и сердечного индексов у шахтеров в раннем посттравматическом периоде, является снижение резервных возможностей системы кровообращения, вследствие предшествующего травме длительного воздействия на организм неблагоприятных факторов производства [8].

Изучены общие закономерности нарушений микроциркуляции, так при тяжелой сочетанной травме у шахтеров с подземным стажем работ 10 и более лет происходят более грубые расстройства микроциркуляции, чем у лиц без подземного стажа работы. Индекс микроциркуляции остается сниженным более длительное время, так как компенсаторные возможности механизмов, направленных на модуляцию микрокровотока не состоятельны. Причина выявленных нарушений

homocysteinemia (ННЦ), and indicates an increase in the total oxidizing activity and a reduction of the total antioxidant activity.

An increase in the soluble form of thrombomodulin in the blood plasma of miners with an experience of 10–19 years with hyperhomocysteinemia indicates a damaging effect of homocysteine on the vascular endothelium. The reduced thrombomodulin in miners with a moderate ННЦ and over 20 years of work is linked with the inhibition of its synthesis, which is associated with a reduction of thromboresistance and the formation of a coagulation form of the vascular endothelial dysfunction [5–7].

Based on the data obtained, the second stage was focused on the study of the flow of critical states in miners with severe traumatic injuries.

The study of the functional state of central hemodynamics in miners with severe mechanical trauma showed that miners with an underground work experience of more than 10 years and those injured who do not have an underground work experience demonstrate identical hemodynamic reactions in the first day in response to severe mechanical injuries. Starting from the 3rd day and up to the 7th day miners, in contrast to the victims without an underground work experience, demonstrate changes in the ratio of hemodynamic types towards the development of hypodynamic reactions. A possible reason for the lack of an increase in stroke volume and cardiac index in miners in the early post-traumatic period is a decrease in the reserve capacity of the circulatory system as a result of the prolonged exposure to unfavourable factors of production prior to trauma [8].

General patterns of microcirculation disturbances have been studied. In case of severe combined trauma miners with an underground work record of 10 or more years have more severe microcirculation disorders than those without underground work experience. The microcirculation index remains lowered for a longer time, since the compensatory capabilities of the mechanisms aimed at modulating the microcirculation are not consistent. The cause of the found changes has multiple components and is based on both a reduction in the reserve of the cardiovascular system due to the impact of unfavourable working conditions and the duration of transportation of the affected. Dynamic monitoring of the microcirculation can help in the tactics of intensive care and in the prediction of the disease outcome, which requires further study [4, 7].

It was found that a serious combined injury in miners is associated with pronounced disturbances in gas exchange and prolonged disadaptation of the regulation of the acid-base balance in comparison with the victims who do not work in harmful conditions of production. The dynamics and severity of the revealed violations can be explained both by the duration of the victims' transportation to a speciali-

многокомпонентна и обусловлена как снижением резерва сердечно-сосудистой системы из-за воздействия неблагоприятных условий труда, так и длительностью транспортировки пострадавших. Динамическое наблюдение за состоянием микроциркуляции может помочь в тактике интенсивной терапии и прогнозировании исхода заболевания, что требует дальнейшего изучения [4, 7].

Выявлено, что тяжелая сочетанная травма у шахтеров сопровождается выраженными нарушениями газообмена и длительной дезадаптацией регуляции кислотно-основного состояния в сравнении с пострадавшими, не работающими во вредных условиях производства. Динамику и степень выраженности выявленных нарушений можно объяснить как длительностью доставки пострадавших в специализированный стационар, так и длительностью воздействия на организм шахтера комплекса вредных условий производства [9].

Проведена работа по изучению состояния центральной гемодинамики и транспорта кислорода у шахтеров при тяжелой термотравме, которая выявила, что у пострадавших без подземного стажа работы в остром периоде тяжелой термической травмы преобладает гипердинамический тип кровообращения: в 1-ые сутки у 68%, к 7-м суткам у 100% пострадавших. Доставка кислорода в 1-е сутки повышена до $800 \text{ мл/мин} \times \text{м}^2$, а к 5–7-м суткам снижается до $528 \text{ мл/мин} \times \text{м}^2$. Потребление кислорода в 1-е сутки повышено до $312 \text{ мл/мин} \times \text{м}^2$, а к 5–7-м суткам снижается до $215 \text{ мл/мин} \times \text{м}^2$. Коэффициент экстракции кислорода в 1-е сутки повышен до 39%, а к 7-м суткам остается повышенным до 43%. У шахтеров, с подземным стажем работы 10 и более лет, при тяжелой термотравме в посттравматическом периоде гипердинамический тип кровообращения сохраняется, но не у всех (в 1-е сутки у 76%, к 7-м суткам у 50% пострадавших): развивается гиподинамический тип кровообращения, который в 1-е сутки отмечен у 18% пострадавших, а к 7-м суткам — у 43%. Доставка и потребление кислорода у шахтеров с тяжелой термической травмой в 1-ые сутки повышены до $784 \text{ мл/мин} \times \text{м}^2$ и $402 \text{ мл/мин} \times \text{м}^2$ соответственно. К 5–7-м суткам доставка кислорода снижается до $422 \text{ мл/мин} \times \text{м}^2$, а потребление кислорода — до $192 \text{ мл/мин} \times \text{м}^2$. Коэффициент экстракции кислорода в 1-е сутки повышен до 51%, а к 7-м суткам остается повышенным до 53% [10].

Впервые в мире изучены особенности течения острого респираторного дистресс-синдрома у шахтеров с тяжелой сочетанной травмой, имеющих подземный стаж работы более 10 лет. Выявлены особенности в виде более длительного восстановления газообмена и механических свойств легких, у них выше процент перехода в тяжелые стадии в сравнении с пострадавшими других профессий. Полученные результаты исследо-

zed hospital, and by the duration of a miner's exposure to a set of harmful work conditions [9].

Research has been carried out on the central hemodynamics and oxygen transport in miners under severe thermal trauma, which revealed that during the acute period of severe thermal trauma the hyperdynamic type of circulation prevails in victims without the underground work experience: on Day 1 in 68% of the victims and on Day 7 in 100% of the victims. The oxygen transport was increased up to $800 \text{ ml/min} \times \text{m}^2$ on Day 1, and by Days 5–7 it decreased up to $528 \text{ ml/min} \times \text{m}^2$. The oxygen consumption in the first day increased to $312 \text{ ml/min} \times \text{m}^2$, and by Days 5–7 it decreased to $215 \text{ ml/min} \times \text{m}^2$. The coefficient of oxygen extraction on Day 1 increased to 39%, and by Day 7 it remained increased to 43%. Miners who had an underground work experience of 10 or more years demonstrate the hyperdynamic type of blood circulation with severe thermal trauma in the post-traumatic period, but not in all of the workers (in the first day in 76%, by Day 7 in 50% of the affected): the hypodynamic type of blood circulation develops, which in the first day was noted in 18% of the victims, and by the 7th day in 43%. The transport and intake of oxygen in miners with severe thermal trauma on Day 1 increased to $784 \text{ ml/min} \times \text{m}^2$ and to $402 \text{ ml/min} \times \text{m}^2$, respectively. By Days 5–7 the oxygen delivery was reduced to $422 \text{ ml/min} \times \text{m}^2$, and the oxygen consumption was reduced to $192 \text{ ml/min} \times \text{m}^2$. The coefficient of oxygen extraction on Day 1 increased to 51%, and by Day 7 it remained elevated to 53% [10].

For the first time in the world the features of the acute respiratory distress syndrome in miners with severe combined trauma with an underground work experience of more than 10 years have been studied. A longer recovery of gas exchange and of the mechanical properties of lungs has been described. There is a higher percentage of transition to severe stages compared with those affected in other occupations. The results of the study enabled an improved quality of treatment for injured miners with severe combined injury complicated by ARDS, by optimizing the methods of respiratory support through an adaptive artificial ventilation with controlled pressure and the maintenance of a given tidal volume. The respiratory support algorithm developed allowed the reduction of the ventilation duration in acute respiratory distress syndrome, of the incidence of pulmonary complications by 27.4%, and of the time spent in the resuscitation unit by miners with an underground work experience of 10 years or more [11].

The specifics of the hemostasis system in miners with severe craniocerebral trauma have been determined; miners with an underground work experience of 10 years and more with severe craniocerebral trauma develop disorders in various parts of the he-

вания позволили улучшить качество лечения пострадавших шахтеров с тяжелой сочетанной травмой, осложненной ОРДС, за счет оптимизации методов респираторной поддержки в виде адаптивного режима ИВЛ с управляемым давлением и поддержанием заданного дыхательного объема. Разработанный нами алгоритм респираторной поддержки позволил снизить длительность ИВЛ при остром респираторном дистресс-синдроме, уменьшить частоту развития легочных осложнений на 27,4% и сократить сроки пребывания в отделении реанимации шахтеров, имеющих подземный стаж работы 10 и более лет [11].

Определены особенности состояния системы гемостаза у шахтеров при тяжелой черепно-мозговой травме, так у шахтеров с подземным стажем работы 10 и более лет при тяжелой черепно-мозговой травме развиваются нарушения в различных звеньях системы гемостаза, что способствует развитию у них ДВС-синдрома. У шахтеров чаще и быстрее развиваются тяжелые его формы, при которых увеличивается частота развития интра- и экстракраниальных осложнений, чем у пострадавших, не работающих во вредных условиях производства, что в свою очередь приводит к высокой летальности. Обоснованное раннее проведение дифференцированного лечения нарушений в системе гемостаза в комплексе интенсивной терапии позволяет снизить частоту развития острых форм ДВС-синдрома, интра- и экстракраниальных осложнений, а в конечном итоге, и летальность [12].

Изучены особенности нарушения проницаемости гематоэнцефалического барьера при критических состояниях, обусловленных травмой у шахтеров. Выявлено, что у пострадавших, не работающих во вредных условиях производства, при критических состояниях, обусловленных черепно-мозговой травмой, на 1-ые сутки повышается проницаемость в направлении кровь → ЦНС. С 3-их суток проницаемость меняет свое направление на противоположное — ЦНС → кровь. В дальнейшем, становится крайне низкой (феномен «закрытия барьера»). У шахтеров с подземным стажем работы более 5 лет при тяжелой черепно-мозговой травме, изменение проницаемости гематоэнцефалического барьера имеет такую же направленность, что и у пострадавших без подземного стажа работы. При тяжелой черепно-мозговой травме у шахтеров с подземным стажем работы более 5 лет нарушения проницаемости гематоэнцефалического барьера I степени не выявляется, II степень отмечается в 11,1%, III — в 31,6% и IV — в 55,6%, тогда как у пострадавших без подземного стажа работы I степень выявляется в 15,4%, II — 34,6%, III — 23,1%, IV — 26,9%, что свидетельствует о более грубом повреждении гематоэнцефалического барьера у пострадавших шахтеров, которое способствует увеличению частоты интракраниальных

mostatic system, which contributes to the development of DIC syndrome. Miners have more frequent and more rapidly developing severe forms of the syndrome, in which the frequency of intracranial and extracranial complications increases, in comparison with those who do not work in harmful production conditions, which in turn causes high mortality. The reasoned early implementation of differentiated treatment of disorders in the hemostasis system in intensive care units enables the reduced frequency of the development of acute forms of DIC syndrome, intracranial and extracranial complications, and, finally, mortality [12].

The characteristics of the permeability of the blood-brain barrier in critical conditions due to trauma in miners have been studied. It was revealed that in victims, who do not work in harmful production conditions, in critical illness caused by craniocerebral trauma the permeability is increased on Day 1 in the direction of blood → the central nervous system. From Day 3 the permeability changes its direction to the opposite one: the central nervous system → blood. In the future, it becomes extremely low (the phenomenon of «closing the barrier»). The miners with an underground work experience of more than 5 years with severe head injury have the change in permeability of the blood-brain barrier of the same direction as that of the victims without underground work experience. In severe craniocerebral trauma in miners with an underground work experience of more than 5 years there is no disturbance of the permeability of the blood-brain barrier of the 1st degree, the 2nd degree is observed in 11.1%, the 3rd degree in 31.6%, and the fourth degree in 55.6%. In victims without an underground work experience the 1st degree is detected in 15.4%, the 2nd degree in 34.6%, the 3rd degree in 23.1%, and the fourth degree in 26.9%, which indicates a more serious damage to the blood-brain barrier in the affected miners that contributes to an increase in the incidence of intracranial pyoinflammatory complications and decreased surviving [13].

The results obtained showed that underground work makes an irreversible impact on the human body and psychology. Work under the ground results in the restructuring of the body and its functions. It turned out that even common illnesses in miners have a course somewhat different from that in people who do not work underground. A different type of respiration and circulation has been identified in miners. Moreover, more pronounced deviations from the norm were directly dependent not so much on the age of a miner, but on the length of work under the ground: the greater the underground experience, the worse the health.

The main conclusion drawn by the employees of the Regional Campus indicates that the critical conditions in miners, especially in those with a

гноино-воспалительных осложнений и повышению числа летальных исходов [13].

Полученные результаты показали, что подземная работа накладывает необратимый отпечаток на организм и психологию человека. Работа под землей ведет к перестройке организма и его функций. Оказалось, что даже обычные болезни у шахтера протекают несколько иначе, чем у людей, не работающих под землей. У шахтеров был выявлен другой тип дыхания и кровообращения. Причем более выраженные отклонения от нормы напрямую зависели не столько от возраста шахтера, сколько от стажа работы под землей, чем больше подземный стаж, тем хуже здоровье.

Основной вывод, сделанный сотрудниками Филиала, свидетельствует о том, что критические состояния шахтеров, особенно с большим подземным стажем работы, отличается от критических состояний пострадавших, не работающих во вредных условиях шахтного производства. При длительном подземном стаже работы, стрессовые условия труда способствуют развитию своих особенностей адаптации дыхания и сердечно-сосудистой системы, цитогенетических изменений в крови, особенно выраженные при подземном стаже работы 10 и более лет.

Полученные сотрудниками Филиала научные результаты были опубликованы в центральных научных журналах и материалах конференций. В Новокузнецке проводились: Всероссийская конференция «Актуальные вопросы обезбоживания и интенсивной терапии тяжелой черепно-мозговой травмы» (2003), научная конференция «Приоритетные вопросы анестезиологии и интенсивной терапии» (2004), Всероссийская конференция «Критические состояния у шахтеров при заболеваниях и техногенных катастрофах» (2005), Всероссийская научно-практическая конференция «Экстренная медицинская помощь при чрезвычайных ситуациях техногенного характера в крупном промышленном центре» (2007), региональная научно-практическая конференция «Перспективы научных исследований и их роль в развитии реаниматологии» (2008).

Филиал активно проводил постдипломное обучение врачей по специальности анестезиология-реаниматология.

Научные сотрудники Филиала, являясь членами Федерации анестезиологов-реаниматологов России и Ассоциации анестезиологов-реаниматологов Кемеровской области, ежегодно участвовали в областных и городских обществах анестезиологов-реаниматологов и выполняли значительный объем консультативной помощи в отделениях реанимации больниц городов юга Кузбасса (Прокопьевск, Киселевск, Осинники, Мыски) и больницах г. Новокузнецка.

Сотрудниками Филиала опубликовано более 700 печатных работ. По изучению особенностей

large underground work experience, differ from the critical conditions of victims who do not work in harmful mining conditions. At long underground work experience, the stressful working conditions contribute to the development of altered patterns of adaptation in breathing and cardiovascular system as well as to cytogenetic changes in blood cells. These alterations were most significant when underground work experience was continuing for 10 and more years.

The scientific results obtained by employees of the Regional Campus were published in major scientific journals and conference proceedings. In Novokuznetsk the following events took place: the All-Russian Conference Urgent Issues of Pain Management and Intensive Care for Severe Craniocerebral Trauma (2003), the Scientific Conference Priority Questions of Anesthesiology and Intensive Care (2004), the All-Russian Conference Critical Conditions in Miners with Diseases and Technogenic Disasters (2005), the All-Russian Scientific and Practical Conference Emergency Medical Assistance in Emergencies of Technogenic Nature in a Large Industrial Center (2007), and the Regional Scientific and Practical Conference Prospects of scientific research and their role in the development of resuscitation (2008).

The Regional Campus has had extensive courses in post-graduate training for doctors anaesthesiology and intensive care.

The research staff of the Regional Campus as members of the Federation of Anaesthesiologists and Reanimatologists of Russia and the Association of Anaesthesiologists and Reanimatologists of the Kemerovo Region have annually participated in regional and city societies of anesthesiologists and reanimatologists and performed a significant amount of counseling in intensive care units of hospitals in towns in the south of Kuzbass (Prokopyevsk, Kiselevsk, Osinniki and Myski) and in Novokuznetsk hospitals.

More than 700 publications by employees of the Regional Campus have been published. There have been the publications of the results in 74 scientific papers on critical illness in miners, including 66 papers in peer-reviewed journals and 2 papers in international journals. The results of the research have been presented and published in the materials of scientific conferences both nationally and internationally.

Fifteen collections of academic papers and materials of scientific conferences were published. Seven monographs have been published. 59 patents of the Russian Federation for inventions were granted. The employees of the Regional Campus had defended eight DSc theses and 38 candidate dissertations. Two DSc theses and five PhD dissertations were defended using the study material obtained when clinically observing the miners.

течения критических состояний у шахтеров опубликовано 74 научные работы, из них 66 работ в рецензируемых журналах, 2 — в зарубежной печати. Результаты исследований доложены и опубликованы в материалах научных конференций различного уровня как в России, так и за рубежом.

Выпущено 15 сборников научных трудов и материалов научных конференций. Опубликовано 7 монографий. Получено 59 патентов РФ на изобретения. Сотрудниками Филиала защищены: 8 докторских и 38 кандидатских диссертаций. По шахтерской тематике защищено 2 докторские и 5 кандидатских диссертаций.

Литература

1. Чурляев Ю.А., Киселев В.Н., Проничев Е.Ю., Чеченин М.Г., Кан Я.А. Функциональные особенности внешнего дыхания у шахтеров. *Общая реаниматология*. 2007; 3 (2): 5–9. DOI: 10.15360/1813-9779-2007-2-66-68
2. Чурляев Ю.А., Романов А.А., Дантиггер Д.Г., Суржикова Г.С., Кан С.Л., Лукашев К.В., Айкина Т.П. Изменение эритронов у шахтеров-подземников при различном стаже подземных работ. *Общая реаниматология*. 2012; 8 (6): 47–51. DOI: 10.15360/1813-9779-2012-6-47
3. Вартанян А.Р., Кондранин Г.В., Будаев А.В., Вялов Д.В., Чурляев Ю.А. Функциональные изменения гемодинамики у шахтеров. *Общая реаниматология*. 2006; 2 (1): 29–31. DOI: 10.15360/1813-9779-2006-1-29-31
4. Золоева О.С., Быкова Е.В., Вартанян А.Р., Кан С.Л., Редкокаша Л.Ю., Чурляев Ю.А., Григорьев Е.В. Функциональные изменения микроциркуляции у шахтеров в зависимости от стажа подземных работ. *Общая реаниматология*. 2011; 7 (5): 10–14. DOI: 10.15360/1813-9779-2011-5-10
5. Екимовских А.В., Дантиггер Д.Г., Чурляев Ю.А., Епифанцева Н.Н., Херингсон Л.Г., Золоева О.С., Быкова Е.В., Редкокаша Л.Ю. Содержание маркеров дисфункции сосудистого эндотелия у шахтеров. *Политравма*. 2012; 1: 59–64.
6. Золоева О.С., Чурляев Ю.А., Екимовских А.В., Кан С.Л., Косовских А.А., Дантиггер Д.Г. Особенности формирования эндотелиальной дисфункции у шахтеров – подземников. *Медицина в Кузбассе*. 2012; 4: 26–30.
7. Чурляев Ю.А., Кан Я.А., Вартанян А.Р., Кан С.Л., Махалин А.В., Киселев В.Н. Изменения гомеостаза у шахтеров в зависимости от стажа подземной работы. Мат-лы Российско-испанского симпозиума «Жизнеобеспечение при критических состояниях». *Общая реаниматология*. 2011; 7 (2): 85–86. DOI: 10.15360/1813-9779-2011-2-71
8. Комаров П.Д., Мороз В.В., Чурляев Ю.А., Редкокаша Л.Ю., Мартыненко В.Я., Вартанян А.Р., Махалин А.В. Гемодинамика у шахтеров с тяжелой механической травмой. *Общая реаниматология*. 2007; 3 (4): 7–10. DOI: 10.15360/1813-9779-2007-4-7-10
9. Мороз В.В., Чурляев Ю.А., Киселев В.В., Ситников П.Г., Редкокаша Л.Ю. Особенности газообмена и механических свойств легких у шахтеров при тяжелой сочетанной травме. *Общая реаниматология*. 2007; 3 (5–6): 10–13. DOI: 10.15360/1813-9779-2007-6-10-13
10. Мороз В.В., Чурляев Ю.А., Шерстобитов А.В., Мартыненко В.Я., Редкокаша Л.Ю., Ситников П.Г., Колышкина Н.В. Функциональное состояние центральной гемодинамики у шахтеров при тяжелой термотравме. *Общая реаниматология*. 2008; 4 (4): 5–8. DOI: 10.15360/1813-9779-2008-4-5
11. Мороз В.В., Чурляев Ю.А., Кан С.Л. Особенности течения критических состояний у шахтеров. *Общая реаниматология*. 2012; 8 (4): 88–93. DOI: 10.15360/1813-9779-2012-4-88
12. Ситников П.Г., Филимонов С.Н., Чурляев Ю.А. Состояние системы гемостаза у шахтеров при критических состояниях, обусловленных черепно-мозговой травмой. *Общая реаниматология*. 2005; 1 (1): 34–37. DOI: 10.15360/1813-9779-2005-1-34-37
13. Никифорова Н.В., Чурляев Ю.А., Кан С.Л., Архипова С.В., Романова Т.В. Оценка функций гематоэнцефалического барьера при критических состояниях у пострадавших с черепно-мозговой травмой. *Анестезиология и реаниматология*. 2004; 4: 52–54. PMID: 15468559

Поступила 31.07.17

Research results of the Regional Campus have been awarded by diplomas of all-Russian medical exhibitions. The employees have been awarded by diplomas of the Administration of the Kemerovo region and the Novokuznetsk city.

Работы, вышедшие из стен филиала удостоены дипломов Всероссийских медицинских выставок, его сотрудники награждены грамотами Администрации Кемеровской области и г. Новокузнецка.

References

1. Churlyayev Yu.A., Kiselev V.N., Pronichev E.Yu., Chechenin M.G., Kan Ya. A. Functional features of external respiration in miners. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2007; 3 (2): 5–9. DOI: 10.15360/1813-9779-2007-2-66-68. [In Russ., In Engl.]
2. Churlyayev Yu.A., Romanov A.N., Dantsiger D.G., Surzhikova G.S., Kan S.L., Lukashev K.V., Aikina T.P. Erythron changes in miners with a different length of underground work. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2012; 8 (6): 47–51. DOI: 10.15360/1813-9779-2012-6-47. [In Russ., In Engl.]
3. Vartanyan A.R., Kondranin G.V., Budayev A.V., Vylov D.V., Churlyayev Yu.A. Hemodynamic functional changes in Miners. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2006; 2 (1): 29–31. DOI: 10.15360/1813-9779-2006-1-29-31. [In Russ., In Engl.]
4. Zoloyeva O.S., Bykova E.V., Vartanyan A.R., Kan S.L., Redkokasha L.Yu., Churlyayev Yu.A., Grigoryev E.V. Functional changes in microcirculation in miners in relation to the length of underground work. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2011; 7 (5): 10–14. DOI: 10.15360/1813-9779-2011-5-10. [In Russ., In Engl.]
5. Ekimovskikh A.V., Dantsiger D.G., Churlyayev Yu.A., Epifantseva N.N., Kheringson L.G., Zoloyeva O.S., Bykova E.V., Redkokasha L.Yu. Contents of markers of dysfunction of vascular endothelium in miners. *Politramma*. 2012; 1: 59–64. [In Russ.]
6. Zoloyeva O.S., Churlyayev Yu.A., Ekimovskikh A.V., Kan S.L., Kosovskikh A.A., Dantsiger D.G. Characteristics of endothelial dysfunction in coal miners. *Meditina v Kuzbasse*. 2012; 4: 26–30. [In Russ.]
7. Churlyayev Yu.A., Kan Ya.A., Vartanyan A.R., Kan S.L., Makhalin A.V., Kiselev V.N. Hemostasis in miners in accordance with experience of underground work. Proceedings of the Russia-Spain Symposium on Life Support in Critical States. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2011; 7 (2): 85–86. DOI: 10.15360/1813-9779-2011-2-71. [In Russ., In Engl.]
8. Komarov P.D., Moroz V.V., Churlyayev Yu.A., Redkokasha L.Yu., Martynenko V.Ya., Vartanyan A.R., Makhalin A.V. Hemodynamics in miners with severe mechanical injury. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2007; 3 (4): 7–10. DOI: 10.15360/1813-9779-2007-4-7-10. [In Russ., In Engl.]
9. Moroz V.V., Churlyayev Yu.A., Kiselev V.N., Sitnikov P.G., Redkokasha L.Yu. Gas exchange and mechanical properties of the lung in miners with severe concomitant injury. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2007; 3 (5–6): 10–13. DOI: 10.15360/1813-9779-2007-6-10-13. [In Russ., In Engl.]
10. Moroz V.V., Churlyayev Yu.A., Sherstobitov A.V., Martynenko V.Ya., Redkokasha L.Yu., Sitnikov P.G., Kolyshkina N.V. Central hemodynamic function in miners with thermal injury. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2008; 4 (4): 5–8. DOI: 10.15360/1813-9779-2008-4-5. [In Russ., In Engl.]
11. Moroz V.V., Churlyayev Yu.A., Kan S.L. The specific features of the course of critical conditions in miners. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2012; 8 (4): 88–93. DOI: 10.15360/1813-9779-2012-4-88. [In Russ., In Engl.]
12. Sitnikov P.I., Filimonov S.N., Churlyayev Yu.A. The hemostatic system in miners with brain injury-induced emergencies. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2005; 1 (1): 34–37. DOI: 10.15360/1813-9779-2005-1-34-37. [In Russ., In Engl.]
13. Nikiiforova N.V., Churlyayev Yu.A., Kan S.L., Arkhipova S.V., Romanova T.V. Evaluation of the function of the hematoencephalic barrier in victims with craniocerebral trauma in critical state. *Anesteziologiya i Reanimatologiya*. 2004; 4: 52–54. PMID: 15468559. [In Russ.]

Received 31.07.17

Гендерные особенности постреанимационных изменений экспрессии мозгового нейротрофического фактора (BDNF)

М. Ш. Аврущенко, И. В. Острова, А. В. Гречко

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

Gender Peculiarities of Postresuscitation in the Expression of Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF)

Maria Sh. Avrushchenko, Irina V. Ostrova, Andrey V. Grechko

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

Цель: выявить половые особенности постреанимационных сдвигов экспрессии BDNF и сопряженных с ними процессов гибели нейронов.

Материалы и методы. На разных сроках постреанимационного периода (1-, 4-, 7-, 14-е сутки) исследовали состояние высокочувствительных к гипоксии нейрональных популяций (пирамидные нейроны гиппокампа и клетки Пуркинье мозжечка) у белых половозрелых самок крыс, перенесших 10-минутную остановку системного кровообращения (перезажатие сосудистого пучка сердца). Контролем служили ложнопериоперированные животные. Проводили иммуногистохимическое выявление BDNF-иммунореактивных нейронов с последующим определением оптической плотности, числа клеток с разным уровнем экспрессии BDNF и общего числа нейронов на 1 мм длины их слоя. В работе использованы системы анализа изображений (компьютер Intel, микроскоп Olympus BX-41, программы ImadageScopeM, ImageJ 1,48v, Excel 2007). Статистическую обработку данных проводили в программе Statistica 7.0. с использованием критериев λ Колмогорова-Смирнова, U-критерия Манна-Уитни и t-критерия Стьюдента.

Результаты. Установлена динамика постреанимационных сдвигов BDNF-иммунореактивности высокочувствительных к гипоксии нейрональных популяций. Показано, что в популяции клеток Пуркинье у самок происходят изменения уровня экспрессии BDNF, что сопровождается гибелью нейронов. Выявлено, что эти сдвиги развиваются позднее, чем у самцов — к 7-м суткам постреанимационного периода. Существенно, что гибели подвергаются только BDNF-негативные и слабopозитивные нервные клетки. В популяции пирамидных клеток гиппокампа у самок, в отличие от самцов, не происходило изменений BDNF-иммунореактивности, и процесс гибели нейронов не развивался.

Заключение. Выявлены гендерные особенности развития постреанимационных сдвигов уровня экспрессии BDNF и сопряженных с ними процессов гибели нейронов. Показано, что после остановки сердца одинаковой длительности у самок постреанимационные сдвиги уровня экспрессии BDNF и процессы гибели нейронов выражены меньше, чем у самцов. В то же время, у животных обоего пола проявляются общие закономерности постреанимационных изменений мозга, свидетельствующие о взаимосвязи уровня экспрессии BDNF в нейронах с их устойчивостью к ишемии-реперфузии. Обсуждаются гендерные особенности повреждения мозга и их значение для понимания механизмов развития постгипоксических энцефалопатий.

Ключевые слова: мозговой нейротрофический фактор (BDNF); гендерные особенности; постреанимационный период; гибель нейронов; пирамидные клетки; гиппокамп; клетки Пуркинье; мозжечок; иммуногистохимия; оптическая плотность; морфометрический анализ

Purpose: to identify gender peculiarities of postresuscitation shifts in BDNF expression and neuronal death.

Materials and Methods. At different points of the postresuscitation period (days 1-, 4-, 7-, and 14), the condition of highly sensitive to hypoxia neuronal populations (pyramidal neurons of hippocampus and Purkinje cells of cerebellum) were studied in white mature female rats exposed to a 10-minute stop of systemic blood circulation (compression of vascular fascicle of the heart). Sham operated animals were used as the control. Immunohistochemical detection of BDNF-immunoreactive neurons followed with determination of optical density, number of cells with different levels of BDNF expression, and total count of neurons per 1 mm of the length of their layer was carried out. The work was done using the image analysis system (computer Intel, microscope Olympus BX-41, software ImadageScopeM, ImageJ 1,48v, Excel 2007). Statistic processing of data

Адрес для корреспонденции:

Мария Аврущенко
E-mail: maria_avr@mail.ru

Correspondence to:

Maria Avrushchenko
E-mail: maria_avr@mail.ru

was performed with the aid of Statistica 7.0 using Kolmogorov-Smirnov λ test, Mann-Whitney U test, and Student's t-test.

Results. The dynamics of postresuscitation shifts in BDNF-immunoreactivity of neuronal populations highly sensitive to hypoxia was studied in rats. Purkinje cells population in tissue slides from brain specimens harvested from female rats the alterations in BDNF expression became evident. This pattern was accompanied by the death of neurons. Those shifts in female animals were found to develop later than in male rats — by day 7 of the postresuscitation. Only BDNF-negative and BDNF-weakly positive neurons not survived postresuscitation. In the population of pyramidal cells of hippocampus in females, in contrast to males, there were no quantitative changes in BDNF molecules as revealed by immunohistochemistry and neuronal death process did not develop.

Conclusion. Gender peculiarities in the development of postresuscitation shifts in BDNF expression and associated therewith death of neurons were revealed. It was shown that after cardiac arrest of the same duration, the postresuscitation shifts in BDNF expression and neuronal death manifested mostly in males compared to females. At the same time, animals of both genders demonstrate common postresuscitation brain alterations evidencing connection between the level of BDNF expression in neurons and their resistance to ischemia-reperfusion. Gender-specific patterns of brain damage and their importance for understanding the mechanisms of post-hypoxic encephalopathies are discussed.

Keywords: brain-derived neurotrophic factor (BDNF); gender peculiarities; postresuscitation period; neuronal death; pyramidal cells; hippocampus; Purkinje cells; cerebellum; immunohistochemistry; optic density; morphometric study

DOI:10.15360/1813-9779-2017-5-44-57

Введение

Проблема полового диморфизма развития, течения и исхода критических состояний вызывает у исследователей большой интерес. Этот феномен связывают обычно с действием женских половых гормонов — эстрогена и прогестерона [1–5]. Действительно, клинические наблюдения свидетельствуют о том, что женщины более устойчивы к ишемии, чем мужчины. Однако существуют факты, указывающие, что наличие полового диморфизма ишемического повреждения мозга обусловлено не только половыми гормонами. Так, гендерные различия устойчивости к ишемии проявляются и в период менопаузы, а также в раннем онтогенезе [2, 4, 6–8]. Механизмы полового диморфизма ишемического повреждения мозга пока изучены недостаточно. Однако уже ясно, что имеются как гормонозависимые, так и гормонезависимые факторы, обуславливающие этот феномен. Исследование молекулярных и клеточных механизмов, лежащих в основе полового диморфизма ишемического повреждения мозга, — необходимый этап для разработки эффективной терапии постгипоксических энцефалопатий [1, 2, 5–7, 9].

Мозговой нейротрофический фактор (BDNF) играет важную роль в нейропротекции и восстановлении функции мозга при различных патологических состояниях [10–17]. Ранее нами было проведено исследование постреанимационных изменений уровня экспрессии BDNF в высоко чувствительных к гипоксии нейрональных популяциях у самцов [18]. При этом выявлена взаимосвязь между сдвигами экспрессии BDNF и постреанимационной гибелью нейронов. Учитывая проблему полового диморфизма ишемического повреждения мозга, целесообразно исследовать

Introduction

The problem of sexual dimorphism of development, course and outcome of critical illness arouses much interest among researchers. This phenomenon is commonly linked to the effects of sex hormones, estrogen and progesterone [1–5]. Indeed, clinical observations evidence that women are more resistant to ischemia than men are. However, there are facts indicating that existence of sexual dimorphism of ischemic brain damage is caused not only by sex hormones. For instance, gender differences of resistance to ischemia manifest also during menopause and early ontogenesis [2, 4, 6–8]. The mechanisms of sexual dimorphism of ischemic brain damage have not been thoroughly clarified. However, it has become evident that there are both hormone-dependent and hormone-independent factors explaining this phenomenon. Investigation of molecular and cellular mechanisms underlying sexual dimorphism of ischemic brain damage is a necessary step to developing an effective therapy for post-hypoxic encephalopathies [1, 2, 5–7, 9].

Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) impacts the neuroprotection and brain function recovery during various pathological conditions [10–17]. Earlier we studied postresuscitation changes of BDNF expression in highly sensitive to hypoxia neuronal populations in males [18]. That study revealed relation between BDNF expression shifts and postresuscitation death of neurons. Considering the problem of sexual dimorphism of ischemic brain damage, it would be useful to study the dynamics of postresuscitation BDNF expression shifts in the same neuronal populations in females after cardiac arrest of the same duration. This study would determine whether the neuroprotective action of BDNF depends on a gender.

довать динамику постреанимационных сдвигов экспрессии BDNF в этих же нейрональных популяциях у самок, перенесших остановку сердца такой же длительности. Это даст возможность оценить, как реализуются нейропротективные свойства BDNF в зависимости от половой принадлежности организма.

Материал и методы

Исследовали мозг 25 белых нелинейных самок крыс массой 190–250 г, перенесших 10-минутную остановку сердца (внутригрудное пережатие сосудистого пучка сердца) [19]. Через 1, 4, 7 и 14 дней после реанимации (непрямой массаж сердца в сочетании с искусственной вентиляцией легких воздухом в режиме гипервентиляции аппаратом «Animal Respirator» фирмы «SMT Geratehandel» с внутритрахеальным введением раствора адреналина в дозе 0,1 мг/кг) животных выводили из эксперимента декапитацией под наркозом (по 5–7 животных на каждый срок постреанимационного периода). Контролем служили ложнооперированные крысы того же пола ($n=10$). Эксперименты проводились согласно рекомендациям Этического комитета ФГБНУ НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приказ Минздрава СССР №755 от 12.08.1977).

Исследовались постреанимационные изменения высокочувствительных к гипоксии нейрональных популяций — клеток Пуркинье коры мозжечка и пирамидных нейронов гиппокампа (сектор СА4). BDNF выявляли иммуногистохимически непрямым пероксидазно-антипероксидазным методом с использованием поликлональных антител к BDNF (разведение 1:50) (Santa Cruz, USA) и визуализирующей системы LSAB Kit (DAKO, Glostrup, Denmark). Иммуногистохимическую реакцию контролировали инкубацией срезов со всеми реагентами кроме первичных антител. Интенсивность экспрессии BDNF в цитоплазме нейронов оценивали с помощью программы анализа изображений ImageJ 1.48v. Определяли «среднее значение серого» (Mean Gray Value) и рассчитывали оптическую плотность (в условных единицах — у.е.) по формуле: $OD = \log_{10} (255 / \text{Mean Gray Value})$. Для визуальной оценки интенсивности окраски срезы докрашивали гематоксилином (рис. 1). На основании анализа гистограмм распределения нейронов по их оптической плотности и визуальной оценки выделяли соответствующие ранги для BDNF-негативных (BDNF⁻), слабо — и сильнопозитивных (BDNF⁺ и BDNF⁺⁺) нейронов, в соответствии с тем, как было описано ранее [18].

В популяции клеток Пуркинье мозжечка ранги оптической плотности составили: для BDNF-негативных $OD < 0,25$ у.е.; для слабопозитивных $0,25 < OD \leq 0,31$ у.е. и для сильнопозитивных нейронов $OD > 0,31$ у.е. В популяции пирамидных клеток гиппокампа (сектор СА4): ранги оптической плотности составили: для BDNF-негативных $OD < 0,24$ у.е.; для слабопозитивных $0,24 \leq OD < 0,28$ у.е. и для сильнопозитивных нейронов $OD \geq 0,28$ у.е. Определяли общую плотность нейрональной популяции, а также число клеток с разным

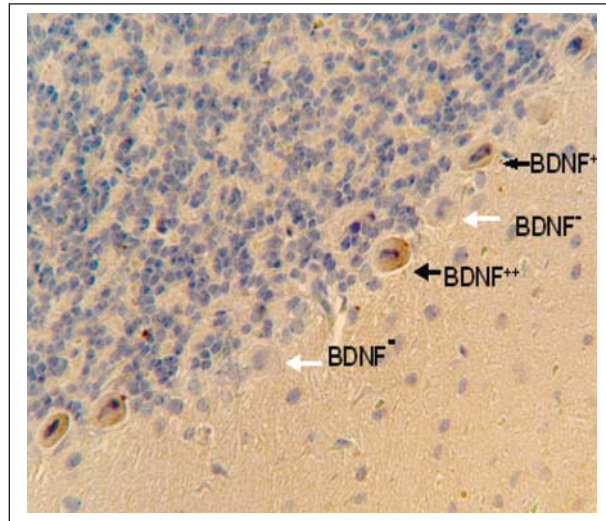


Рис. 1. Клетки Пуркинье с разным уровнем экспрессии BDNF.

Fig. 1. Purkinje cells with different levels of BDNF expression.

Note. Indirect peroxidase-antiperoxidase method, hematoxylin staining, $\times 400$.

White arrow — BDNF⁻ neurons; black thin arrow — BDNF⁺ neurons; black thick arrow — BDNF⁺⁺ neurons.

Примечание. Непрямой пероксидазно-антипероксидазный метод, докраска гематоксилином, $\times 400$. Белая стрелка — BDNF⁻ нейроны; черная тонкая стрелка — BDNF⁺ нейроны; черная толстая стрелка — BDNF⁺⁺ нейроны.

Materials and Methods

Twenty five outbred white female rats weighting 190–250 g were subjected to 10-minute cardiac arrest (intrathoracic compression of vascular fascicle of the heart) according to described protocol [19]. Resuscitation measures were provided by closed-chest cardiac massage combined with artificial lung ventilation with air in the hyper-ventilation mode using Animal Respirator apparatus SMT Geratehandel accompanied by intratracheal administration of adrenalin solution at a dose of 0.1mg/kg. In 1, 4, 7, and 14 days after the procedures, the animals were removed from the experiment by decapitation under anesthesia (5–7 animals per each end point of the postresuscitation period). Sham operated animals were used as the control ($n=10$). The experiments were carried out according to the recommendations of the Ethics and Animal Care and Use Committee of V. A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology, Federal Research and Clinical Center of Reanimatology and Rehabilitology, based on the «Rules of Performing Work Using Experimental Animals» (Order of the USSR Health Ministry No.755 dated 12.08.1977) and internationally approved documents.

Postresuscitation changes of highly sensitive to hypoxia neuronal populations — Purkinje cells of the cerebellum cortex and pyramidal neurons of hippocampus (sector CA4) were studied. BDNF was detected by the immunohistochemical technique using the indirect peroxidase-antiperoxidase method with utilization of polyclonal antibodies to BDNF (dilution 1:50) (Santa Cruz, USA) and visualization system LSAB Kit (DAKO, Glostrup, Denmark). The immunohistochemical response was checked by incu-

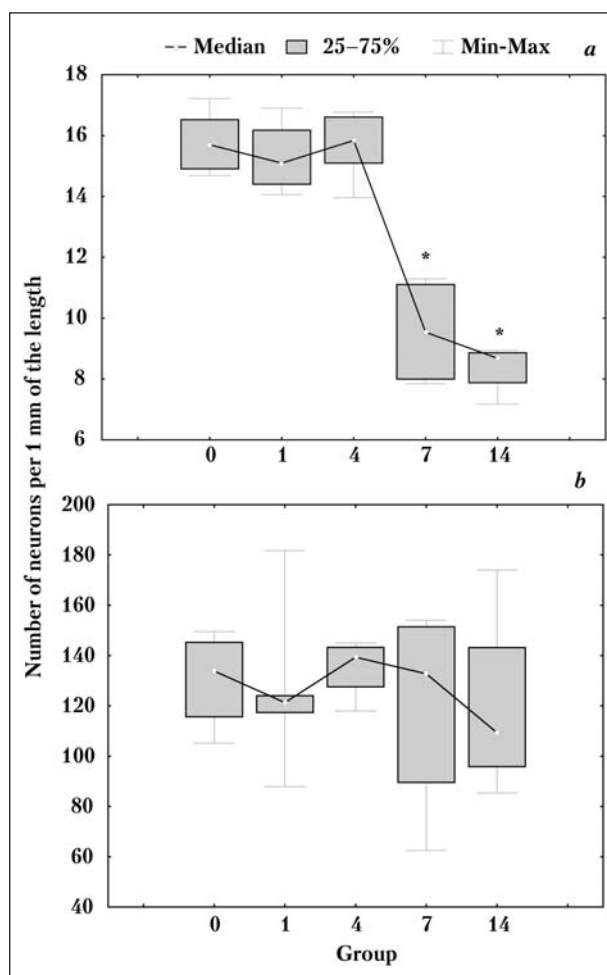


Рис. 2. Динамика изменения общей плотности популяции клеток Пуркинье (а) и пирамидных клеток гиппокампа (б) самок в постреанимационном периоде после остановки системного кровообращения.

Fig. 2. Dynamics of changes in the total density of the Purkinje cells (a) and pyramidal cells of hippocampus (b) of females in postresuscitative period after cardiac arrest.

Note. a: * — $P_u < 0.025$ versus control (Group 0).

Примечание. Для рис. 2–4: Number of neurons per 1 mm the length — число нейронов на 1 мм длины. а: * — $p_u < 0,025$ по сравнению с контролем (группа 0).

уровнем экспрессии BDNF на 1 мм длины их слоя. В работе использовали системы анализа изображений (компьютер Intel, микроскоп Olympus BX-41, программы ImageScopeM и ImageJ 1,48v. MS Excel 2007). Статистическую обработку данных проводили с помощью критерия λ Колмогорова-Смирнова, U-критерия Манна-Уитни и t-критерия Стьюдента в программе Statistica 7.0.

Результаты и обсуждение

Исследование клеток Пуркинье мозжечка показало, что на 1-е и 4-е сутки постреанимационного периода общая плотность этой нейрональной популяции соответствует контрольному уровню (рис. 2, а), т.е. гибели нейронов не происходит. Выпадение нейронов развивается к 7-м

бation of slices with all reagents except for primary antibodies. The intensity of BDNF expression in neurons' cytoplasm was evaluated with the help of image analysis software ImageJ 1,48v. The Mean Gray Value was determined and optic density was calculated (in conventional units — c.u.) according to formula: $OD = \log_{10} (255 / \text{Mean Gray Value})$. For visual assessment of color intensity, slices were stained with hematoxylin (Fig. 1). Based on the analysis of histograms of neurons distribution by their optic density and visual assessment, respective ranks were established for BDNF-negative (BDNF⁻), weakly — and strongly positive (BDNF⁺ and BDNF⁺⁺) neurons, as described earlier [18].

In the population of Purkinje cells of cerebellum, the optic density (OD) means were as follows: $OD < 0.25$ c.u. (BDNF-negative cells); $0.25 < OD \leq 0.31$ c.u., (weakly positive cells); $OD > 0.31$ c.u. (strongly positive cells). In the population of pyramidal cells of hippocampus (sector CA4) the optic density means for BDNF-negative cells was $OD < 0.24$ c.u.; for weakly positive cells — $0.24 \leq OD < 0.28$ c.u., and for strongly positive neurons — $OD \geq 0.28$ c.u. The total density of the neuronal population was determined as well as the number of cells with different level of BDNF expression per 1 mm of the length of the cell layer. The work was performed using the image analysis system (microscope Olympus BX-41, software ImageScopeM and ImageJ 1,48v.). Statistic processing of data was performed by Statistica 7.0. software using Kolmogorov-Smirnov λ test, Mann-Whitney U test, and Student's t-test.

Results and Discussion

The investigation of Purkinje cells of cerebellum has shown that on days 1 and 4 of the postresuscitation period, the total density of this neuronal population corresponds to the control level (Fig. 2, a), i.e. death of neurons does not take place. Significant drop in neuron count occurred by day 7 after resuscitation, as evidenced by a considerable decrease of the total density of the population compared to control (by 39.2%) (Fig. 2, a). Later on, the cell dropout process does not progress.

It has been established that on day 1 and 4 postresuscitation, the number of BDNF-negative neurons as well as the number of weakly and strongly positive cells did not change. However, by day 7 the number of BDNF⁻ and BDNF⁺ neurons decreased compared to control (Fig. 3, a). Importantly, the number of strongly positive (BDNF⁺⁺) cells corresponded to the control level (Fig. 3, a). Later on day 14 of the postresuscitation period the detected changes persisted. The data demonstrate that at the stage of neuronal death (day 7 after resuscitation) only numbers of BDNF-negative and BDNF-weakly positive cells were decreased. Hence, it can be assumed that neurons with low expression of BDNF express increased propensity to die.

In a sector CA4 of hippocampus of female rats, at all endpoints of the postresuscitation period studied, the total density of pyramidal cells population

суткам после реанимации. Об этом свидетельствует существенное снижение общей плотности популяции в сравнении с контролем (на 39,2%) (рис. 2, *a*). В дальнейшем процесс выпадения клеток не прогрессирует.

Установлено, что на 1-е и 4-е сутки постреанимационного периода число BDNF-негативных нейронов, а также число слабо- и сильнопозитивных клеток не изменялось. Однако к 7-м суткам происходило снижение числа BDNF⁻ и BDNF⁺ нейронов в сравнении с контролем (рис. 3, *a*). Существенно, что при этом число сильнопозитивных (BDNF⁺⁺) клеток соответствовало контрольному уровню (рис. 3, *a*). В дальнейшем (14-е сутки постреанимационного периода) выявленные изменения сохранялись. Полученные данные свидетельствуют о том, что на этапе гибели нейронов (7-е сутки после реанимации) происходит снижение числа только BDNF-негативных и слабопозитивных клеток. Следовательно, можно полагать, что именно эти нейроны подвергаются гибели.

В секторе CA4 гиппокампа у самок на всех исследованных сроках постреанимационного периода общая плотность популяции пирамидных клеток соответствовала контролю (рис. 2, *b*), что свидетельствует об отсутствии гибели нейронов. Число нейронов с разным уровнем экспрессии BDNF также не изменялось (рис. 3, *b*).

Результаты настоящей работы свидетельствуют о том, что в популяции клеток Пуркинье у реанимированных самок к 7-м суткам постреанимационного периода развивается процесс гибели нейронов. Существенно, что на этапе уменьшения общей плотности популяции снижается число только BDNF⁻ и BDNF⁺ клеток (рис. 4, *a*). Следовательно, можно полагать, что гибели подвергаются только неэкспрессирующие или слабоэкспрессирующие BDNF нейроны.

Согласно полученным нами ранее данным, у самцов, перенесших остановку сердца такой же длительности, в популяции клеток Пуркинье происходят аналогичные постреанимационные сдвиги [18]. Однако они возникают раньше, чем у самок — уже к 4-м суткам после реанимации. Интересно, что изменения экспрессии и других эндогенных нейропротективных факторов — глиального нейротрофического фактора GDNF и глюкозрегулируемого белка GRP78 — также развивались у реанимированных самцов раньше, чем у самок, и сопровождалась гибелью нейронов [20–22].

Следует отметить, что выявленные в популяции клеток Пуркинье у животных разного пола постреанимационные изменения носили односторонний характер, хотя и отличались по динамике. При этом и у самцов, и у самок гибели подвергались только неэкспрессирующие и слабоэкспрессирующие BDNF нейроны. Это согласуется с развиваемым нами положением о значе-

corresponded to control (Fig. 2, *b*). Data demonstrate the absence of death of neurons within this region of the brain. The number of neurons with different level of BDNF expression did not change either (Fig. 3, *b*).

The results show that in the population of Purkinje cells in resuscitated female rats, by day 7 of the postresuscitation period, the neuron death process develops. Importantly, at the stage of decrease of the total density of population, only the number of BDNF⁻ and BDNF⁺ cells decreases (Fig. 4, *a*). Hence, it can be assumed, that only non-expressing or weakly expressing BDNF neurons suffer death.

According to our data obtained earlier, in male rats subjected to cardiac arrest of the same duration, similar post-resuscitation shifts take place in the population of Purkinje cells [18]. However, they occur earlier than in female rats specifically, by day 4 after resuscitation. Interestingly, changes in the expression and other endogenous neuroprotective factors — glial cells derived neurotrophic factor GDNF and glucose-regulated protein GRP78 — developed also in resuscitated male rats earlier than in female rats and was accompanied by the death of neurons [20–22].

It should be noted that in the population of Purkinje cells in animals of different gender, the postresuscitation changes exhibited an unidirectional nature, though their dynamics was different. Both in male and in female rats, only non-expressing or weakly expressing BDNF neurons suffered to death. This is consistent with our concept on role of the BDNF level in the developing stability of neurons following ischemia-reperfusion [23, 18].

Interrelation between BDNF level shifts and the process of postresuscitation death of neurons is supported by current study of the population of pyramidal cells of hippocampus located within the sector CA4. According to the present results, in female rats within this neuronal population, no reliable shifts in numbers of neurons with different BDNF-specific immunoreactivity at any stage of the postresuscitation period were found. In this instance, death of neurons does not take place (Fig. 4, *b*).

Other changes were found by us earlier in the population of pyramidal cells of hippocampus sector CA4 in male rats subjected to cardiac arrest of the same duration [18]. In that case, postresuscitation shifts in BDNF expression and the neuronal death process developed. As early as day 4 after resuscitation, with the total density of the population being retained, its BDNF-specific immunoreactivity decreased (some strongly positive cells 'moved' into the category of weakly positive). Later, by day 7 of the postresuscitation period, the process of neuronal death developed (the

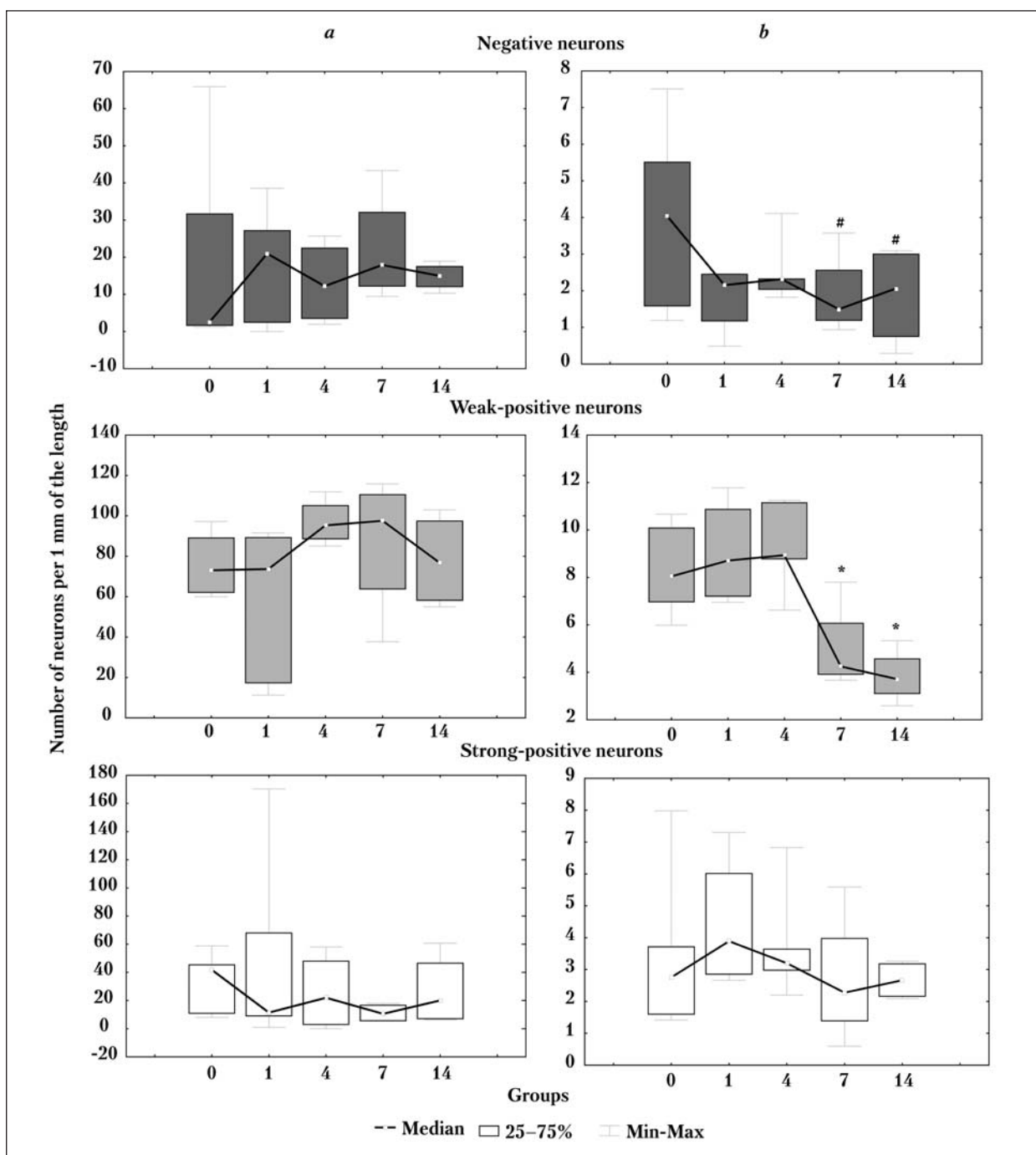


Рис. 3. Число нейронов с разным уровнем экспрессии BDNF в популяции клеток Пуркинье (а) и пирамидных клеток гиппокампа (b) на разных сроках постреанимационного периода.

Fig. 3. The number of neurons with different levels of BDNF expression in Purkinje cell population (a) and the pyramidal cells of the hippocampus (b) in postresuscitative period.

Note. a: * — $P_u < 0.05$; # — $P_u < 0.1$ versus control (Group 0).

Примечание. а: * — $p_u < 0,05$; # — $p_u < 0,1$ в сравнении с контролем (группа 0).

нии уровня BDNF в формировании устойчивости нейронов после ишемии-реперфузии [23, 18].

Взаимосвязь сдвигов уровня BDNF с процессом постреанимационной гибели нейронов подтверждается и при исследовании популяции пирамидных клеток сектора СА4 гиппокампа. Согласно результатам настоящей работы, у самок в этой

total density of the population decreased by 38.5%). Significantly, at that stage, only the number of BDNF-negative and weakly positive cells decreased.

It would be interesting to compare the BDNF expression shifts we have found in the population of pyramidal cells of hippocampus sector CA4 versus

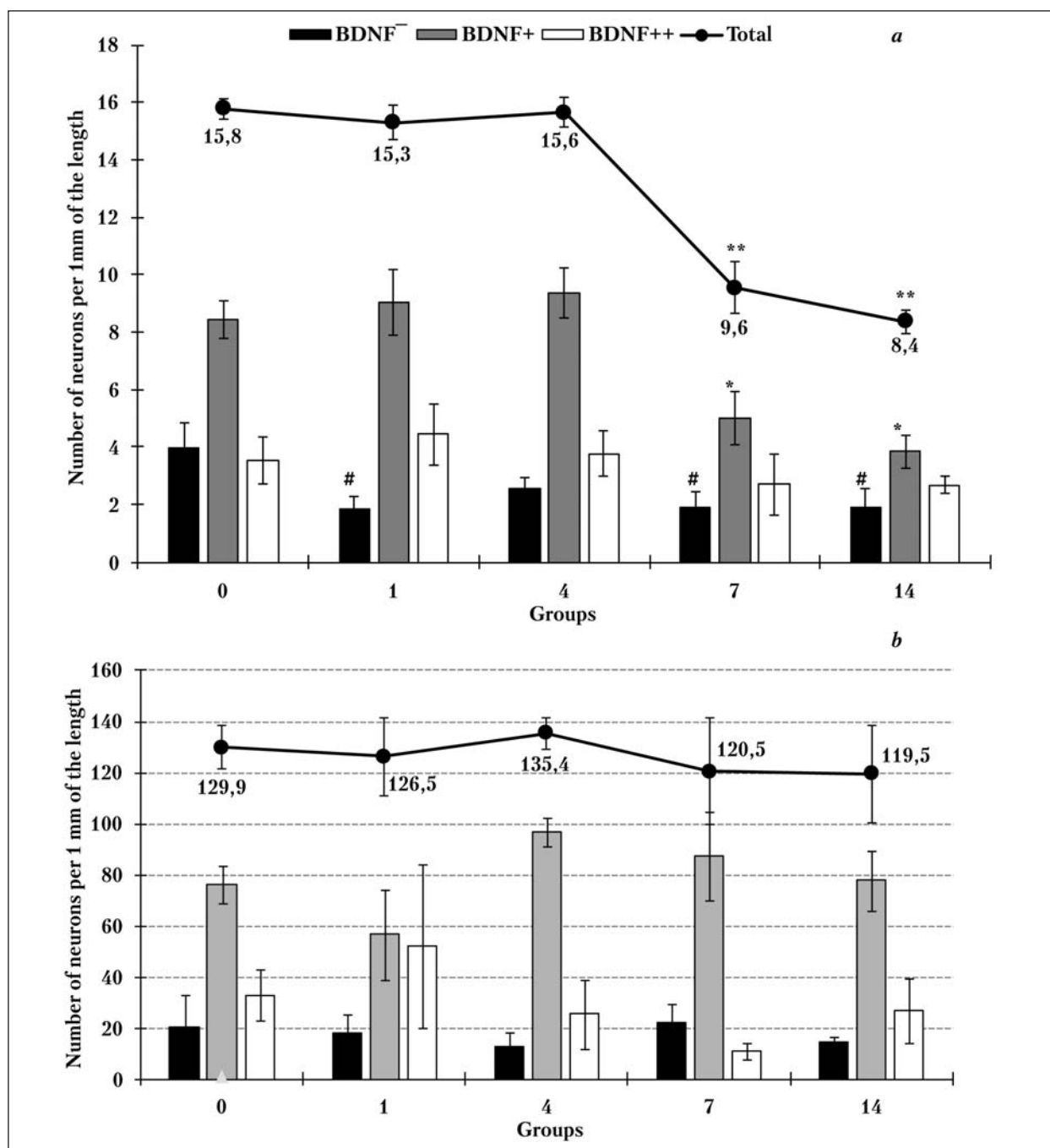


Рис. 4. Взаимосвязь постреанимационных изменений уровня экспрессии BDNF с процессом гибели нейронов в популяции клеток Пуркинье (a) и пирамидных клеток гиппокампа (b).

Fig. 4. The relationship of postresuscitative changes in the expression level of BDNF with the process of neuronal death in the population of Purkinje cells (a) and pyramidal cells of the hippocampus (b).

Note. * – $P_t < 0.05$; ** – $P_t < 0.01$; # – $P_t < 0.1$ versus control.

Примечание. * – $p_t < 0.05$; ** – $p_t < 0.01$; # – $p_t < 0.1$ в сравнении с контролем.

нейрональной популяции не выявлено достоверных сдвигов числа нейронов с различной BDNF-иммунореактивностью на всех исследованных этапах постреанимационного периода. При этом гибели нейронов не происходит (рис. 4, b).

Иные изменения были выявлены нами ранее в популяции пирамидных клеток сектора СА4 гиппокампа у самцов, перенесших остановку

shifts in expression of another neuroprotective factor – protein GRP78, which is increasingly expressed in the postresuscitation period in the same animals [22]. It has been established, that in male rats, the level of GRP78 expression decreased similarly to what was demonstrated for BDNF. In female rats, GRP78 expression drastically increased while the level of BDNF expression did not change. At

сердца такой же длительности [18]. В этом случае развивались постреанимационные сдвиги уровня экспрессии BDNF и процесс гибели нейронов. Так, уже на 4-е сутки после реанимации при сохранении общей плотности популяции ее BDNF-иммунореактивность снижалась («переход» части сильнопозитивных клеток в категорию слабопозитивных). Позднее — к 7-м суткам постреанимационного периода — развивался процесс гибели нейронов (снижение общей плотности популяции на 38,5%). Существенно, что на этом этапе уменьшалось число только BDNF-негативных и слабопозитивных клеток.

Выявленные нами сдвиги экспрессии BDNF в популяции пирамидных клеток сектора CA4 гиппокампа интересно сопоставить со сдвигами экспрессии другого нейропротективного фактора — белка GRP78, развивающимися в постреанимационном периоде у этих же животных [22]. Установлено, что у самцов уровень экспрессии GRP78 снижался, аналогично тому, как это показано для BDNF. У самок — экспрессия GRP78 резко возрастала, в то время как уровень экспрессии BDNF не изменялся. При этом, как было отмечено выше, в секторе CA4 гиппокампа у самок не обнаружено гибели нейронов. Приведенные факты дают основание полагать, что в данном случае одним из факторов защиты нейронов от гибели может быть активация экспрессии GRP78. В пользу этого предположения свидетельствуют и данные о взаимодействии BDNF и GRP78, и, в частности, при вызванном ишемией стрессе эндоплазматического ретикула [24–26].

Возможность защиты нейронов при активации экспрессии одного из нейропротективных факторов в отсутствие изменений других была показана нами ранее. Так, оказалось, что усиление экспрессии BDNF (применение миметика фактора роста нервов ГК2) способствовала предотвращению постреанимационной гибели нейронов, хотя при этом уровень других нейропротекторов — нейротрофина NT4 и основного фактора роста FGFb — не увеличивался [27].

Результаты настоящей работы свидетельствуют о наличии гендерных различий постреанимационных сдвигов уровня экспрессии BDNF и сопряженных с ними процессов гибели нейронов. Половые отличия в выраженности и топографии постреанимационных повреждений мозга были также показаны нами ранее [1, 28–31, 22]. Существенно, что самки в сравнении с самцами характеризовались более быстрым восстановлением неврологического статуса. Так, после 12-минутной остановки сердца восстановление неврологического статуса у самок было более быстрым, и к 5-м суткам постреанимационного периода реализовалось в 77,8% случаев против 27,2% — у самцов [28]. При этом у самок повреждения мозга развивались

that, as noted above, death of neurons was not found in sector CA4 of hippocampus in female rats. The data provide an evidence that activation of GRP78 expression may be one of the factors protecting neurons from death. Data about interrelation of BDNF and GRP78, and, in particular, during ischemia-caused stress of endoplasmic reticulum [24–26] evidence in favor of this hypothesis.

The possibility of neurons protection during activation of expression of one of neuroprotective factors in the absence of changes in others was shown by us earlier. It turned out that intensification of BDNF expression (use of nerve growth factor mimetic GK-2) assisted prevention of postresuscitation death of neurons, though the level of other neuroprotectors — neurotrophin NT4 and basic growth factor FGFb — did not increase [27].

The present results demonstrate the gender difference in post-resuscitation shifts in the level of BDNF expression and neuronal death. Gender differences in the expression and topography of postresuscitation brain damages were also shown by us earlier [1, 28–31, 22]. Significantly, compared to male animals, female animals were characterized by faster neurological status recovery. For instance, after a 12-minute cardiac arrest, neurological status recovery in female animals was faster and by day 5 of the postresuscitation period it resolved in 77.8% of cases versus 27.2% in male animals [28]. At that, in female animals, brain damages developed later and were less manifested than in male animals. Gender differences in orientation behavior and anxiety existing before resuscitation and persistent during the postresuscitation period were also detected [28].

Gender differences in ischemic brain damage were also found in rats after occlusion of medial cerebral artery. It turned out that in male rats and sprayed female rats the sizes of brain infarction in cortex and caudoputamen region were larger than in intact female rats [32]. Higher sensitivity of male brain to ischemia was shown using lines of rats with diabetes and spontaneous hypertension as well as in different ischemia models. The reasons for this phenomenon stem from hormone-independent mechanisms of ischemic cell damage and factors related to gender [2]. Interestingly, gender peculiarities of nervous cell death mechanisms were found on cultures bare of sex hormones. For instance, cultured dopaminergic neurons from 14-day female embryos were tolerant to exposure by toxic concentration of dopamine, and their surviving was doubled than in males [33]. Male cells were more sensitive to glutamate and peroxynitrite; however, the action of oxidants, such as H_2O_2 , did not depend on gender of animals [34]. Data show that the brain of male and female animals is not equally sensitive to ischemia. At the same time, these differences manifest already

позднее и были выражены меньше, чем у самцов. Выявлены также половые различия ориентировочно-исследовательского поведения и тревожности, существующие до реанимации и сохраняющиеся в постреанимационном периоде [28].

Гендерные различия в ишемическом повреждении мозга выявлены также после окклюзии средней мозговой артерии у крыс. Оказалось, что у самцов и у овариоэктомированных самок размеры инфаркта мозга в коре и каудопутамене были больше, чем у интактных самок [32]. Более высокая чувствительность мозга самцов к ишемии показана на линиях крыс с диабетом и спонтанной гипертензией, а также на разных моделях ишемии. Причины этого феномена обсуждаются как с точки зрения гормонезависимых механизмов ишемического повреждения клеток, так и с учетом факторов, связанных с половой принадлежностью организма [2]. Интересно, что гендерные особенности механизмов гибели нервных клеток выявлены на культурах, лишенных половых гормонов. Так, культивируемые дофаминергические нейроны от 14-дневных эмбрионов женского пола были толерантны к экспозиции токсической концентрации дофамина, и их выживаемость была вдвое больше, чем мужских [33]. Мужские клетки были более чувствительны к глутамату и пероксинитриту, однако воздействие оксидантов, таких как H_2O_2 не зависело от пола [34]. Приведенные факты свидетельствуют о том, что мозг самцов и самок неодинаково чувствителен к ишемии. В то же время, эти различия проявляются уже в раннем онтогенезе, т.е. еще до проявления влияния половых гормонов. Кроме того, гендерные различия ишемического повреждения выявляются не только в областях мозга, связанных с репродуктивной функцией, но и в других его отделах [35]. Следовательно, половой диморфизм ишемического повреждения мозга обусловлен не только половыми гормонами, но связан также с различиями молекулярных механизмов повреждения клеток. Так, известно, что NO-синтаза играет важную роль в инициации ишемической гибели клеток. Однако, отсутствие ее активности у нокаутных самок или при фармакологическом подавлении приводит к парадоксальному увеличению размеров инфаркта после окклюзии средней мозговой артерии [36]. Показаны также гендерные различия реакции на активацию фермента поли(АДФ-рибоза) полимеразы (PARP). У самцов после эксайтотоксического или ишемического воздействия PARP гиперактивируется и усиливает гибель клеток. Однако у самок отсутствие активности этого фермента (нокаутные самки или подавление PARP) приводит к значимому увеличению ишемического повреждения мозга после окклюзии средней мозговой артерии в отличие от перенесших аналогичное воздействие самцов [36].

during early ontogenesis, i.e. before the effects of sex hormones appears. Besides, gender differences in sensitivity to ischemic brain damage were found not only in brain regions contributed to the reproductive function, but in other regions as well [35]. Hence, sexual dimorphism of ischemic brain damage is determined not only by sex hormones, but is also related to differences in the molecular mechanisms of cell damage. For instance, NO-synthase is known to play an important role in the initiation of ischemic cell death. However, absence of its activity in knockout female animals or in case of pharmacological suppression leads to paradoxical increase of the size of infarction after occlusion of median cerebral artery [36]. Gender differences of response to activation of enzyme poly(ADP-Ribose) Polymerase (PARP) were also shown. In male animals after excitotoxic or ischemic effect, PARP becomes hyperactivated and intensifies death of cells. However, in female animals, absence of the enzyme's activity (knockout female animals or suppressed PARP) results in a considerable increase of the ischemic brain damage after occlusion of medial cerebral artery in contrast to male animals exposed to the same effect [36].

Apoptosis development differences may also be one of hormone-independent mechanisms of gender peculiarities of ischemic cell damage. It was shown [8], that during the early postnatal period, in neurons of median preoptic nuclei (MPNc) and anteroventral periventricular nuclei (AVPV) of hypothalamus, the level of Bcl-2 and Bad in female animals is smaller than in male animals whereas the level of Bax is larger. Gender differences were also identified in the number of caspase-3-positive cells: in AVPV, their quantity was smaller in female animals than in male animals whereas in MPNc it was greater.

Existence of gender peculiarities in specific mechanisms of ischemic brain damage demonstrate that the effectiveness of neuroprotective therapy may differ in animals of different sex, too. Indeed, during subarachnoid hemorrhage, application of antioxidant tirilazad (non-hormone 21-amino steroid) was more effective in males than in females [37]. Similarly thereto, post-trauma hypothermia reduced brain damage and subsequent dropout of neurons in males, but not in females [38]. It was also established [39], that brain damage caused by neonatal hypoxia was less manifested in females. However, use of selective inhibitor of necroptosis (drug Neurostatin-1) prevented development of damages in males only. Earlier, we have also established gender differences in efficacy of experimental therapy after cardiac arrest of equal duration in rats. Treatment with hormonal drug Gynodian Depot (estradiol with dehydroepiandrosterone) prevented death of neuronal cells only in male ani-

Одним из гормонально независимых механизмов гендерных особенностей ишемического повреждения клеток могут быть также отличия в развитии апоптоза. Так, показано [8], что в раннем постнатальном периоде в нейронах медиального преоптического (MPNc) и антеровентрального перивентрикулярного (AVPV) ядер гипоталамуса уровень Bcl-2 и Bad у самок меньше, чем у самцов, а уровень Вах- больше. Половые различия выявлены также и в числе каспаза-3-позитивных клеток: в AVPV их у самок было меньше, чем у самцов, а в MPNc — больше.

Наличие гендерных особенностей в специфических механизмах ишемического повреждения мозга свидетельствует о том, что у животных разного пола может различаться и эффективность нейропротективной терапии. Действительно, при субарахноидальном кровоизлиянии применение антиоксиданта тирилазада (негормональный 21-амино-стероид) было более эффективным у мужчин, чем у женщин [37]. Аналогично этому, посттравматическая гипотермия уменьшала повреждение мозга и последующее выпадение нейронов у самцов, но не у самок [38]. Установлено также [39], что вызванное неонатальной гипоксией повреждение мозга было менее выраженным у самок. Однако, применение селективного ингибитора некроптоза (препарат нейростатин-1) предупреждало развитие повреждений только у самцов. Ранее нами также были выявлены половые различия в эффективности терапии после остановки сердца одинаковой длительности. Так, применение гормонального препарата «Гинодеан Дено» (эстрадиол с дегидроэпиандростероном) предотвращало гибель нервных клеток только у самцов и не влияло на самок [30]. Половые различия были обнаружены и в эффективности использования у реанимированных животных иммуномодулятора панавира [31].

Приведенные факты свидетельствуют о половых различиях не только в механизмах повреждения мозга, но также и его защиты. Ранее нами выявлены гендерные особенности в реализации нейропротективных свойств ряда эндогенных нейротрофических факторов — глиального нейротрофического фактора GDNF [20,21], глюкозрегулируемого белка GRP78 [22], а также белков теплового шока семейства HSP70 [40]. Результаты настоящей работы свидетельствуют о наличии половых особенностей постишемической экспрессии BDNF. Гендерные различия экспрессии BDNF и их механизмы привлекают в последнее время большое внимание. Так, недавно были выявлены различия между мужчинами и женщинами даже в циркадных ритмах уровня BDNF [41]. Установлены также половые особенности экспрессии BDNF и его рецептора TrkB в медиальном преоптическом ядре гипоталамуса — области мозга, характеризующейся у хомяков половым ди-

mals and had no effect in female animals [30]. Gender differences were also discovered in the effectiveness of using immunomodulator Panavir in resuscitated animals [31].

The stated facts evidence gender differences not only in the brain damage mechanisms, but in the mechanisms of its protection, too. Earlier, we have found gender peculiarities in neuroprotection by a number of endogenous neurotrophic factors — Glial Cells Derived Neurotrophic Factor (GDNF) [20, 21], Glucose Regulated Protein GRP78 [22], and heat-shock proteins of HSP70 family [40]. The present results display the existence of gender differences at the level of the post-ischemic expression of BDNF. Gender differences of BDNF expression and their mechanisms had attracted much attention lately. Recently, differences between men and women were found even in circadian rhythms of BDNF level [41]. Gender differences were also shown in the expression of BDNF and its receptor TrkB in median preoptic nucleus of hypothalamus — the brain region characterized in hamsters by sexual dimorphism and control of sexual behavior in male animals [42]. It was shown that in male rats brain tissue, BDNF expression was higher than in female rats. Gender differences in the BDNF gene expression and its regulation by estrogen in different sectors of hippocampus in newborn rats were established [43]. It turned out that in sector CA1 of hippocampus and dentate gyrus, the level of BDNF expression in male animals was higher than in female animals. Exogenous administration of estradiol resulted in opposite shifts of BDNF expression in these sectors: in CA1, increase was observed, and in dentate gyrus — decrease.

The above factors show an existence of gender differences in BDNF expression both in norm and under different influences. Sex hormones are important for the regulation of BDNF expression in brain. Effect of androgens on the structural and functional condition of hippocampus was discovered. It was shown that following castration by orchietomy, the absence of androgens in male animals is compensated by BDNF modulation of mossy fibers, whereas testosterone annuls this effect [44]. Regulation of BDNF expression by estrogens and estradiol interaction with BDNF and its receptors are intensively discussed [45, 46]. It is pointed out that hormonal disorders during the fetus development period might lead to abnormal shifts of BDNF expression. Interestingly, the brain regions studied by us in this paper — cerebellum and hippocampus — are among most influenced by estrogens during development [47, 48]. The issue of gender peculiarities of BDNF expression becomes especially because of the role of the BDNF in neurological and mental illnesses [49, 50]. Sex hormones were shown to modulate

морфизмом и контролирующем у самцов половое поведение [42]. Показано, что в ткани мозга у самцов экспрессия BDNF выше, чем у самок. Выявлены гендерные различия экспрессии гена BDNF и ее регуляции эстрогеном в разных отделах гиппокампа у новорожденных крыс [43]. Оказалось, что в секторе CA1 гиппокампа и в зубчатой фасции уровень экспрессии BDNF у самцов был выше, чем у самок. Экзогенное введение эстрадиола приводило к противоположным сдвигам экспрессии BDNF в этих областях: в CA1 наблюдалось увеличение, а в зубчатой фасции — снижение.

Приведенные факты свидетельствуют о наличии половых различий в экспрессии BDNF как в норме, так и при различных воздействиях. Половые гормоны имеют большое значение в регуляции экспрессии BDNF в мозге. Выявлено влияние андрогенов на структурно-функциональное состояние гиппокампа. Показано, что при орхидэктомии отсутствие андрогенов у самцов компенсируется модуляцией BDNF в системе моховидных волокон, причем тестостерон отменяет этот эффект [44]. Активно обсуждаются вопросы о регуляции экспрессии BDNF эстрогенами, а также взаимодействие эстрадиола с BDNF и его рецепторами [45, 46]. При этом подчеркивается, что гормональные нарушения в период развития плода могут приводить к аномальным сдвигам экспрессии BDNF. Интересно, что исследованные нами в настоящей работе области мозга — мозжечок и гиппокамп — одни из наиболее подверженных влиянию эстрогенов во время развития [47, 48]. Особое значение вопрос о половых особенностях экспрессии BDNF приобретает в связи с исследованием неврологических и психических заболеваний [49, 50]. Показано, в частности, что половые гормоны модулируют уровень BDNF, в том числе и при стрессе [45]. При этом проявляются как гендерные, так и связанные со спецификой нейрональных популяций особенности. Так, у intactных самок уровень BDNF в поле CA3 гиппокампа был больше, чем у самцов, а в зубчатой фасции — меньше. Стресс приводил к снижению уровня BDNF в CA3 у животных обоего пола, а применение эстрогена и прогестерона повышало уровень BDNF у перенесших стресс животных.

В целом полученные нами в настоящей работе данные свидетельствуют о наличии полового диморфизма не только в ишемическом повреждении мозга, но и в реализации нейропротективных механизмов его защиты. Выявлены гендерные особенности постреанимационных сдвигов экспрессии BDNF и сопряженных с ними процессов гибели нейронов. Исследование половых особенностей организма дает возможность более полного понимания общих закономерностей постишемического повреждения мозга [2]. Действительно, показано, что у живот-

ных обоего пола в высокочувствительных к гипоксии нейрональных популяциях гибели подвергаются только неэкспрессирующие и слабоэкспрессирующие BDNF клетки. Полученные факты подтверждают развиваемое нами положение о существенном значении уровня экспрессии BDNF для обеспечения устойчивости нейронов в постреанимационной периоде.

Overall, the data obtained in our study demonstrate the existence of sexual dimorphism not only in ischemic brain damage, but also at the level of neuroprotective mechanisms. Gender peculiarities of post-resuscitation shifts of BDNF expression and neuronal death processes associated therewith were found. The investigation of gender peculiarities at a neuronal level allows better understanding of general regulates of post-ischemic brain damage [2]. Indeed, it has been shown that in animals of both gender, in neuronal populations, highly sensitive to hypoxia only BDNF non-expressing and BDNF weakly expressing cells suffer to death. These data support our previous hypothesis on significance of the level of BDNF expression for assuring neuronal stability during the postresuscitation period.

Conclusion

Gender peculiarities of the development of post-resuscitation shifts in the level of BDNF expression and neuronal death processes associated therewith have been established. It has been shown that after a cardiac arrest of equal duration, the post-resuscitation shifts in the level of BDNF expression and neuronal death processes are less manifested in female animals than in male animals. At the same time, both males and females demonstrate common regularities of post-resuscitation brain changes indicating a link between the level of BDNF expression in neurons and neuronal resistance to ischemia-reperfusion. The gender-related patterns of neuroprotection might be significant for searching the mechanisms of post-hypoxia encephalopathy and developing approaches to prevent and correct this frequent consequence of critical illness.

The authors are grateful to T. N. Vassilieva for the experiments of resuscitation of animals.

ных обоего пола в высокочувствительных к гипоксии нейрональных популяциях гибели подвергаются только неэкспрессирующие и слабоэкспрессирующие BDNF клетки. Полученные факты подтверждают развиваемое нами положение о существенном значении уровня экспрессии BDNF для обеспечения устойчивости нейронов в постреанимационной периоде.

Заключение

Выявлены гендерные особенности развития постреанимационных сдвигов уровня экспрессии BDNF и сопряженных с ними процессов гибели нейронов. Показано, что после остановки сердца одинаковой длительности у самок постреанимационные сдвиги уровня экспрессии BDNF и процессы гибели нейронов выражены меньше, чем у самцов. В то же время, у животных обоего пола выявляются общие закономерности постреанимационных изменений мозга, свидетельствующие о

взаимосвязи уровня экспрессии BDNF в нейронах с их устойчивостью к ишемии-реперфузии. Полученные результаты представляются существенными для анализа механизмов развития постгипоксических энцефалопатий, а также для разработки подходов к их профилактике и коррекции с учетом половых особенностей организма.

Авторы приносят благодарность Т. Н. Васильевой за проведение экспериментов по реанимации животных.

Литература

1. Волков А.В., Аврущенко М.Ш., Горенкова Н.А., Заржецкий Ю.В. Значение полового диморфизма и репродуктивных гормонов в патогенезе и исходе постреанимационной болезни. *Общая реаниматология*. 2006; 2 (5-6): 70-78. DOI: 10.15360/1813-9779-2006-6-70-78
2. Liu F., Li Z., Li J., Siegel C., Yuan R., McCullough L.D. Sex differences in caspase activation after stroke. *Stroke*. 2009; 40 (5): 1842–1848. DOI: 10.1161/STROKEAHA.108.538686. PMID: 19265047
3. Vagnerova K., Koerner I.P., Hurn P.D. Gender and the injured brain. *Anesth. Analg.* 2008; 107 (1): 201-214. DOI: 10.1213/ane.0b013e31817326a5. PMID: 18635489
4. Sakuma Y. Gonadal steroid action and brain sex differentiation in the rat. *J. Neuroendocrinol.* 2009; 21 (4): 410-414. DOI: 10.1111/j.1365-2826.2009.01856.x. PMID: 19226349
5. Zuo W., Zhang W., Chen N.H. Sexual dimorphism in cerebral ischemia injury. *Eur. J. Pharmacol.* 2013; 711 (1-3): 73-79. DOI: 10.1016/j.ejphar.2013.04.024. PMID: 23652162
6. Herson P.S., Hurn P.D. Gender and the injured brain. *Prog. Brain Res.* 2010; 186: 177-187. DOI: 10.1016/B978-0-444-53630-3.00012-9. PMID: 21094893
7. Herson P.S., Palmateer J., Hurn P.D. Biological sex and mechanisms of ischemic brain injury. *Transl. Stroke Res.* 2013; 4 (4): 413-419. DOI: 10.1007/s12975-012-0238-x. PMID: 23930140
8. Tsukahara S., Kakeyama M., Toyofuku Y. Sex differences in the level of Bcl-2 family proteins and caspase-3 activation in the sexually dimorphic nuclei of the preoptic area in postnatal rats. *J. Neurobiol.* 2006; 66 (13): 1411-1419. DOI: 10.1002/neu.20276. PMID: 17013925
9. Gibson C.L. Cerebral ischemic stroke: is gender important? *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2013; 33 (9): 1355-1361. DOI: 10.1038/jcbfm.2013.102. PMID: 23756694
10. Berretta A., Tzeng Y.C., Clarkson A.N. Post-stroke recovery: the role of activity-dependent release of brain-derived neurotrophic factor. *Expert Rev. Neurother.* 2014; 14 (11): 1335-1344. DOI: 10.1586/14737175.2014.969242. PMID: 25319267
11. Blondeau N., Lipsky R.H., Bourourou M., Duncan M.W., Gorelick P.B., Marini A.M. Alpha-linolenic acid: an omega-3 fatty acid with neuroprotective properties-ready for use in the stroke clinic? *Biomed. Res. Int.* 2015; 2015: 519830. DOI:10.1155/2015/519830. PMID: 25789320
12. Budni J., Bellettini-Santos T., Mina F., Garcez M.L., Zugno A.I. The involvement of BDNF, NGF and GDNF in aging and Alzheimer's disease. *Aging Dis.* 2015; 6 (5): 331-341. DOI: 10.14336/AD.2015.0825. PMID: 26425388
13. Khalin I., Alyautdin R., Kocherga G., Bakar M.A. Targeted delivery of brain-derived neurotrophic factor for the treatment of blindness and deafness. *Int. J. Nanomedicine.* 2015; 10: 3245-3267. DOI: 10.2147/IJN.S77480. PMID: 25995632
14. Dincheva I., Lynch N.B., Lee F.S. The role of BDNF in the development of fear learning. *Depress Anxiety.* 2016; 33 (10): 907-916. DOI: 10.1002/da.22497. PMID: 27699937
15. Larphaveesarp A., Ferriero D.M., Gonzalez F.F. Growth factors for the treatment of ischemic brain injury (growth factor treatment). *Brain Sci.* 2015; 5 (2): 165-177. DOI: 10.3390/brainsci5020165. PMID: 25942688
16. Kimura A., Namekata K., Guo X., Harada C., Harada T. Neuroprotection, growth factors and BDNF-TrkB signalling in retinal degeneration. *Int. J. Mol. Sci.* 2016; 17 (9): pii: E1584. DOI: 10.3390/ijms17091584. PMID: 27657046
17. Hempstead B.L. Brain-derived neurotrophic factor: three ligands, many actions. *Trans. Am. Clin. Climatol. Assoc.* 2015; 126: 9-19. PMID: 26330656
18. Аврущенко М.Ш., Острова И.В. Постреанимационные изменения экспрессии мозгового нейротрофического фактора (BDNF): взаи-

References

1. Volkov A.V., Avrushchenko M.Sh., Gorenkova N.A., Zarzhetsky Yu.V. Implication of sexual dimorphism and reproductive hormones in the pathogenesis and outcome of postresuscitative disease. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2006; 2 (5-6): 70-78. DOI: 10.15360/1813-9779-2006-6-70-78. [In Russ., In Engl.]
2. Liu F., Li Z., Li J., Siegel C., Yuan R., McCullough L.D. Sex differences in caspase activation after stroke. *Stroke*. 2009; 40 (5): 1842–1848. DOI: 10.1161/STROKEAHA.108.538686. PMID: 19265047
3. Vagnerova K., Koerner I.P., Hurn P.D. Gender and the injured brain. *Anesth. Analg.* 2008; 107 (1): 201-214. DOI: 10.1213/ane.0b013e31817326a5. PMID: 18635489
4. Sakuma Y. Gonadal steroid action and brain sex differentiation in the rat. *J. Neuroendocrinol.* 2009; 21 (4): 410-414. DOI: 10.1111/j.1365-2826.2009.01856.x. PMID: 19226349
5. Zuo W., Zhang W., Chen N.H. Sexual dimorphism in cerebral ischemia injury. *Eur. J. Pharmacol.* 2013; 711 (1-3): 73-79. DOI: 10.1016/j.ejphar.2013.04.024. PMID: 23652162
6. Herson P.S., Hurn P.D. Gender and the injured brain. *Prog. Brain Res.* 2010; 186: 177-187. DOI: 10.1016/B978-0-444-53630-3.00012-9. PMID: 21094893
7. Herson P.S., Palmateer J., Hurn P.D. Biological sex and mechanisms of ischemic brain injury. *Transl. Stroke Res.* 2013; 4 (4): 413-419. DOI: 10.1007/s12975-012-0238-x. PMID: 23930140
8. Tsukahara S., Kakeyama M., Toyofuku Y. Sex differences in the level of Bcl-2 family proteins and caspase-3 activation in the sexually dimorphic nuclei of the preoptic area in postnatal rats. *J. Neurobiol.* 2006; 66 (13): 1411-1419. DOI: 10.1002/neu.20276. PMID: 17013925
9. Gibson C.L. Cerebral ischemic stroke: is gender important? *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2013; 33 (9): 1355-1361. DOI: 10.1038/jcbfm.2013.102. PMID: 23756694
10. Berretta A., Tzeng Y.C., Clarkson A.N. Post-stroke recovery: the role of activity-dependent release of brain-derived neurotrophic factor. *Expert Rev. Neurother.* 2014; 14 (11): 1335-1344. DOI: 10.1586/14737175.2014.969242. PMID: 25319267
11. Blondeau N., Lipsky R.H., Bourourou M., Duncan M.W., Gorelick P.B., Marini A.M. Alpha-linolenic acid: an omega-3 fatty acid with neuroprotective properties-ready for use in the stroke clinic? *Biomed. Res. Int.* 2015; 2015: 519830. DOI:10.1155/2015/519830. PMID: 25789320
12. Budni J., Bellettini-Santos T., Mina F., Garcez M.L., Zugno A.I. The involvement of BDNF, NGF and GDNF in aging and Alzheimer's disease. *Aging Dis.* 2015; 6 (5): 331-341. DOI: 10.14336/AD.2015.0825. PMID: 26425388
13. Khalin I., Alyautdin R., Kocherga G., Bakar M.A. Targeted delivery of brain-derived neurotrophic factor for the treatment of blindness and deafness. *Int. J. Nanomedicine.* 2015; 10: 3245-3267. DOI: 10.2147/IJN.S77480. PMID: 25995632
14. Dincheva I., Lynch N.B., Lee F.S. The role of BDNF in the development of fear learning. *Depress Anxiety.* 2016; 33 (10): 907-916. DOI: 10.1002/da.22497. PMID: 27699937
15. Larphaveesarp A., Ferriero D.M., Gonzalez F.F. Growth factors for the treatment of ischemic brain injury (growth factor treatment). *Brain Sci.* 2015; 5 (2): 165-177. DOI: 10.3390/brainsci5020165. PMID: 25942688
16. Kimura A., Namekata K., Guo X., Harada C., Harada T. Neuroprotection, growth factors and BDNF-TrkB signalling in retinal degeneration. *Int. J. Mol. Sci.* 2016; 17 (9): pii: E1584. DOI: 10.3390/ijms17091584. PMID: 27657046
17. Hempstead B.L. Brain-derived neurotrophic factor: three ligands, many actions. *Trans. Am. Clin. Climatol. Assoc.* 2015; 126: 9-19. PMID: 26330656
18. Avrushchenko M.Sh., Ostrova I.V. Postresuscitative changes of Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) protein expression: association

- мосьвяз с процессом гибели нейронов. *Общая реаниматология*. 2017; 13 (4): 6-21. DOI: 10.15360/1813-9779-2017-4-6-21
19. Корпачев В.Г., Лысенков С.П., Тель Л.З. Моделирование клинической смерти и постреанимационной болезни у крыс. *Патол. физиол. и эксперим. терапия*. 1982; 3: 78-80. PMID: 7122145
 20. Аврущенко М.Ш., Острова И.В., Волков А.В. Постреанимационные изменения экспрессии глияльного нейротрофического фактора (GDNF): взаимосвязь с повреждением клеток Пуркинье мозжечка (экспериментальное исследование). *Общая реаниматология*. 2014; 10 (5): 59-68. DOI: 10.15360/1813-9779-2014-5-59-68
 21. Avruschenko M.Sh., Ostrova I.V. Association of glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) protein expression with the neuronal death in post-resuscitation period. *Resuscitation*. 2014; 85: S108. DOI: 10.1016/j.resuscitation.2014.03.268
 22. Острова И.В., Аврущенко М.Ш., Волков А.В. Взаимосвязь уровня экспрессии белка GRP78 с выраженностью постишемического повреждения гиппокампа у крыс разного пола. *Общая реаниматология*. 2011; 7 (6): 28-33. DOI: 10.15360/1813-9779-2011-6-28
 23. Острова И.В., Аврущенко М.Ш. Экспрессия мозгового нейротрофического фактора (BDNF) повышает устойчивость нейронов к гибели в постреанимационном периоде. *Общая реаниматология*. 2015; 11 (3): 45-53. DOI: 10.15360/1813-9779-2015-3-45-53
 24. Chen G., Fan Z., Wang X., Ma C., Bower K.A., Shi X., Ke Z.J., Luo J. Brain-derived neurotrophic factor suppresses tunicamycin-induced upregulation of CHOP in neurons. *J. Neurosci. Res.* 2007; 85 (8): 1674-1684. DOI: 10.1002/jnr.21292. PMID: 17455323
 25. Wei H.J., Xu J.H., Li M.H., Tang J.P., Zou W., Zhang P., Wang L., Wang C.Y., Tang X.Q. Hydrogen sulfide inhibits homocysteine-induced endoplasmic reticulum stress and neuronal apoptosis in rat hippocampus via upregulation of the BDNF-TrkB pathway. *Acta Pharmacol. Sin.* 2014; 35 (6): 707-715. DOI: 10.1038/aps.2013.197. PMID: 24747165
 26. Kang J.S. Exercise copes with prolonged stress-induced impairment of spatial memory performance by endoplasmic reticulum stress. *J. Exerc. Nutrition Biochem.* 2015; 19 (3): 191-197. DOI: 10.5717/jenb.2015.15080705. PMID: 26527209
 27. Аврущенко М.Ш., Острова И.В., Заржецкий Ю.В., Мороз В.В., Гудашева Т.А., Середенин С.Б. Влияние миметика фактора роста нервов ГК-2 на постреанимационную экспрессию нейротрофических факторов. *Патол. физиол. и эксперим. терапия*. 2015; 59 (2): 12-18. PMID: 26571801
 28. Волков А.В., Аврущенко М.Ш., Баранник А.П., Зиганшин Р.Х., Горенкова Н.А., Заржецкий Ю.В. Половой диморфизм структурно-функциональных изменений мозга в раннем постреанимационном периоде после остановки сердца. *Общая реаниматология*. 2006; 2 (2): 9-13. DOI: 10.15360/1813-9779-2006-2-9-13
 29. Волков А.В., Аврущенко М.Ш., Горенкова Н.А., Щербаклова Л.Н., Заржецкий Ю.В. Половые различия отсроченных постреанимационных изменений головного мозга (экспериментальное исследование). *Общая реаниматология*. 2007; 3 (5-6): 97-102. DOI: 10.15360/1813-9779-2007-6-97-102
 30. Острова И.В., Аврущенко М.Ш., Волков А.В., Заржецкий Ю.В. Половые различия структурных изменений головного мозга в постреанимационном периоде. *Общая реаниматология*. 2009; 5 (6): 60-65. DOI: 10.15360/1813-9779-2009-6-60
 31. Острова И.В., Аврущенко М.Ш., Заржецкий Ю.В., Афанасьев А.В., Волков А.В. Гендерные различия в постреанимационном повреждении мозга и в эффективности иммуномодулятора панавира. *Общая реаниматология*. 2010; 6 (6): 25-28. DOI: 10.15360/1813-9779-2010-6-25
 32. Alkayed N.J., Harukuni I., Kimes A.S., London E.D., Traystman R.J., Hurn P.D. Gender-linked brain injury in experimental stroke. *Stroke*. 1998; 29 (1): 159-166. DOI: 10.1161/01.STR.29.1.159. PMID: 9445346
 33. Lieb K., Andrae J., Reisert I., Pilgrim C. Neurotoxicity of dopamine and protective effects of the NMDA receptor antagonist AP-5 differ between male and female dopaminergic neurons. *Exp. Neurol.* 1995; 134 (2): 222-229. DOI: 10.1006/exnr.1995.1052. PMID: 7556542
 34. Du L., Bayir H., Lai Y., Zhang X., Kochanek P.M., Watkins S.C., Graham S.H., Clark R.S. Innate gender-based proclivity in response to cytotoxicity and programmed cell death pathway. *J. Biol. Chem.* 2004; 279 (37): 38563-38570. DOI: 10.1074/jbc.M405461200. PMID: 15234982
 35. Arnold A.P., Rissman E.F., De Vries G.J. Two perspectives on the origin of sex differences in the brain. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2003; 1007: 176-188. DOI: 10.1196/annals.1286.018. PMID: 14993052
 36. McCullough L.D., Zeng Z., Blizzard K.K., Debchoudhury I., Hurn P.D. Ischemic nitric oxide and poly (ADPribose) polymerase-1 in cerebral ischemia: male toxicity, female protection. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2005; 25 (4): 502-512. DOI: 10.1038/sj.jcbfm.9600059. PMID: 15689952
 37. Kassell N.F., Haley E.C.Jr., Apperson-Hansen C., Alves W.M. Randomized, doubleblind, vehicle-controlled trial of tirilazad mesylate in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a cooperative study in Europe, Australia, and New Zealand. *J. Neurosurg.* 1996; 84 (2): 221-228. DOI: 10.3171/jns.1996.84.2.0221. PMID: 8592224
 - with neuronal death. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2017; 13 (4): 6-21. DOI: 10.15360/1813-9779-2017-4-6-21. [In Russ., In Engl.]
 19. Korpachev V.G., Lysenkov S.P., Tel L.Z. Modeling clinical death and postresuscitation disease in rats. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimentalnaya Terapiya*. 1982; 3: 78-80. PMID: 7122145. [In Russ.]
 20. Avruschenko M.Sh., Ostrova I.V., Volkov A.V. Postresuscitation changes in the expression of Glial-Derived Neurotrophic Factor (GDNF): association with cerebellar Purkinje cell damage (an experimental study). *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2014; 10 (5): 59-68. DOI: 10.15360/1813-9779-2014-5-59-68. [In Russ., In Engl.]
 21. Avruschenko M.Sh., Ostrova I.V. Association of glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) protein expression with the neuronal death in post-resuscitation period. *Resuscitation*. 2014; 85: S108. DOI: 10.1016/j.resuscitation.2014.03.268
 22. Ostrova I.V., Avruschenko M.Sh., Volkov A.V. Association of GRP78 protein expression with the degree of postischemic hippocampal damage in rats of both sexes. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2011; 7 (6): 28-33. DOI: 10.15360/1813-9779-2011-6-28. [In Russ., In Engl.]
 23. Ostrova I.V., Avruschenko M.Sh. Expression of Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) increases the resistance of neurons to death in the postresuscitation period. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2015; 11 (3): 45-53. DOI: 10.15360/1813-9779-2015-3-45-53. [In Russ., In Engl.]
 24. Chen G., Fan Z., Wang X., Ma C., Bower K.A., Shi X., Ke Z.J., Luo J. Brain-derived neurotrophic factor suppresses tunicamycin-induced upregulation of CHOP in neurons. *J. Neurosci. Res.* 2007; 85 (8): 1674-1684. DOI: 10.1002/jnr.21292. PMID: 17455323
 25. Wei H.J., Xu J.H., Li M.H., Tang J.P., Zou W., Zhang P., Wang L., Wang C.Y., Tang X.Q. Hydrogen sulfide inhibits homocysteine-induced endoplasmic reticulum stress and neuronal apoptosis in rat hippocampus via upregulation of the BDNF-TrkB pathway. *Acta Pharmacol. Sin.* 2014; 35 (6): 707-715. DOI: 10.1038/aps.2013.197. PMID: 24747165
 26. Kang J.S. Exercise copes with prolonged stress-induced impairment of spatial memory performance by endoplasmic reticulum stress. *J. Exerc. Nutrition Biochem.* 2015; 19 (3): 191-197. DOI: 10.5717/jenb.2015.15080705. PMID: 26527209
 27. Avruschenko M.Sh., Ostrova I.V., Zarzhetsky Yu.V., Moroz V.V., Gudashcheva T.A., Seredenin S.B. Effect of the nerve growth factor mimetic GK-2 on post-resuscitation expression of neurotrophic factors. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimentalnaya Terapiya*. 2015; 59 (2): 12-18. PMID: 26571801. [In Russ.]
 28. Volkov A.V., Avruschenko M.Sh., Barannik A.P., Ziganshin R.Kh., Gorenkova N.A., Zarzhetsky Yu.V. Sexual dimorphism of cerebral structural and functional changes in the early postresuscitative period after cardiac arrest. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2006; 2 (2): 9-13. DOI: 10.15360/1813-9779-2006-2-9-13. [In Russ., In Engl.]
 29. Volkov A.V., Avruschenko M.Sh., Gorenkova N.A., Shcherbakova L.N., Zarzhetsky Yu.V. Sexual differences in delayed postresuscitative brain changes (experimental study). *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2007; 3 (5-6): 97-102. DOI: 10.15360/1813-9779-2007-6-97-102. [In Russ., In Engl.]
 30. Ostrova I.V., Avruschenko M.Sh., Volkov A.V., Zarzhetsky Yu.V. Gender differences in postresuscitative brain structural changes. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2009; 5 (6): 60-65. DOI: 10.15360/1813-9779-2009-6-60. [In Russ., In Engl.]
 31. Ostrova I.V., Avruschenko M.Sh., Zarzhetsky Yu.V., Afanasyev A.V., Volkov A.V. Gender differences in postresuscitative brain injury and in the efficacy of the immunomodulator panavir. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2010; 6 (6): 25-28. DOI: 10.15360/1813-9779-2010-6-25. [In Russ., In Engl.]
 32. Alkayed N.J., Harukuni I., Kimes A.S., London E.D., Traystman R.J., Hurn P.D. Gender-linked brain injury in experimental stroke. *Stroke*. 1998; 29 (1): 159-166. DOI: 10.1161/01.STR.29.1.159. PMID: 9445346
 33. Lieb K., Andrae J., Reisert I., Pilgrim C. Neurotoxicity of dopamine and protective effects of the NMDA receptor antagonist AP-5 differ between male and female dopaminergic neurons. *Exp. Neurol.* 1995; 134 (2): 222-229. DOI: 10.1006/exnr.1995.1052. PMID: 7556542
 34. Du L., Bayir H., Lai Y., Zhang X., Kochanek P.M., Watkins S.C., Graham S.H., Clark R.S. Innate gender-based proclivity in response to cytotoxicity and programmed cell death pathway. *J. Biol. Chem.* 2004; 279 (37): 38563-38570. DOI: 10.1074/jbc.M405461200. PMID: 15234982
 35. Arnold A.P., Rissman E.F., De Vries G.J. Two perspectives on the origin of sex differences in the brain. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2003; 1007: 176-188. DOI: 10.1196/annals.1286.018. PMID: 14993052
 36. McCullough L.D., Zeng Z., Blizzard K.K., Debchoudhury I., Hurn P.D. Ischemic nitric oxide and poly (ADPribose) polymerase-1 in cerebral ischemia: male toxicity, female protection. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2005; 25 (4): 502-512. DOI: 10.1038/sj.jcbfm.9600059. PMID: 15689952
 37. Kassell N.F., Haley E.C.Jr., Apperson-Hansen C., Alves W.M. Randomized, doubleblind, vehicle-controlled trial of tirilazad mesylate in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a cooperative study in Europe, Australia, and New Zealand. *J. Neurosurg.* 1996; 84 (2): 221-228. DOI: 10.3171/jns.1996.84.2.0221. PMID: 8592224

38. Suzuki T., Bramlett H.M., Dietrich W.D. The importance of gender on the beneficial effects of posttraumatic hypothermia. *Exp. Neurol.* 2003; 184 (2): 1017–1026. DOI: 10.1016/S0014-4886(03)00389-3. PMID: 14769396
39. Chavez-Valdez R., Martin L.J., Razdan S., Gauda E.B., Northington F.J. Sexual dimorphism in BDNF signaling after neonatal hypoxia-ischemia and treatment with necrostatin-1. *Neuroscience.* 2014; 260: 106–119. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2013.12.023. PMID: 24361177
40. Ostrova I.V., Avrushchenko M.Sh., Volkov A.V. Gender differences in post-ischemic brain morphology are associated with expression level of HSP70 protein. Shock Society Fifth Congress of the European Shock Society (ESS) 2013, September 12–14, Vienna, Austria. SHOCK Supplement to the ESS Congress, Austria. 2013; 40 (Suppl 1): 29. DOI: 10.1097/SHK.0b013e3182a5906f
41. Cain S.W., Chang A.M., Vlasac I., Tare A., Anderson C., Czeisler C.A., Saxena R. Circadian rhythms in plasma brain-derived neurotrophic factor differ in men and women. *J. Biol. Rhythms.* 2017; 32 (1): 75–82. DOI: 10.1177/0748730417693124. PMID: 28326910
42. Brague J.C., Swann J.M. Sexual dimorphic expression of TrkB, TrkB-T1, and BDNF in the medial preoptic area of the Syrian hamster. *Brain Res.* 2017; 1669: 122–125. DOI: 10.1016/j.brainres.2017.06.008. PMID: 28606780
43. Kight K.E., McCarthy M.M. Sex differences and estrogen regulation of BDNF gene expression, but not propeptide content, in the developing hippocampus. *J. Neurosci. Res.* 2017; 95 (1–2): 345–354. DOI: 10.1002/jnr.23920. PMID: 27870444
44. Atwi S., McMahon D., Scharfman H., MacLusky N.J. Androgen modulation of hippocampal structure and function. *Neuroscientist.* 2016; 22 (1): 46–60. DOI: 10.1177/1073858414558065. PMID: 25416742
45. Franklin T.B., Perrot-Sinal T.S. Sex and ovarian steroids modulate brain-derived neurotrophic factor (BDNF) protein levels in rat hippocampus under stressful and non-stressful conditions. *Psychoneuroendocrinology.* 2006; 31 (1): 38–48. DOI: 10.1016/j.psyneuen.2005.05.008. PMID: 15996825
46. Carbone D.L., Handa R.J. Sex and stress hormone influences on the expression and activity of brain-derived neurotrophic factor. *Neuroscience.* 2013; 239: 295–303. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2012. 10.073. PMID: 23211562
47. Miñano A., Xifró X., Pérez V., Barneda-Zahonero B., Saura C.A., Rodríguez-Alvarez J. Estradiol facilitates neurite maintenance by a Src/Ras/ERK signalling pathway. *Mol. Cell Neurosci.* 2008; 39 (2): 143–151. DOI: 10.1016/j.mcn.2008.06.001. PMID: 18620059
48. Bender R.A., Zhou L., Wilkars W., Fester L., Lanowski J.S., Paysen D., König A., Rune G.M. Roles of 17 α -estradiol involve regulation of reelin expression and synaptogenesis in the dentate gyrus. *Cereb. Cortex.* 2010; 20 (12): 2985–2995. DOI: 10.1093/cercor/bhq047. PMID: 20421250
49. Chan C.B., Ye K. Sex differences in brain-derived neurotrophic factor signaling and functions. *J. Neurosci. Res.* 2017; 95 (1–2): 328–335. DOI: 10.1002/jnr.23863. PMID: 27870419
50. Wei Y.C., Wang S.R., Xu X.H. Sex differences in brain-derived neurotrophic factor signaling: functions and implications. *J. Neurosci. Res.* 2017; 95 (1–2): 336–344. DOI: 10.1002/jnr.23897. PMID: 27870405
37. Kassell N.F., Haley E.C.Jr., Apperson-Hansen C., Alves W.M. Randomized, double-blind, vehicle-controlled trial of tirilazad mesylate in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a cooperative study in Europe, Australia, and New Zealand. *J. Neurosurg.* 1996; 84 (2): 221–228. DOI: 10.3171/jns.1996.84.2.0221. PMID: 8592224
38. Suzuki T., Bramlett H.M., Dietrich W.D. The importance of gender on the beneficial effects of posttraumatic hypothermia. *Exp. Neurol.* 2003; 184 (2): 1017–1026. DOI: 10.1016/S0014-4886(03)00389-3. PMID: 14769396
39. Chavez-Valdez R., Martin L.J., Razdan S., Gauda E.B., Northington F.J. Sexual dimorphism in BDNF signaling after neonatal hypoxia-ischemia and treatment with necrostatin-1. *Neuroscience.* 2014; 260: 106–119. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2013.12.023. PMID: 24361177
40. Ostrova I.V., Avrushchenko M.Sh., Volkov A.V. Gender differences in post-ischemic brain morphology are associated with expression level of HSP70 protein. Shock Society Fifth Congress of the European Shock Society (ESS) 2013, September 12–14, Vienna, Austria. SHOCK Supplement to the ESS Congress, Austria. 2013; 40 (Suppl 1): 29. DOI: 10.1097/SHK.0b013e3182a5906f
41. Cain S.W., Chang A.M., Vlasac I., Tare A., Anderson C., Czeisler C.A., Saxena R. Circadian rhythms in plasma brain-derived neurotrophic factor differ in men and women. *J. Biol. Rhythms.* 2017; 32 (1): 75–82. DOI: 10.1177/0748730417693124. PMID: 28326910
42. Brague J.C., Swann J.M. Sexual dimorphic expression of TrkB, TrkB-T1, and BDNF in the medial preoptic area of the Syrian hamster. *Brain Res.* 2017; 1669: 122–125. DOI: 10.1016/j.brainres.2017.06.008. PMID: 28606780
43. Kight K.E., McCarthy M.M. Sex differences and estrogen regulation of BDNF gene expression, but not propeptide content, in the developing hippocampus. *J. Neurosci. Res.* 2017; 95 (1–2): 345–354. DOI: 10.1002/jnr.23920. PMID: 27870444
44. Atwi S., McMahon D., Scharfman H., MacLusky N.J. Androgen modulation of hippocampal structure and function. *Neuroscientist.* 2016; 22 (1): 46–60. DOI: 10.1177/1073858414558065. PMID: 25416742
45. Franklin T.B., Perrot-Sinal T.S. Sex and ovarian steroids modulate brain-derived neurotrophic factor (BDNF) protein levels in rat hippocampus under stressful and non-stressful conditions. *Psychoneuroendocrinology.* 2006; 31 (1): 38–48. DOI: 10.1016/j.psyneuen.2005.05.008. PMID: 15996825
46. Carbone D.L., Handa R.J. Sex and stress hormone influences on the expression and activity of brain-derived neurotrophic factor. *Neuroscience.* 2013; 239: 295–303. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2012. 10.073. PMID: 23211562
47. Miñano A., Xifró X., Pérez V., Barneda-Zahonero B., Saura C.A., Rodríguez-Alvarez J. Estradiol facilitates neurite maintenance by a Src/Ras/ERK signalling pathway. *Mol. Cell Neurosci.* 2008; 39 (2): 143–151. DOI: 10.1016/j.mcn.2008.06.001. PMID: 18620059
48. Bender R.A., Zhou L., Wilkars W., Fester L., Lanowski J.S., Paysen D., König A., Rune G.M. Roles of 17 α -estradiol involve regulation of reelin expression and synaptogenesis in the dentate gyrus. *Cereb. Cortex.* 2010; 20 (12): 2985–2995. DOI: 10.1093/cercor/bhq047. PMID: 20421250
49. Chan C.B., Ye K. Sex differences in brain-derived neurotrophic factor signaling and functions. *J. Neurosci. Res.* 2017; 95 (1–2): 328–335. DOI: 10.1002/jnr.23863. PMID: 27870419
50. Wei Y.C., Wang S.R., Xu X.H. Sex differences in brain-derived neurotrophic factor signaling: functions and implications. *J. Neurosci. Res.* 2017; 95 (1–2): 336–344. DOI: 10.1002/jnr.23897. PMID: 27870405

Поступила 04.07.17

Received 04.07.17

Нелинейные локальные деформации мембран эритроцитов: нормальные эритроциты (Часть 1)

А. М. Черныш^{1,2}, Е. К. Козлова^{1,2}, В. В. Мороз¹, В. А. Сергунова¹,
О. Е. Гудкова¹, А. П. Козлов², Е. А. Манченко¹

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

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

Nonlinear Local Deformations of Erythrocyte Membranes: Normal Erythrocytes (Part 1)

Alexander M. Chernysh^{1,2}, Elena K. Kozlova^{1,2}, Viktor V. Moroz¹, Viktoria A. Sergunova¹,
Olga E. Gudkova¹, Alexander P. Kozlov², Ekaterina A. Manchenko¹

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

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

Изучение механических свойств мембран эритроцитов — острая проблема в практической реаниматологии и реабилитологии, так как способность эритроцитов деформироваться определяет возможность их прохождения через капиллярную сеть и реологию крови в целом.

Цель работы: исследование процесса нелинейной деформации мембран нормальных эритроцитов.

Материалы и методы. Методом атомно-силовой спектроскопии исследовали локальную жесткость мембран эритроцитов: дискоцитов — на торе и на впадине, планоцитов — на поверхности клетки.

Результаты. Процесс нелинейной деформации описывали функциями $h(z)$, $\Delta h/\Delta z(h)$ и $\mu(h)$. Этот набор функций полно описывает процесс индентации (погружения) зонда в мембраны. Показали, что пошаговые зависимости коэффициента жесткости участков мембран существенно различаются и зависят от ее состояния.

Заключение. Предложенный подход может быть использован при проведении фундаментальных и клинических исследований свойств клеток крови в норме и при различных заболеваниях. Особенно эффективным метод регистрации нелинейных деформаций может быть в практике реаниматологии и реабилитологии.

Ключевые слова: мембраны эритроцитов; нелинейная деформация; атомно-силовая спектроскопия; кинетика погружения зонда

Investigation of mechanical properties of erythrocyte membranes is a pressing issue in practical reanimatology and rehabilitation, because erythrocyte's ability to deform determines the possibility of their passage through capillary network and blood rheology in general.

The purpose of the work: to study the process of nonlinear deformation of membranes of normal erythrocytes by the method of atomic force spectroscopy.

Materials and Methods. The local stiffness of erythrocyte membranes was studied: that of diskocytes — on the torus and on the depression, that of planocytes — on the cell surface. Atomic force spectroscopy was used for cell membrane study.

Results. The nonlinear deformation process was described by functions $h(z)$, $\Delta h/\Delta z(h)$, and $\mu(h)$. This set of functions describes in full the process of probe incorporation (submergence) into membranes. It has been shown that stepwise dependencies of the stiffness coefficient of membrane segments differ significantly and depend on its condition.

Conclusion. The suggested approach may be used in fundamental and clinical studies of blood cells' properties in the norm and different diseases. The method of recording nonlinear deformations may be especially efficient in the reanimatology and rehabilitation practice.

Keywords: nonlinear deformation; erythrocyte membranes; atomic force spectroscopy; probe submergence kinetics

DOI:10.15360/1813-9779-2017-5-58-68

Адрес для корреспонденции:

Александр Черныш
E-mail: orbf@mail.ru

Correspondence to:

Alexander Chernysh
E-mail: orbf@mail.ru

Введение

Изучение механических свойств мембран эритроцитов — одна из ключевых проблем нормальной и патологической физиологии крови. Способность эритроцитов деформироваться определяет возможность их прохождения через капиллярную сеть и реологию крови в целом [1]. Особенно остро стоит эта проблема в практической реаниматологии и реабилитологии. Это определяется тем, что при критических состояниях, при кровопотерях, при сочетанных травмах собственные параметры мембран эритроцитов меняются в широких пределах [2, 3].

Атомно-силовая спектроскопия (АСС) — уникальный метод исследования механических свойств биологических мембран. Он позволяет получать изображения наноповерхности мембран и, практически одновременно, исследовать ее способность деформироваться (прогибаться) под действием индентора [4, 5]. Так измеряют жесткость стенок сосудов, фрагментов мышечных структур, фибробластов [6], клеток эпителия и эндотелия [7, 8], хромосом, липосом, дрожжей [9] бактериальных клеток [10–12], кардиомиоцитов [13], тканей мозга [14] и ряд других.

По силовым кривым, измеренным в поверхностном слое, рассчитывается модуль Юнга, который приписывается всему объему материала [15].

Компоненты мембраны эритроцитов имеют собственные механические свойства. Мягкий, практически прозрачный для зонда, липидный бислой, жесткий спектриновый матрикс — цитоскелет, протеиновые узлы связей — белки band 4.1, band 3, анкирина, актина и ряда других. В силу многочисленных и достаточно прочных связей между фосфолипидным бислоем и спектриновым матриксом при действии на клетку индентора эти структуры ведут себя как единая неоднородная (в смысле упруго-эластичных свойств) композитная конструкция клетки.

Цель работы — исследование процесса нелинейной деформации мембран нормальных эритроцитов.

Материал и методы

Метод измерения и объект. Измерения локальной жесткости мембраны эритроцитов проводили методом атомно-силовой спектроскопии [16]. Использовали атомный силовой микроскоп (АСМ) «Integra Prima NT-MDT» (Россия). Кантилеверы SD-R150-NCL (Nanosensor, Switzerland), радиус R зонда 150 нм, высота зонда 15 мкм, коэффициент упругости кантилевера $K=36$ Н/м, резонансная частота 190 кГц.

Для получения изображений проводили сканирование эритроцитов в резонансном режиме в поле АСМ 100×100 мкм, выбирали клетку для исследования (группу клеток), сканировали в поле 10×10 мкм. Затем в режиме атомно-силовой спектроскопии устанавлива-

Introduction

Clarifying the mechanical properties of erythrocyte membranes is a key problem of normal and pathological physiology of blood. Erythrocytes' ability to deform determines the possibility of their passing through capillary network and blood rheology in general [1]. This issue is particularly relevant in practical reanimatology and rehabilitation, because in critical conditions, blood losses, concomitant injuries, the parameters of erythrocyte membranes vary in a wide range [2, 3].

Atomic-force spectroscopy (APS) is a unique method of investigating the mechanical properties of biological membranes. It allows acquiring images of membrane nano-surfaces and studies of its ability to deform (yield) under the indenter's action [4, 5]. In this way, stiffness of vascular walls, fragments of muscular structures, fibroblasts [6], epithelial and endothelial cells [7, 8], chromosomes, liposomes, yeast [9] bacterial cells [10–12] кардиомиоцитов [13] brain tissue and some others [14] are measured.

Based on the force curves measured in the surface layer, Young's modulus is calculated, which is attributed to the whole volume of material [15].

Erythrocyte membrane components have their own mechanical properties: soft, almost transparent for the probe, lipid bilayer, stiff spectrin matrix — cytoskeleton, protein links nodes — proteins band 4.1, band 3, ankyrin, actin, and otherones. By virtue of multiple and sufficiently strong links between phospholipid bilayer and spectrin matrix, under indenter's action on a cell, the behavior of those structures constitutes a single heterogeneous (in terms of viscoelastic properties) composite cellular structure.

Purpose of the work: to study the process of nonlinear deformation of membranes of normal erythrocytes by the method of atomic force spectroscopy.

Materials and Methods

Method of Measurement and Object. Measurements of the local stiffness of erythrocyte membrane were performed with the aid of atomic-force spectroscopy [16]. Atomic-force microscope (AFM) 'Integra Prima NT-MDT' (Russia) was used. Cantilevers SD-R150-NCL (Nanosensor, Switzerland), probe radius R is 150 nm, probe height is 15 μ m, cantilever elasticity coefficient $K=36$ N/m, resonant frequency = 190 kHz.

To receive images, erythrocytes were scanned in a resonance mode in AFM 100×100 μ m field, a cell (or group of cells) were selected for analysis and scanned in the field of 10×10 μ m. Thereafter, in an atomic-force spectroscopy mode, a marker was placed on the cell membrane image surface and the region was exposed to an indenter (probe) acting with the force F . Force curves were obtained [17].

Local stiffness of membranes was measured in formed monolayers of erythrocytes mounted on a slide. Monolayers of cells were produced with the aid of special

ли маркер на изображении мембраны клетки и действовали на эту область индентором (зондом) с силой F . Получали силовые кривые [17].

Локальную жесткость мембран измеряли в сформированных монослоях эритроцитов на предметном стекле. Монослой клеток получали с помощью специализированного устройства «V-Sample VISION» (Австрия). Измерения проводили при температуре 18°C сразу после формирования монослоя. Измерения, проведенные в этих условиях, давали воспроизводимые результаты.

Забор крови осуществляли у здоровых пациентов на добровольной основе при профилактических осмотрах, и все дальнейшие исследования проводили *in vitro*. В исследовании использовали кровь 6 доноров мужского пола от 23 до 34 лет. Все исследования проводили с учетом требований Хельсинской декларации Всемирной ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2000 г, а также с нормами этического комитета ФНКЦ РР.

Исследовали локальную жесткость мембран красных клеток крови: дискоцитов — на торе и на впадине, планоцитов — на поверхности клетки. Анализировали по 5 дискоцитов и по 4 планоцита каждого донора. На каждом дискоците проводили по 4 измерения локальной жесткости мембран на торе и по 3 на впадине. Планоциты в крови доноров — результат физиологического пойкилоцитоза. На поверхности каждого планоцита измеряли локальную жесткость 4 фрагментов. Всего измерено 120 фрагментов на торе, 90 фрагментов во впадине дискоцитов и 96 фрагментов на планоцитах. Статистическую обработку данных проводили с помощью стандартной программы Origin 9, (Origin Lab Corporation, USA). Строили гистограммы, определяли среднее значение, величину среднеквадратического отклонения и получали интервальную оценку, оценку достоверности полученных результатов, оценку достоверности различий. Достоверность различий оценивали с помощью однофакторного дисперсионного анализа (One-way, ANOVA).

Требования к процессу измерений и к зондам. Коэффициент упругости K кантилевера (консоли) должен быть соизмерим со средним коэффициентом жесткости μ исследуемого материала (мембраны клетки) [18]. Если $K \ll \mu$, то зонд внедряется только в приповерхностный слой. Это не даст возможности оценить упруго-эластичные свойства неоднородного материала мембраны. Исходя из экспериментальных данных оптимальное значение K для измерения локальной жесткости мембран эритроцитов лежит в пределах 10–50 Н/м для сухих клеток и 1,0–0,1 Н/м для нативных клеток.

Радиус R зонда должен быть не менее 100 нм, оптимально 100–200 нм. Малая величина R (10–30 нм) приводит к проникновению зонда в структуру мембраны через липидный бислой и через полые поля цитоскелета [19]. Результаты таких измерений не воспроизводимы. Поэтому для регистрации μ мембраны необходимо, чтобы R был больше размера ячейки спектринного матрикса. Радиус более 400 нм не позволит зонду погрузиться в мембрану. В наших работах мы использовали зонды с радиусом 150 нм.

В работе отдельно провели испытания кантилеверов SD-Sphere-NCH-S-10 (Nanosensor, Switzerland),

device — V-Sample VISION (Austria). Measurements were done at a temperature of 18°C immediately after a monolayer has been formed. Measurements were carried out in the above conditions that delivered reproducible results.

Blood was harvested from patients on a voluntary basis during preventive examinations, and all subsequent analysis were performed *in vitro*. In the study, blood of 6 male donors aged 23 to 34 years was used. All studies followed the requirements of the Helsinki Declaration of the World Medical Association «Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects» as amended in 2000, and the Protocol of the Ethics Committee of the Federal Research and Clinical Center for Intensive Care Medicine and Rehabilitation.

The local stiffnesses of erythrocyte membranes were studied: that of diskocytes — on the torus and on the depression, that of planocytes — on the cell surface. 5 diskocytes and 4 planocytes per each donor were analyzed. On each diskocyte, 4 measurements of membrane stiffness were done on the torus and 3 measurements — on the depression. Planocytes in donors' blood resulted from the physiological poikilocytosis. On the surface of each planocyte, local stiffness of 4 fragments was measured. In total, 120 fragments were measured on the torus and 90 fragments were measured on the depression of diskocytes, and 96 fragments were measured on planocytes. Statistic processing of data was performed with the aid of standard software Origin 9 (Origin Lab Corporation, USA). Histograms were created, the mean, mean-square deviations, intervals, confidence estimation of the results and significance of differences were determined by One-way-ANOVA.

Requirements to the Process of Measurements and Probes. The elasticity coefficient K of a cantilever (console) should be commensurable with the mean stiffness coefficient μ of the material under investigation (cell membrane) [18]. If $K \ll \mu$, probe penetrates only into the near-surface layer. This does not allow evaluating *Это не даст возможности оценить* viscoelastic properties of the heterogeneous membrane material. Based on experimental data, the optimal K for measuring local stiffness of erythrocyte membranes is within the range of 10–50 N/m for dry cells and 1.0–0.1 N/m for native cells.

Radius R of the probe should be not less than 100 nm, the optimal range is 100–200 nm. A small R (10–30 nm) results in probe's penetration into the membrane structure through lipid bilayer and hollow fields of cytoskeleton [19]. Results of such measurements are not reproducible. Hence, for recording membrane's μ , it is necessary for R to be larger than the size of the spectrin matrix cellule. A radius exceeding 400 nm will preclude probe submergence into the membrane. In our work, we used probes with a radius of 150 nm.

Within the work, separate tests of cantilevers SD-Sphere-NCH-S-10 (Nanosensor, Switzerland), probe radius $R=400$ nm, were carried out. Such probes were submerged into erythrocyte membrane by 10–14 nm only, which in principle did not allow measuring membranes' deformability.

Cantilever calibration on a completely stiff material (for example, glass) must be performed before and after measurements.

радиус R зонда 400 нм. Такие зонды погружались в мембрану эритроцита лишь на 10–4 нм, что в принципе не позволяло измерять способность мембран деформироваться.

Калибровку кантилевера на абсолютно жестком материале (например, стекле) необходимо проводить до и после измерений.

Время индентации зонда не должно быть коротким. Быстрое погружение может менять характеристики материала [20, 21]. Оптимальное время индентации 5–10 секунд.

При действии индентора могут возникать два типа деформации мембраны: чисто упругая — подчиняется закону Гука и упруго-эластичная, при которой связь между механическим напряжением и относительной деформацией нелинейна [20, 22]. При том и другом виде деформаций после снятия нагрузки мембрана должна восстанавливать свою форму.

Как себя ведет мембрана эритроцита? Для ответа на этот вопрос после деформации мембраны в результате действия зонда (измерения жесткости) вновь сканировали поверхность той же области клетки. Мембрана эритроцита восстановила свою начальную форму, остаточная деформация не наблюдалась. Подобные результаты приведены и в [23]. Мембрана, под действием индентора (зонда) вел себя как упруго — эластичный деформируемый материал.

Результаты и обсуждение

Построение силовых кривых. Способность мембраны под действием индентора деформироваться внутрь клетки оценивали коэффициентом локальной жесткости μ (Н/м) на глубине h .

Эмпирическая силовая кривая, полученная с помощью АСМ — это зависимость тока рассогласования I фотодиода, а, следовательно, отклонения L кантилевера от величины вертикального смещения z пьезосканера. Основание кантилевера закреплено неподвижно, а его конец вместе с зондом отклоняется в результате смещения пьезосканера (рис. 1, а, III). Прямой ход пьезосканера иллюстрируется на рис. 1, а, а процесс погружения индентора в мембрану и ее деформация внутрь эритроцита на рис. 1, б.

На АСМ программно задаются максимальные величины смещения пьезосканера z и значения тока I , то есть величины приложенной силы, например: $z_{\max} = 500$ нм, $I_{\max} = 1.5$ нА. Если $\mu \gg K$ (стекло), то между силой F и отклонением кантилевера L существует зависимость, определяемая законом Гука.

$$F = -KL \quad (1)$$

Если зонд взаимодействует с мембраной и $\mu \approx K$ то:

$$F = -[1/K + 1/\mu(h)] L \quad (1a)$$

и зонд погружается в мембрану клетки на глубину h ($h \leq z$) (рис. 1, б). При этом коэффициент μ зависит от глубины погружения зонда — $\mu(h)$, и следовательно функция (1a) нелинейна.

На рис. 2 представлены изображения клеток в поле АСМ и силовые кривые для мембраны тора

The time of probe indentation should not be short. Fast submergence might alter material's characteristics [20, 21]. The optimal time of indentation is 5–10 seconds.

Indenter action may cause two types of membrane deformation: purely elastic — it follows Hook's law, and viscoelastic wherein the connection between mechanic stress and relative deformation is nonlinear [20, 22]. In case of both types of deformations, after the load is removed, membrane must recover its shape.

What is the erythrocyte membrane's behavior? To answer this question, after probe-caused membrane deformation (stiffness measurement), the surface of the same region of the cell was scanned again. Erythrocyte membrane recovered its initial shape, no residual deformation was observed. Similar results are given also in [23]. Under the action of an indenter (probe), the membrane behaved as a viscoelastic deformable material.

Results and Discussion

Force Curve Building. Membrane's ability to deform towards inside of a cell under the action of an indenter was evaluated with the help of local stiffness coefficient μ (N/m) at depth h .

The empirical force curve obtained with the help of AFM is the dependence of the photodiode misalignment current, hence, cantilever deviation L from piezoscanner vertical shift z . The cantilever base is fixed rigidly, while its end together with the probe deviates as a result of piezoscanner shift (fig. 1, a, III). Piezoscanner's straight path is illustrated on figure 1a; the process of indenter submersion into the membrane and its deformation inside erythrocyte is shown in fig. 1, b.

In AFM, the program sets the maximal limits of piezoscanner shift z and current I , i.e. the applied force values, for example: $z_{\max} = 500$ nm, $I_{\max} = 1.5$ nA. If $\mu \gg K$ (glass), then there is dependence between force F and cantilever deviation L , which is determined by the Hook's law.

$$F = -KL \quad (1)$$

If a probe interacts with a membrane and $\mu \approx K$, then:

$$F = -[1/K + 1/\mu(h)] L \quad (1a)$$

and the probe submerges into the cell membrane to depth h ($h \leq z$) (fig. 1, b). In this instance, coefficient μ depends on the probe submergence depth — $\mu(h)$, and, hence, function (1a) is nonlinear.

Figure 2 shows images of cells in the AFM field and force curves for diskocyte membrane torus — region 'Tor', — diskocyte membrane depression — region 'Dep', and planocyte — region 'Pl'.

These curves differ from each other by the behavior of material deformed under the applied force action. The slope of straight line for glass is determined by cantilever stiffness K — elastic deformation model. Point A is the point of contact of the probe and membrane. This point is determined empirically as a point in which dI/dz becomes greater than 0. Point B is the point where the curve reaches

дискоцита — область «Тор», — мембраны впадины дискоцита — область «Дер» и — планочита — область «Pl».

Эти кривые отличаются друг от друга поведением деформируемого материала под действием приложенной силы. Тангенс угла наклона прямой для стекла определяется жесткостью кантилевера K — модель упругой деформации. Точка А — точка касания зонда и мембраны. Эта точка определяется эмпирически, как точка, в которой dI/dz становится больше 0. Точка В — точка выхода кривой на упругую деформацию. Для мембран клеток (рис. 2) участок А–В — фаза упруго-эластичной деформации, участок В–С — чисто упругой.

Анализ силовых кривых.

Дальнейший анализ процесса индентации зонда требует перехода к координатам $F(z)$ и ряда преобразований. Переход к $F(z)$ и инвертирование графиков осуществляется согласно выражению:

$$F(z) = (I_m/I_g)Kz, (2)$$

где: I_m и I_g — токи рассогласования при действии индентора на мембрану и стекло соответственно.

Для области, расположенной на торе дискоцита, зависимость $F(z)$ представлена на рис. 3.

Прямая «G» — это зависимость, описываемая выражением (1). Кривая «M» — зависимость силы F , которая прикладывается к поверхности мембраны тора дискоцита со стороны зонда при его подъеме на величину z .

Сила F определяет отклонение кантилевера L и одновременно деформацию самой мембраны, то есть погружение зонда в мембрану на глубину h .

Кривая «M» содержит в себе три компонента: — компоненту нелинейной упругости мембраны, — компоненту упругости кантилевера, — компоненту переменной геометрии индентора, определяемую формулой Герца [15].

Величина h погружения зонда в мембрану:

$$h = z - L, (3)$$

или в координатах рисунка 3:

$$h_i = z_m - z_g (3a)$$

Введем параметр Δh — углубление зонда в мембрану клетки при одинаковом дискретном подъеме пьезосканера на величину Δz .

Для разных углублений h_i величина Δh может быть разной в зависимости от свойств данной мембраны. Величина Δz задается исходя из свойств мембраны клетки и необходимой дискретности описания изучаемой структуры.

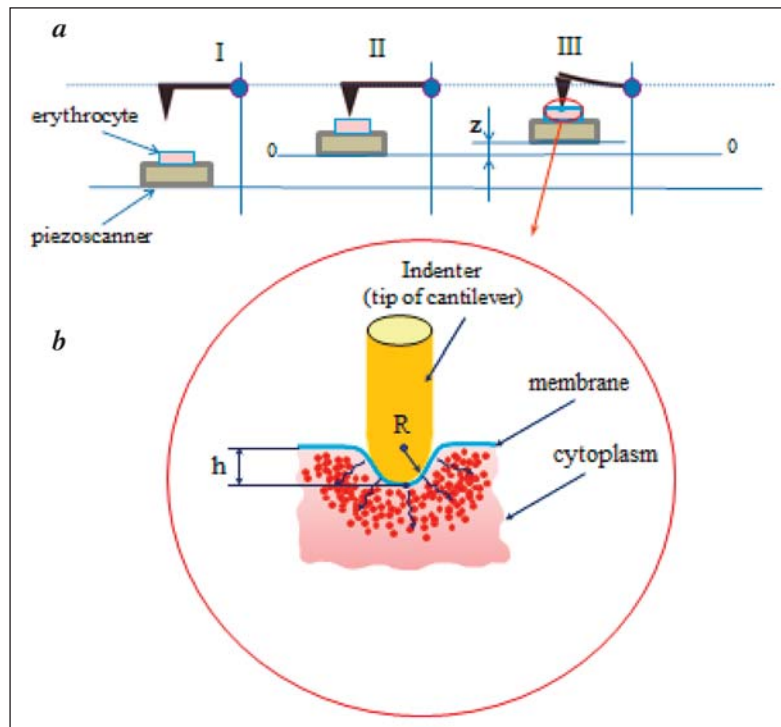


Рис. 1. Измерение жесткости мембраны в атомно-силовой спектроскопии.

Fig. 1. AFM study of erythrocyte membrane rigidity.

Note. a: I–II — piezoscanner and erythrocyte bring to Z level; III — probe indentation; b: dipping the cantilever into the cell membrane to a depth h , zoomed.

Примечание. Erythrocyte — эритроцит; piezoscanner — пьезосканер; Indenter (tip of cantilever) — индентер (кончик кантилевера); membrane — мембрана; cytoplasm — цитоплазма. a: I–II — подвод пьезосканера и эритроцита на величину Z ; III — индентация зонда в клетку; b: погружение кантилевера в мембрану клетки на глубину h , увеличенный масштаб.

elastic deformation. For cell membranes (fig. 2), region A–B is the phase of viscoelastic deformation, region B–C is purely elastic deformation.

2.4. Analysis of Force Curves. Further analysis of the process of probe indentation requires transition to coordinates $F(z)$ and a number of transformations. Transition to $F(z)$ and inversion of diagrams are done according to expression:

$$F(z) = (I_m/I_g)Kz, (2)$$

where: I_m and I_g are currents of misalignment at indenter's action on the membrane and glass, respectively.

For the region located on the diskocyte torus, dependence $F(z)$ is shown in fig. 3.

Straight line 'G' is the dependence described by expression (1). Curve 'M' is force F that is applied to the diskocyte torus membrane surface on the side of the probe when it is lifted to z .

Force F determines cantilever deviation L and simultaneously deformation of the membrane itself, i.e. probe submergence into membrane to depth h .

Curve 'M' contains three components: — the component of membrane nonlinear elasticity, — the component of cantilever elasticity, — the component

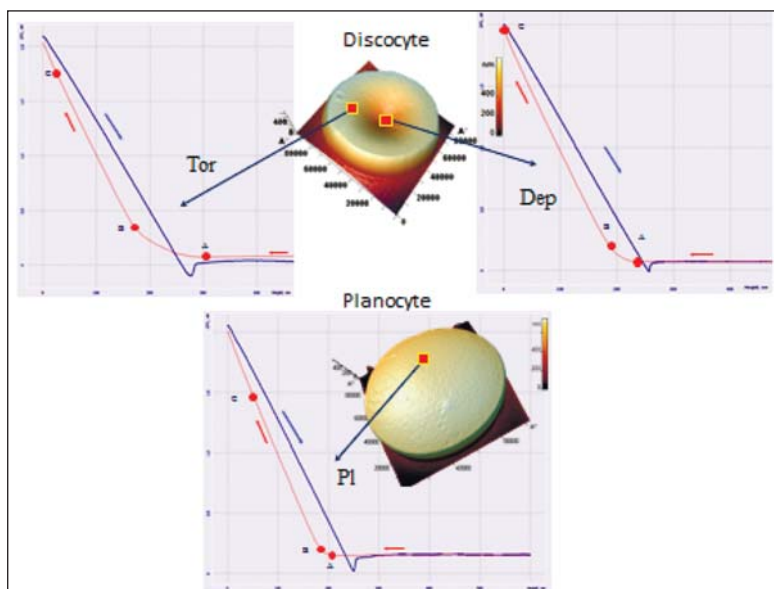


Рис. 2. Дискцит и планцит в поле АСМ, силовые кривые для клеточных мембран.

Fig. 2. Images of diskocyte and planocyte in the AFM field and force curves for cells membrane.

Note. For fig. 2, 4, tabl. 1, 2: Tor — diskocyte torus; Dep — diskocyte membrane depression; Pl — planocyte. A — the point of contact of the probe and membrane; B — the point where the curve reaches elastic deformation; region A—B is the phase of viscoelastic deformation; region B—C is purely elastic deformation. The arrows show the direction of the piezoscaner movement.

Примечание. Для рис. 2, 4, табл. 1, 2: Diskocyte — дискцит; Tor — область тора; Dep — область впадины; Planocyte, Pl — планцит. А — точка касания зонда и мембраны; В — точка выхода кривой на упругую деформацию; А—В упруго-эластичная деформация; В—С — упругая деформация. Стрелки указывают направление хода пьезосканера.

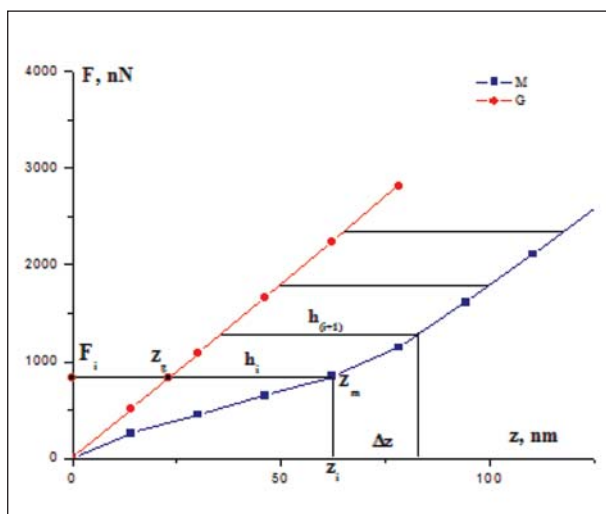


Рис. 3. Функции $F(Z)$ для области, расположенной на торе дискцита.

Fig. 3. $F(Z)$ curves for diskocyte torus region.

Note. Curve M is force F that is applied to the diskocyte torus membrane surface on the side of the probe when it is lifted to Z . Curve G is the dependence described by expression (1). h — probe dipping, nm.

Примечание. М — для мембраны эритроцита; G — для абсолютно твердого тела (стекло); F — сила, действующая на образец (nN), Z — величина смещения пьезосканера (nm), h — глубина погружения зонда (nm).

of indenter variable geometry determined by the Hertz formula [1].

Value h of probe submergence into membrane is:

$$h = z - L, \quad (3)$$

or in the coordinates of figure 3:

$$h_i = z_m - z_g \quad (3a)$$

Let us introduce parameter Δh — probe deepening into the cell membrane at equal discrete rise of the piezoscaner by value Δz .

For different deepenings h_i , value Δh may differ depending on the properties of a particular membrane. Value Δz is set based on the cell membrane's properties and required discretion of description of the structure under investigation.

Further analysis requires building dependence $\Delta h(h)$. How can this dependence be obtained?

To this end, in the beginning, it is necessary to find dependence $\Delta h(z)$. Let us set discrete step Δz , for example, 20 nm in figure 3. For each value of z_m (curve 'M'), we shall determine values z_g (straight line 'G') for the same force F_i . Function $h(z)$ is determined by expression (3a).

Then:

$$\Delta h_i = h_{i+1} - h_i \quad (4)$$

for sequence of z_i via chosen

discrete step Δz .

To obtain the resulting characteristic — the value of discrete submergence of probe into membrane, at set step Δz we will obtain dependence looking like:

$$dh/dz = f(h) \quad (5)$$

or for discrete representation of function:

$$\Delta h / \Delta z = f(h) \quad (5a)$$

Function (5a) allows describing the process of heterogeneous submergence of a probe into a composite membrane and evaluating membrane's viscoelastic properties. For a fuller description of the probe indentation process, dependence $\mu(h)$ is built. Cantilever elasticity K and membrane local stiffness μ are included successively. Then, from figure 3 and expressions (2) and (3a) for different values h :

$$\mu = I_m K / (I_g - I_m) \quad (6)$$

The diagrams of function $F(z)$, $h(z)$, $\Delta h(z)$, $\Delta h(h)$, $\Delta h / \Delta z(h)$, and $\mu(h)$ according to equations (2–6) are calculated and built by special programs written for realization of this method.

Process of Probe Indentation into Membranes of Normal Erythrocytes. Figure 4 shows dependencies $h(z)$, $\Delta h / \Delta z(h)$, and $\mu(h)$ for diskocyte torus, diskocyte depression, and planocyte. These figures contain respective statistical dispersions of values under analysis.

Experimental Studies

Таблица 1. Средние значения величин $z_{\max}$, $L_{\max}$ и $h_{\max}$ для дискоцита, тора и впадины дискоцита.
Table 1. Mean $z_{\max}$, $L_{\max}$, and $h_{\max}$ for diskocyte torus, diskocyte depression, and planocyte.

Parameters, nm	Values of parameters in cells		
	Tor	Dep	Planocyte (Pl)
$z_{\max}$	223±27	203±25	189±21
$L_{\max}$	161±19	168±14	162±12
$h_{\max}$	62±7	35±5	27±3

Примечание. Для табл.1, 2: Parameters — параметры; Values of parameters in cells — значения параметров в клетках.

Для дальнейшего анализа надо построить зависимость $\Delta h(h)$. Как получить эту зависимость?

Для этого, в начале, надо найти зависимость $\Delta h(z)$. Зададим дискретный шаг Δz , например, 20 нм на рисунке 3. Для каждого значения z_m (кривая «М») определим величины z_g (прямая «G») для одной и той же силы F_i . Функция $h(z)$ определяется выражением (3а).

Тогда:

$$\Delta h_i = h_{i+1} - h_i \quad (4)$$

для последовательности z_i через выбранный дискретный шаг Δz .

Для получения результирующей характеристики — величины дискретного погружения зонда в мембрану, при заданном шаге Δz получаем зависимость вида:

$$dh/dz = f(h) \quad (5)$$

или для дискретного представления функции:

$$\Delta h / \Delta z = f(h) \quad (5a)$$

Функция (5а) позволяет описать процесс неоднородного погружения зонда в композитную мембрану и оценить упруго-эластичные свойства мембраны. Для более полного описания процесса индентации зонда строится зависимость $\mu(h)$. Упругость кантилевера K и локальная жесткость мембраны μ включены последовательно. Тогда из рисунка 3 и выражений (2) и (3а) для различных значений h :

$$\mu = I_m K / (I_g - I_m) \quad (6)$$

Графики функции $F(z)$, $h(z)$, $\Delta h(z)$, $\Delta h(h)$, $\Delta h / \Delta z(h)$ и $\mu(h)$ в соответствии с уравнениями (2–6) вычисляются и строятся специализированными программами написанными для реализации этого метода.

Процесс индентации зонда в мембраны нормальных эритроцитов. На рис. 4 приведены зависимости $h(z)$, $\Delta h / \Delta z(h)$ и $\mu(h)$ для тора дискоцита, впадины дискоцита и для планоцита. На этих рисунках приведены соответствующие статистические разбросы оцениваемых величин.

Величина максимального погружения $h_{\max}$ зонда может меняться в широком диапазоне для разных клеток. Средние значения величин $z_{\max}$, $L_{\max}$ и $h_{\max}$ для тора дискоцита, впадины дискоцита и планоцита, представлены в табл. 1.

На каждом графике $h(z)$ можно выделить два характерных участка: линейный и нелинейный. Для графика Тор дискоцита граница этих

The value of maximal probe submergence $h_{\max}$ may vary within a wide range for different cells. Mean values of $z_{\max}$, $L_{\max}$, and $h_{\max}$ for diskocyte torus, diskocyte depression, and planocyte are given in table 1.

On each diagram of $h(z)$, two typical regions can be identified: linear and nonlinear. For the diskocyte Tor diagram, the border of these regions $z = 78 \pm 11$ nm, for the diskocyte Dep diagram $z = 34 \pm 4$ nm, and for planocyte Pl diagram $z = 28 \pm 4$ nm. Up to these borders, h increases from z almost linearly, i.e. elastic deformation takes place (1). After these borders, function $h(z)$ is nonlinear, membrane behaves as a viscoelastic medium and follows viscoelastic deformation. The type of function (5а) for diskocyte torus is shown in fig. 4, b Tor.

Below, in the description of results, mean values are given.

The surface layer up to 10 nm is almost transparent for the indenter: $\Delta h / \Delta z = 0.85$. In the layer of 10–50 nm, local stiffness grew and normalized value $\Delta h / \Delta z$ dropped to 0.19. In the next layer of 50–62 nm, $\Delta h / \Delta z$ dropped to 0. At depth $h = 62$ nm, the probe stopped submersion into the cell membrane.

For diskocyte depression (Dep), these dependencies had the same trends as for Tor. In the surface layer to 8 nm, decrease of $\Delta h / \Delta z$ amounted to 0.78, and in the layer of 8–35 nm, $\Delta h / \Delta z$ dropped monotonously to 0. At $h = 35$ nm, $\Delta h = 0$, which meant probe stop.

Biological objects, in particular, erythrocyte membranes, feature high variability of properties and structural peculiarities. Therefore, mechanical properties of membranes of different erythrocytes may vary considerably. For planocyte (fig. 4, b) to 7 nm, decrease of $\Delta h / \Delta z$ amounted to 0.85. Thereafter, to $h = 21$ nm, $\Delta h / \Delta z$ decreased to 0.1, and at $h = 28$ nm, the probe stopped submersion into the membrane.

From dependence $F(z)$ (fig. 2) and (6), we obtain the dependence of cell membranes' local stiffness coefficient μ on probe submergence depth h (fig. 4, c). As the probe submerged (membrane dipped towards inside of the cell), coefficient μ increases at first linearly and then nonlinearly. The borders of the regions of linear and nonlinear dependencies $\mu(h)$ are given in table 2.

A number of papers evaluate Young's modulus E to describe stiffness of a biological object under in-

участков $z=78\pm 11$ нм, для графика Дер дискочита $z=34\pm 4$ нм, а для планочита $Pl\ z=28\pm 4$ нм. До этих границ h растет от z почти линейно, то есть имеет место упругая деформация (1). После этих границ функция $h(z)$ нелинейна, мембрана ведет себя как вязко-упругая среда и подчиняется упруго-эластичной деформации. Вид функции (5a) для тора дискочита представлен на рис. 4, b Tor.

Ниже, при описании результатов приводятся средние значения величин.

Поверхностный слой до 10 нм практически прозрачен для индентора: $\Delta h/\Delta z=0,85$. В слое 10–50 нм локальная жесткость возрастала и нормированная величина $\Delta h/\Delta z$ падала до 0,19. В последующем слое 50–62 нм $\Delta h/\Delta z$ падала до 0. На глубине $h=62$ нм зонд прекращал погружение в мембрану клетки.

Для впадины дискочита (Dep) эти зависимости имели такие же тенденции, что и для Tor. В поверхностном слое до 8 нм падение $\Delta h/\Delta z$ составило 0,78, в слое 8–35 нм величина $\Delta h/\Delta z$ монотонно падала до 0. При $h=35$ нм величина $\Delta h=0$, что означало остановку зонда.

Биологические объекты, в частности, мембраны эритроцитов, обладают высокой вариативностью свойств и структурных особенностей. Поэтому механические свойства мембран различных эритроцитов могут существенно различаться. Так для планочита (рис. 4, b) до 7 нм падение $\Delta h/\Delta z$ составило 0,85. Затем до $h=21$ нм $\Delta h/\Delta z$ уменьшилась до 0,1, а, при $h=28$ нм, зонд прекратил погружение в мембрану.

Из зависимости $F(z)$ (рис. 2) и (6) получаем зависимость коэффициента локальной жесткости μ мембран клетки от глубины h погружения зонда (рис. 4, c). По мере погружения зонда (прогиба мембраны внутрь клетки) коэффициент μ возрастает вначале линейно, а затем нелинейно. Границы участков линейной и нелинейной зависимостей $\mu(h)$ представлены в табл. 2.

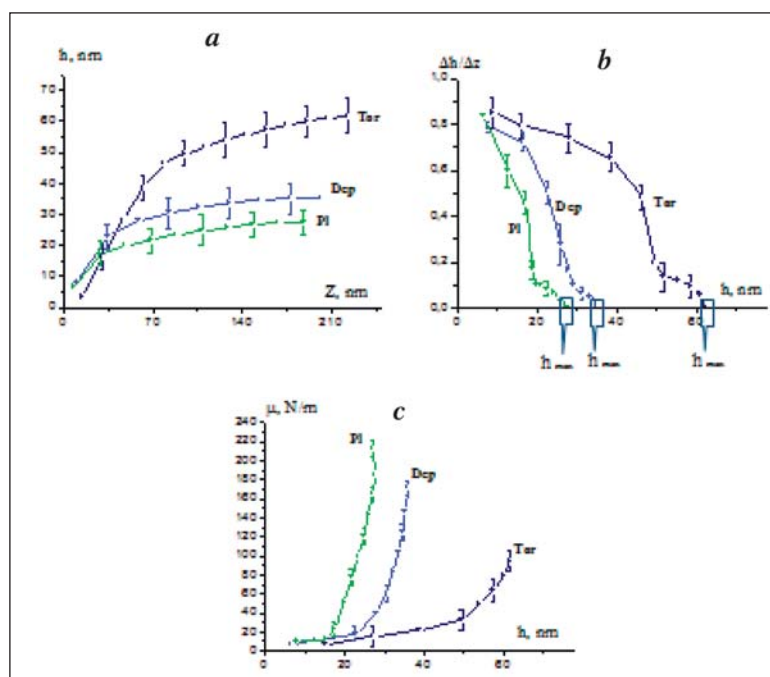


Рис. 4. Зависимости $h(z)$, $\Delta h/\Delta z(h)$ и $\mu(h)$ для планочита, тора и впадины дискочита.

Fig. 4. Dependencies $h(z)$, $\Delta h/\Delta z(h)$ and $\mu(h)$ for diskocyte torus, diskocyte depression and planocyte.

vestigation [24–26]. It is assumed that the material is homogenous and, hence, value E measured for the surface layer may be attributed to the whole section (volume) of an object.

Such interpolation will be inadequate for the case of heterogeneous composite membrane [9, 27], because functions $h(z)$ and $\mu(h)$ are nonlinear (fig. 4, a) and membrane behaves as a viscoelastic medium.

This approach allows evaluating local deformations of RBC membranes not only by the end value of h_{max} , but also evaluating changes of nonlinear stiffness of membranes as their deformation towards inside of a cell (as probe indentation) increases.

Investigating viscoelastic deformations of erythrocytes' membranes, it should be discussed what physical value can adequately describe properties of such membranes. In this paper these properties are described by functions $h(z)$, $\Delta h/\Delta z(h)$ and $\mu(h)$. This set of functions describes the process of probe indentation (submergence) in membranes fully enough.

Таблица 2. Границы участков линейной и нелинейной зависимостей $\mu(h)$ для нормальных эритроцитов.

Table 2. Borders of the regions of linear and nonlinear dependencies $\mu(h)$ for normal erythrocytes.

Parameters, nm	Values of parameters in cells		
	Tor	Dep	Planocyte (Pl)
Linear region	0–46±5	0–23±3	0–17±2
Nonlinear region	46±5–62±7	23±3–35±5	17±2–27±3

Примечание. Linear region — линейный участок; Nonlinear region — нелинейный участок.

В ряде работ оценивают модуль Юнга E для описания жесткости исследуемого биологического объекта [24–26]. При этом предполагается, что материал однородный и поэтому можно измеренное по поверхностному слою значение E приписать всему сечению (объему) объекта.

Для случая неоднородной композитной мембраны такая интерполяция будет неадекватной [9, 27], так как функции $h(z)$ и $\mu(h)$ нелинейны (рис. 4, а) и мембрана ведет себя как вязкоупругая среда.

Данный подход позволяет оценивать локальные деформации мембран эритроцитов не только по конечной величине $h_{\max}$, но и оценивать изменения нелинейной жесткости мембран по мере увеличения ее деформации внутрь клетки (по мере индентации зонда).

При исследовании упруго-эластичных деформаций мембран эритроцитов следует обсудить, какая физическая величина может адекватно описать свойства таких мембран. В работе эти свойства описываются функциями $h(z)$, $\Delta h/\Delta z(h)$ и $\mu(h)$. Этот набор функций достаточно полно описывает процесс индентации (погружения) зонда в мембраны.

В целом можно судить о жесткости мембраны по величине $h_{\max}$. Чем меньше $h_{\max}$, тем жестче мембрана. Но этот параметр дает лишь общее представление о свойствах мембраны. Если в исследовании поставлена цель изучить локальные свойства различных наноструктур мембраны эритроцита, то необходимо построить функцию $\Delta h/\Delta z(h)$. В контексте обсуждаемой задачи параметр μ имеет определенный физический смысл: он показывает, какую силу F необходимо приложить к зонду, что бы он прогнул мембрану и погрузился на глубину h_i . Если по мере погружения индентора свойства мембраны будут меняться, то и коэффициент μ тоже будет различен для разных величин h_i .

Для неоднородных сред, например, для мембран эритроцитов теоретическая зависимость, определяющая F , будет иметь вид:

$$F = \Psi[\varphi(h), f(S), \Phi(K)] \quad (7)$$

Функция $\varphi(h)$ описывает неоднородное поведение мембраны при погружении зонда. Она включает в себя эмпирические зависимости $h(z)$, $\Delta h/\Delta z(h)$ и $\mu(h)$, но, по-видимому, не описывается полностью только этими функциями. Именно эта функция и является искомой при исследовании механических свойств мембраны клетки.

Функция $f(S)$ учитывает изменение активной составляющей геометрии S зонда при его погружении в мембрану. Эта зависимость описывается формулой Герца. $\Phi(K)$ — функция, определяемая жесткостью кантилевера K (1). Функции $\varphi(h)$, $f(S)$ и $\Phi(K)$ определяют вид эмпирической кривой $F(z)$ для клетки (рис. 2, кривая «М»). Глу-

In general, membrane stiffness can be judged based on $h_{\max}$. The smaller $h_{\max}$ is the stiffer is the membrane. However, this parameter gives just a general idea about membrane properties. If an investigation is aimed at studying local properties of different nanostructures of the erythrocyte membrane, it is necessary to build function $\Delta h/\Delta z(h)$. In the context of the problem under discussion, parameter μ has a definite physical meaning: it shown what force F should be applied to a probe to make it bend the membrane and submerge to depth h_i . If as the indenter submerges, the membrane properties change, then coefficient μ will also be different for different h_i .

For heterogeneous media, for example, erythrocytes' membranes, the theoretic dependence determining F will look as follows:

$$F = \Psi[\varphi(h), f(S), \Phi(K)] \quad (7)$$

Function $\varphi(h)$ describes the heterogeneous behavior of a membrane during probe submergence. It comprises empirical dependencies $h(z)$, $\Delta h/\Delta z(h)$ and $\mu(h)$, but, apparently, it is not fully described by these functions only. It is this function that is sought for during investigation of cell membrane's mechanical properties.

Function $f(S)$ takes into account the change of active component of probe's geometry S during its submersion into a membrane. This dependence is described by the Hertz formula. $\Phi(K)$ is the function determined by cantilever stiffness K (1). Functions $\varphi(h)$, $f(S)$ and $\Phi(K)$ determine the shape of empirical curve $F(z)$ for a cell (fig. 2, curve 'M'). The depth and process of submersion strongly depend on function $\varphi(h)$. Function $f(S)$ has little influence on the end result and may be ignored in indenter submersion recording and model building [27, 28].

Measurement of the local stiffness of red blood cells' membranes addresses the issue of getting information about nanomechanical peculiarities and structure of this region of membrane.

Conclusion

The paper provides the experimental data and substantiates the possibility of measuring local stiffness of blood cell membranes using the method of atomic force spectroscopy. The process of viscoelastic deformation of a membrane accompanying probe indentation is shown. In different cells and even in different zones of one cell, the maximal local stiffness and probe passage process might be different. The suggested approach may be employed in fundamental and clinical studies of parameters blood cells in the norm and diseases. The method of recording nonlinear deformations may be most efficient in the reanimatology and rehabilitation practice.

бина и процесс погружения сильно зависит от функции $\varphi(h)$. Функция $f(S)$ слабо влияет на конечный результат и при регистрации погружения индентора и построении моделей может не учитываться [27, 28].

Измерение локальной жесткости мембран красных клеток крови решает задачу получения информации о наномеханических особенностях и структурном строении данной области мембраны.

Заключение

В работе привели экспериментальные данные и обосновали возможность измерения ло-

кальной жесткости мембран клеток крови, используя метод атомно-силовой спектроскопии. Показали процесс упруго-эластичной деформации мембраны по мере индентации зонда. На разных клетках, и даже в разных зонах одной клетки, максимальная величина локальной жесткости и процесс прохождения зонда могут быть различными. Предложенный подход может быть использован при проведении фундаментальных и клинических исследований свойств клеток крови в норме и при различных заболеваниях. Особенно эффективным метод регистрации нелинейных деформаций может быть в практике реаниматологии и реабилитологии.

Литература

1. Хромова В.С., Мышкин А.Е. Коагуляция цинк-модифицированного гемоглобина. *Журнал общей химии*. 2002; 72 (10): 1645–1649.
2. Gudkova O.Ye., Bushueva A.V., Kozlov A.P., Chernysh A.M. Nanostructure and local rigidity of red blood cells (RBC) under influence of membrane modifiers and ionizing radiation. *Conf. Proc. CLINAM*. 2013; 6: 172–173.
3. Moroz V.V., Chernysh A.M., Kozlova E.K., Borshegovskaya P.Y., Bliznjuk U.A., Rysaeva R.M., Gudkova O.Y. Comparison of red blood cell membrane microstructure after different physicochemical influences: atomic force microscope research. *J. Crit. Care*. 2010; 25 (3): 539.e1–539.e12. DOI: 10.1016/j.jcrc.2010.02.007. PMID: 20381299
4. Roduit C., van der Goot F.G., De Los Rios P., Yersin A., Steiner P., Dietler G., Catsicas S., Lafont F., Kasas S. Elastic membrane heterogeneity of living cells revealed by stiff nanoscale membrane domains. *Biophys. J.* 2008; 94 (4): 1521–1532. DOI: 10.1529/biophysj.107.112862. PMID: 17981897
5. Voitchovsky K., Antoranz Contera S., Kamihira M., Watts A., Ryan J.F. Differential stiffness and lipid mobility in the leaflets of purple membranes. *Biophys. J.* 2006; 90 (6): 2075–2085. DOI: 10.1529/biophysj.105.072405. PMID: 16387758
6. Kuznetsova T.G., Starodubtseva M.N., Yegorenkov N.I., Chizhik S.A., Zhdanov R.I. Atomic force microscopy probing of cell elasticity. *Micron*. 2007; 38 (8): 824–833. DOI: 10.1016/j.micron.2007.06.011. PMID: 17709250
7. Rabinovich Y.I., Daosukho S., Byer K.J., El-Shall H.E., Khan S.R. Direct AFM measurements of adhesion forces between calcium oxalate monohydrate and kidney epithelial cells in the presence of Ca²⁺ and Mg²⁺ ions. *J. Colloid. Interface Sci.* 2008; 325 (2): 594–601. DOI: 10.1016/j.jcis.2008.06.024. PMID: 18619606
8. Bálint Z., Krizbai I.A., Wilhelm I., Farkas A.E., Párducz A., Szegletes Z., Váró G. Changes induced by hyperosmotic mannitol in cerebral endothelial cells: an atomic force microscopic study. *Eur. Biophys. J.* 2007; 36 (2): 113–120. DOI: 10.1007/s00249-006-0112-4. PMID: 17115151
9. Kasas S., Dietler G. Probing nanomechanical properties from biomolecules to living cells. *Pflügers. Arch.* 2008; 456 (1): 13–27. DOI: 10.1007/s00424-008-0448-y. PMID: 18213477
10. Zhao C.X., Shao H.B., Chu L.Y. Aquaporin structure-function relationships: water flow through plant living cells. *Colloids Surf. B. Biointerfaces*. 2008; 62 (2): 163–172. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2007.10.015. PMID: 18063350
11. Volle C.B., Ferguson M.A., Aidala K.E., Spain E.M., Núñez M.E. Quantitative changes in the elasticity and adhesive properties of *Escherichia coli* ZK1056 prey cells during predation by *Bdellovibrio bacteriovorus*. *Langmuir*. 2008; 24 (15): 8102–8110. DOI: 10.1021/la8009354. PMID: 18572929
12. Vadillo-Rodriguez V., Beveridge T.J., Dutcher J.R. Surface viscoelasticity of individual gram-negative bacterial cells measured using atomic force microscopy. *J. Bacteriol.* 2008; 190 (12): 4225–4232. DOI: 10.1128/JB.00132-08. PMID: 18408030
13. Azeloglu E.U., Costa K.D. Dynamic AFM elastography reveals phase dependent mechanical heterogeneity of beating cardiac myocytes. *Conf. Proc. IEEE Eng. Med. Biol. Soc.* 2009; 2009: 7180–7183. DOI: 10.1109/IEMBS.2009.5335316. PMID: 19965272
14. Franze K. Atomic force microscopy and its contribution to understanding the development of the nervous system. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 2011; 21 (5): 530–537. DOI: 10.1016/j.gde.2011.07.001. PMID: 21840706
15. Lekka M., Fornal M., Pyka-Fościk G., Lebed K., Wizner B., Grodzicki T., Styczeń J. Erythrocyte stiffness probed using atomic force microscope. *Biorheology*. 2005; 42 (4): 307–317. PMID: 16227658

References

1. Khromova V.S., Myshkin A.E. Coagulation of zinc-modified hemoglobin. *Rus. J. Gen. Chem.* 2002; 72 (10): 1645–1649. DOI: 10.1023/A:1023356221708. [In Russ., In Engl.]
2. Gudkova O.Ye., Bushueva A.V., Kozlov A.P., Chernysh A.M. Nanostructure and local rigidity of red blood cells (RBC) under influence of membrane modifiers and ionizing radiation. *Conf. Proc. CLINAM*. 2013; 6: 172–173.
3. Moroz V.V., Chernysh A.M., Kozlova E.K., Borshegovskaya P.Y., Bliznjuk U.A., Rysaeva R.M., Gudkova O.Y. Comparison of red blood cell membrane microstructure after different physicochemical influences: atomic force microscope research. *J. Crit. Care*. 2010; 25 (3): 539.e1–539.e12. DOI: 10.1016/j.jcrc.2010.02.007. PMID: 20381299
4. Roduit C., van der Goot F.G., De Los Rios P., Yersin A., Steiner P., Dietler G., Catsicas S., Lafont F., Kasas S. Elastic membrane heterogeneity of living cells revealed by stiff nanoscale membrane domains. *Biophys. J.* 2008; 94 (4): 1521–1532. DOI: 10.1529/biophysj.107.112862. PMID: 17981897
5. Voitchovsky K., Antoranz Contera S., Kamihira M., Watts A., Ryan J.F. Differential stiffness and lipid mobility in the leaflets of purple membranes. *Biophys. J.* 2006; 90 (6): 2075–2085. DOI: 10.1529/biophysj.105.072405. PMID: 16387758
6. Kuznetsova T.G., Starodubtseva M.N., Yegorenkov N.I., Chizhik S.A., Zhdanov R.I. Atomic force microscopy probing of cell elasticity. *Micron*. 2007; 38 (8): 824–833. DOI: 10.1016/j.micron.2007.06.011. PMID: 17709250
7. Rabinovich Y.I., Daosukho S., Byer K.J., El-Shall H.E., Khan S.R. Direct AFM measurements of adhesion forces between calcium oxalate monohydrate and kidney epithelial cells in the presence of Ca²⁺ and Mg²⁺ ions. *J. Colloid. Interface Sci.* 2008; 325 (2): 594–601. DOI: 10.1016/j.jcis.2008.06.024. PMID: 18619606
8. Bálint Z., Krizbai I.A., Wilhelm I., Farkas A.E., Párducz A., Szegletes Z., Váró G. Changes induced by hyperosmotic mannitol in cerebral endothelial cells: an atomic force microscopic study. *Eur. Biophys. J.* 2007; 36 (2): 113–120. DOI: 10.1007/s00249-006-0112-4. PMID: 17115151
9. Kasas S., Dietler G. Probing nanomechanical properties from biomolecules to living cells. *Pflügers. Arch.* 2008; 456 (1): 13–27. DOI: 10.1007/s00424-008-0448-y. PMID: 18213477
10. Zhao C.X., Shao H.B., Chu L.Y. Aquaporin structure-function relationships: water flow through plant living cells. *Colloids Surf. B. Biointerfaces*. 2008; 62 (2): 163–172. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2007.10.015. PMID: 18063350
11. Volle C.B., Ferguson M.A., Aidala K.E., Spain E.M., Núñez M.E. Quantitative changes in the elasticity and adhesive properties of *Escherichia coli* ZK1056 prey cells during predation by *Bdellovibrio bacteriovorus*. *Langmuir*. 2008; 24 (15): 8102–8110. DOI: 10.1021/la8009354. PMID: 18572929
12. Vadillo-Rodriguez V., Beveridge T.J., Dutcher J.R. Surface viscoelasticity of individual gram-negative bacterial cells measured using atomic force microscopy. *J. Bacteriol.* 2008; 190 (12): 4225–4232. DOI: 10.1128/JB.00132-08. PMID: 18408030
13. Azeloglu E.U., Costa K.D. Dynamic AFM elastography reveals phase dependent mechanical heterogeneity of beating cardiac myocytes. *Conf. Proc. IEEE Eng. Med. Biol. Soc.* 2009; 2009: 7180–7183. DOI: 10.1109/IEMBS.2009.5335316. PMID: 19965272
14. Franze K. Atomic force microscopy and its contribution to understanding the development of the nervous system. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 2011; 21 (5): 530–537. DOI: 10.1016/j.gde.2011.07.001. PMID: 21840706
15. Lekka M., Fornal M., Pyka-Fościk G., Lebed K., Wizner B., Grodzicki T., Styczeń J. Erythrocyte stiffness probed using atomic force microscope. *Biorheology*. 2005; 42 (4): 307–317. PMID: 16227658

Experimental Studies

16. Picas L., Milhiet P.E., Hernández-Borrell J. Atomic force microscopy: a versatile tool to probe the physical and chemical properties of supported membranes at the nanoscale. *Chem. Phys. Lipids*. 2012; 165 (8): 845-860. DOI: 10.1016/j.chemphyslip.2012.10.005. PMID: 23194897
17. Hekele O., Goesselsberger C.G., Gebeshuber I.C. Nanodiagnostics performed on human red blood cells with atomic force microscopy. *Mater. Sci. Technol.* 2008; 24 (9): 1162-1165. DOI: 10.1179/174328408X341834
18. Sirghi L., Ponti J., Broggi F., Rossi F. Probing elasticity and adhesion of live cells by atomic force microscopy indentation. *Eur. Biophys. J.* 2008; 37 (6): 935-945. DOI: 10.1007/s00249-008-0311-2. PMID: 18365186
19. Zhang C.Y., Zhang Y.W. Extracting elastic properties and prestress of a cell using atomic force microscopy. *J. Mater. Res.* 2015; 24 (3): 1167-1171. DOI: 10.1557/jmr.2009.0121
20. Bremmell K.E., Evans A., Prestidge C.A. Deformation and nano-rheology of red blood cells: an AFM investigation. *Colloids Surf. B. Biointerfaces*. 2006; 50 (1): 43-48. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2006.03.002. PMID: 16701986
21. McPhee G., Dalby M.J., Riehle M., Yin H. Can common adhesion molecules and microtopography affect cellular elasticity? A combined atomic force microscopy and optical study. *Med. Biol. Eng. Comput.* 2010; 48 (10): 1043-1053. DOI: 10.1007/s11517-010-0657-3. PMID: 20623199
22. Fisseha D., Katiyar V.K. Analysis of mechanical behavior of red cell membrane in sickle cell disease. *Appl. Mathematics*. 2012; 2 (2): 40-46. DOI: 10.5923/j.am.20120202.08
23. Kim Y., Kim K., Park Y.K. Blood cell — an overview of studies in hematology. In: Moschandreou T.E. (ed.). Measurement techniques for red blood cell deformability: recent advances. Rijeka, Croatia; 2012: 167-195. DOI: 10.5772/50698
24. Buys A.V., Van Rooy M.J., Soma P., Van Papendorp D., Lipinski B., Pretorius E. Changes in red blood cell membrane structure in type 2 diabetes: a scanning electron and atomic force microscopy study. *Cardiovasc. Diabetol.* 2013; 12: 25. DOI: 10.1186/1475-2840-12-25. PMID: 23356738
25. Li M., Liu L., Xi N., Wang Y., Dong Z., Xiao X., Zhang W. Atomic force microscopy imaging and mechanical properties measurement of red blood cells and aggressive cancer cells. *Sci. China Life Sci.* 2012; 55 (11): 968-973. DOI: 10.1007/s11427-012-4399-3. PMID: 23160828
26. Yu M., Wang J., Wang H., Dong S. Calculation of the intracellular elastic modulus based on an atomic force microscope micro-cutting system. *Chin. Sci. Bull.* 2012; 57 (15): 1868-1872. DOI: 10.1007/s11434-012-5053-y
27. Kasas S., Wang X., Hirling H., Marsault R., Humi B., Yersin A., Regazzi R., Grenningloh G., Riederer B., Forró L., Dietler G., Catsicas S. Superficial and deep changes of cellular mechanical properties following cytoskeleton disassembly. *Cell. Motil. Cytoskeleton*. 2005; 62 (2): 124-132. DOI: 10.1002/cm.20086. PMID: 16145686
28. Sen S., Subramanian S., Discher D.E. Indentation and adhesive probing of a cell membrane with AFM: theoretical model and experiments. *Biophys. J.* 2005; 89 (5): 3203-3213. DOI: 10.1529/biophysj.105.063826. PMID: 16113121
16. Picas L., Milhiet P.E., Hernández-Borrell J. Atomic force microscopy: a versatile tool to probe the physical and chemical properties of supported membranes at the nanoscale. *Chem. Phys. Lipids*. 2012; 165 (8): 845-860. DOI: 10.1016/j.chemphyslip.2012.10.005. PMID: 23194897
17. Hekele O., Goesselsberger C.G., Gebeshuber I.C. Nanodiagnostics performed on human red blood cells with atomic force microscopy. *Mater. Sci. Technol.* 2008; 24 (9): 1162-1165. DOI: 10.1179/174328408X341834
18. Sirghi L., Ponti J., Broggi F., Rossi F. Probing elasticity and adhesion of live cells by atomic force microscopy indentation. *Eur. Biophys. J.* 2008; 37 (6): 935-945. DOI: 10.1007/s00249-008-0311-2. PMID: 18365186
19. Zhang C.Y., Zhang Y.W. Extracting elastic properties and prestress of a cell using atomic force microscopy. *J. Mater. Res.* 2015; 24 (3): 1167-1171. DOI: 10.1557/jmr.2009.0121
20. Bremmell K.E., Evans A., Prestidge C.A. Deformation and nano-rheology of red blood cells: an AFM investigation. *Colloids Surf. B. Biointerfaces*. 2006; 50 (1): 43-48. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2006.03.002. PMID: 16701986
21. McPhee G., Dalby M.J., Riehle M., Yin H. Can common adhesion molecules and microtopography affect cellular elasticity? A combined atomic force microscopy and optical study. *Med. Biol. Eng. Comput.* 2010; 48 (10): 1043-1053. DOI: 10.1007/s11517-010-0657-3. PMID: 20623199
22. Fisseha D., Katiyar V.K. Analysis of mechanical behavior of red cell membrane in sickle cell disease. *Appl. Mathematics*. 2012; 2 (2): 40-46. DOI: 10.5923/j.am.20120202.08
23. Kim Y., Kim K., Park Y.K. Blood cell — an overview of studies in hematology. In: Moschandreou T.E. (ed.). Measurement techniques for red blood cell deformability: recent advances. Rijeka, Croatia; 2012: 167-195. DOI: 10.5772/50698
24. Buys A.V., Van Rooy M.J., Soma P., Van Papendorp D., Lipinski B., Pretorius E. Changes in red blood cell membrane structure in type 2 diabetes: a scanning electron and atomic force microscopy study. *Cardiovasc. Diabetol.* 2013; 12: 25. DOI: 10.1186/1475-2840-12-25. PMID: 23356738
25. Li M., Liu L., Xi N., Wang Y., Dong Z., Xiao X., Zhang W. Atomic force microscopy imaging and mechanical properties measurement of red blood cells and aggressive cancer cells. *Sci. China Life Sci.* 2012; 55 (11): 968-973. DOI: 10.1007/s11427-012-4399-3. PMID: 23160828
26. Yu M., Wang J., Wang H., Dong S. Calculation of the intracellular elastic modulus based on an atomic force microscope micro-cutting system. *Chin. Sci. Bull.* 2012; 57 (15): 1868-1872. DOI: 10.1007/s11434-012-5053-y
27. Kasas S., Wang X., Hirling H., Marsault R., Humi B., Yersin A., Regazzi R., Grenningloh G., Riederer B., Forró L., Dietler G., Catsicas S. Superficial and deep changes of cellular mechanical properties following cytoskeleton disassembly. *Cell. Motil. Cytoskeleton*. 2005; 62 (2): 124-132. DOI: 10.1002/cm.20086. PMID: 16145686
28. Sen S., Subramanian S., Discher D.E. Indentation and adhesive probing of a cell membrane with AFM: theoretical model and experiments. *Biophys. J.* 2005; 89 (5): 3203-3213. DOI: 10.1529/biophysj.105.063826. PMID: 16113121

Поступила 06.06.17

Received 06.06.17

Ингаляционные антибиотики в реаниматологии: состояние проблемы и перспективы развития (обзор)

А. Н. Кузовлев, А. В. Гречко

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

Inhaled Antibiotics in Reanimatology: Problem State and Development Prospects (Review)

Artem N. Kuzovlev, Andrey V. Grechko

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

Нозокомиальная пневмония — вторая по встречаемости нозокомиальная инфекция в отделениях реаниматологии и наиболее распространенная у пациентов на искусственной вентиляции легких (9–27%). Целью данного обзора литературы является обсуждение наиболее современной отечественной и зарубежной доказательной базы по использованию ингаляционных антибиотиков в реаниматологии. Поиск отечественных публикаций (обзоры литературы, наблюдательные исследования, двойные слепые рандомизированные исследования) проводился в базе данных elibrary.ru, зарубежных — в базе данных PubMed. за период 2005–2017 гг. Использовались следующие поисковые запросы: «ингаляционные антибиотики», «нозокомиальная пневмония», «ингаляционный тобрамицин», «ингаляционный колистин», «inhaled antibiotics», «inhaled colistin», «inhaled tobramycin». В анализ включено 67 публикаций 2007–2017 гг., одна публикация 2000 года. В обзоре литературы представлены описания препаратов, современные возможности ингаляционной антибиотикотерапии нозокомиальной пневмонии, преимущества и недостатки данного метода лечения. Особое внимание уделено использованию ингаляционных аминогликозидов и ингаляционного колистина при нозокомиальной пневмонии в отделениях реаниматологии.

Ключевые слова: нозокомиальная пневмония; ингаляционные антибиотики; аминогликозиды; тобрамицин; колисти

Nosocomial pneumonia is the second most common nosocomial infection in critical care units and most common in ALV patients (9–27%). The purpose of this literature review is to discuss the latest domestic and foreign body of evidence concerning the use of inhaled antibiotics в critical care. Search for domestic publications (literature reviews, observation studies, double blind randomized studies) was carried out in elibrary.ru database, for foreign — in PubMed. Database for the period of yrs. 2005–2017. The following search enquiries were used: «inhaled antibiotics», «nosocomial pneumonia», «inhaled tobramycin», «inhaled colistin». The analysis includes 67 publications of yrs. 2007–2017 and 1 publication of yr. 2000. The literature review includes drug descriptions, contemporary capabilities of inhaled antibiotic therapy for nosocomial pneumonia, the advantages and drawbacks of this method of treatment. Special attention is focused on the use of inhaled aminoglycosides and inhaled colistin during nosocomial pneumonia in critical care units.

Keywords: nosocomial pneumonia; inhaled antibiotics; aminoglycosides; tobramycin; colistin

DOI:10.15360/1813-9779-2017-5-69-84

Введение

Нозокомиальная пневмония (НП), связанная с проведением искусственной вентиляции легких (ИВЛ), — пневмония, развившаяся не ранее чем через 48 ч от момента интубации трахеи и начала проведения ИВЛ при отсутствии признаков легоч-

Introduction

Nosocomial pneumonia (NP) related to mechanical lung ventilation (MLV) is a pneumonia that has developed not earlier than 48 hrs. after tracheal intubation and onset of MLV in the absence of lung infection signs at the time of intubation [1]. This is the se-

Адрес для корреспонденции:

Артём Кузовлев
E-mail: artem_kuzovlev@mail.ru

Correspondence to:

Artem Kuzovlev
E-mail: artem_kuzovlev@mail.ru

Reviews

ной инфекции на момент интубации [1]. Это вторая по встречаемости нозокомиальная инфекция в отделениях реаниматологии и наиболее распространенная у пациентов на ИВЛ (9–27%). Около 50% антибиотиков, назначаемых в отделениях реаниматологии, используются для лечения НП. Атрибутивная летальность при НП составляет по данным различных исследований от 0 до 50% [1–6]. Высокая летальность при НП в большой степени связана с традиционным внутривенным введением антибиотиков (частота разрешения НП при данном варианте антибиотикотерапии составляет не более 60%, высока частота рецидивирования НП), а также широкой распространенностью полирезистентных штаммов грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов [7–13].

Эффективная антибиотикотерапия НП требует достижения антибиотиком концентрации в ткани легких, превышающей минимальную подавляющую концентрацию (МПК) микроорганизма. Если фторхинолоны при внутривенном введении хорошо проникают в легкие, то большинство антибиотиков (бета-лактамы, колистин, аминогликозиды, гликопептиды) при внутривенном введении — крайне плохо [14]. Увеличение дозы антибиотика позволяет достичь его большей концентрации в легких, но сопряжено с риском побочных эффектов. Кроме того, у пациентов в критических состояниях фармакокинетика внутривенных антибиотиков значительно изменена и мало прогнозируема, что затрудняет адекватное дозирование внутривенных антибиотиков [15]. К сожалению, разработка принципиально новых эффективных антибиотиков в настоящее время затруднена по многим причинам (научные, экономические, юридические, организационные и др.) и перспектив их создания в ближайшее время нет [7–9, 16]. Поэтому перспективным направлением антибиотикотерапии НП является использование ингаляционных антибиотиков (ИА) в качестве дополнения к системным.

Целью данного обзора литературы является обсуждение наиболее современной отечественной и зарубежной доказательной базы по использованию ингаляционных антибиотиков в реаниматологии.

Поиск отечественных публикаций проводился в базе данных eLibrary.ru, зарубежных — в базе данных PubMed. Блок-схема включения в обзор литературы публикаций представлена на рисунке. Проводился поиск по публикациям (обзоры литературы, обзорные исследования, двойные слепые рандомизированные исследования) за период 2005–2017 гг. Использовались следующие поисковые запросы: «ингаляционные антибиотики», «нозокомиальная пневмония», «ингаляционный тобрамицин», «ингаляционный колистин», «inhaled antibiotics», «inhaled colistin», «inhaled

cond most common nosocomial infection in critical care units and most common among MLV patients (9–27%). About 50% of antibiotics prescribed in critical care units are used for NP. According to various studies, the NP attributive case fatality rate is 0 to 50% [1–6]. High fatality rate during NP is largely related to conventional intravenous administration of antibiotics (the NP resolution rate in case of that option of antibiotic therapy does not exceed 60%, the NP recurrence rate is high), also with high prevalence rate of multiresistant strains of gram-positive and gram-negative microorganisms [7–13].

For NP antibiotic therapy to be effective, the pulmonary tissue antibiotic concentration must be higher than the microorganism's minimal inhibition concentration (MIC). If fluoroquinolones penetrate well into lungs in case of intravenous administration, most antibiotics (betalactams, colistin, aminoglycosides, glycopeptides) do it extremely badly in case of intravenous administration [14]. Increasing antibiotic dose allows achieving its higher pulmonary concentration but presents a risk of side effects. Besides, the pharmacokinetics of intravenous antibiotics is considerably changed and can hardly be forecasted in critically ill patients, which makes adequate dosing of intravenous antibiotics difficult [15]. Unfortunately, development of principally new effective antibiotics is currently unfeasible for many reasons (scientific, economic, legal, organizational, etc.), and there are no expectations that they will be created in the nearest future [7–9, 16]. Therefore, a promising direction of NP antibiotic therapy is the use of inhaled antibiotics (IA) as an adjunctive therapy to systemic therapy.

The purpose of this literature review is to discuss the latest domestic and foreign body of evidence concerning use of inhaled antibiotics in critical care.

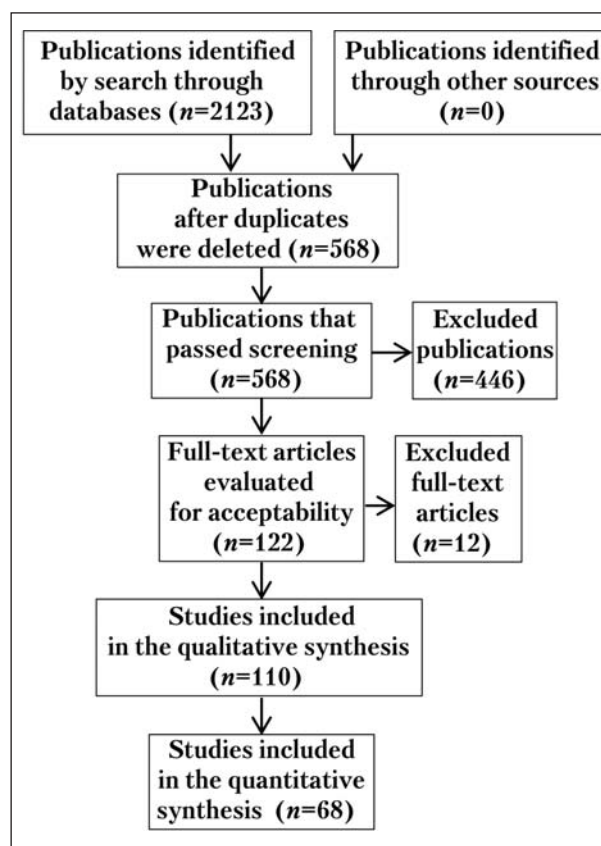
Search for domestic publications was carried out in eLibrary.ru database, for foreign — in PubMed database. The block diagram of inclusion of publications in the literature review is shown in Fig. 1. The search was performed for publications (literature reviews, observation studies, double blind randomized studies) for the period of yrs. 2005–2017. The following search enquiries were used: «inhaled antibiotics», «nosocomial pneumonia», «inhaled tobramycin», «inhaled colistin». The analysis includes 67 publications of yrs. 2007–2017 and 1 publication of yr. 2000.

Administration by inhalation is applied for different groups of drugs: antibiotics, antimycotics, antituberculotics, immunosuppressants, vaccines, interferons, etc. According to Ehrmann S. Et al., 99% of critical care unit doctors use drug administration through inhalation, 43% of them utilize nebulizers (55% — jet, 44% — ultrasound, 14% — mesh-vibrating nebulizers). 80% of respondent doctors apply inhaled colistin and 30% do inhaled antibiotic therapy

tobramycin». В анализ включено 67 публикаций 2007–2017 гг., одна публикация 2000 года.

Ингаляционный путь введения используется для лекарственных препаратов различных групп: антибиотиков, противогрибковых, противотуберкулезных, иммуносупрессоров, вакцин, интерферонов и др. По данным Ehrmann S. и соавт. 99% врачей отделений реаниматологии используют ингаляционный способ введения лекарственных препаратов, 43% из них применяют небулайзеры (55% — струйные, 44% ультразвуковые, 14% — небулайзеры с вибрирующей пластиной). Из опрошенных врачей 80% применяют ингаляционный колистин, а 30% проводят ингаляционную антибиотикотерапию как минимум раз в два месяца [11]. Ингаляционное применение антибиотиков колистина, тобрамицина, цефалоспоринов, амфотерицина В, пентамида в профилактике и лечении инфекций легких у различных категорий больных используется уже более 50 лет.

Ингаляционные антибиотики в пульмонологии. Наибольший опыт использования ИА накоплен при лечении острой и хронической синегнойной инфекции у больных муковисцидозом и бронхоэктатической болезнью. Хроническая синегнойная инфекция при муковисцидозе ассоциирована с повышенной летальностью. Ингаляционный тобрамицин (ИТ), колистин (ИК) (50–75 мг 2–3 р/сут.), азтреонам (75 мг 3 р/сут курсами по 28 сут.) и другие антибиотики используются для продолжительного лечения инфекционных осложнений муковисцидоза в стационаре и амбулаторно. Доказана эффективность 28-дневного курса ИТ в эрадикации *Pseudomonas aeruginosa* у больных муковисцидозом (300 мг/сут., в течение 28 сут., затем перерыв на 28 сут.). Однако данные последнего мета-анализа показывают, что в настоящее время недостаточно доказательств эффективности ИА для лечения обострений синегнойной инфекции при муковисцидозе. Кроме того, в последние годы у больных муковисцидозом увеличивается число резистентных к колистину и амногликозидам штаммов *Pseudomonas aeruginosa*, а также возрастает роль грамположительных кокков в развитии инфекционных осложнений. Значительные опасения также вызывает кумулятивная токсичность аминогликозидов при их курсовом применении у больных муковисцидозом [17–20]. В исследованиях по использованию ингаляционного тобрамицина при обострении бронхоэктатической болезни не было получено достоверных данных по его эффективности, и было зарегистрировано значительное количество осложнений [21]. В исследовании Rietmuller J. и соавт. использовали необычную методику ингаляционной антибиотикотерапии синегнойной инфекции при муковисцидозе: последовательно комбинировали ингаляционный томбрами-



Блок-схема включения публикаций в анализ.

Block-diagram of the inclusion of publications in the analysis.

Примечание. Publications identified by search through databases — публикации, идентифицированные через поиск в базах данных; through other sources — через другие источники; after duplicates were deleted — после удаления дубликатов; that passed screening — прошедшие скрининг; Excluded — исключенные; Full-text articles evaluated for acceptability — полнотекстовые статьи, оцененные на приемлемость; Studies included in the qualitative/quantitative synthesis — исследования, включенные в качественный/количественный синтез.

at least every two months [11]. Inhaled antibiotics like colistin, tobramycin, cephalosporins, amphotericin B, pentamidine have been used in the prophylaxis and treatment of lung infections in different categories of patients for over 50 years.

Inhaled Antibiotics in Pulmonology. The largest experience of using IA is for treating acute and chronic pseudomonas infections in patients suffering from cystic fibrosis (mucoviscidosis) and bronchiectasis lung disease. Chronic pseudomonas infection in case of mucoviscidosis is associated with increased case fatality rate. Inhaled tobramycin (IT), colistin (IC) (50–75 mg 2–3 times/day), aztreonam (75 mg 3 times/day in 28-day courses), and other antibiotics are being settings used for prolonged treatment of infection complications of mucoviscidosis both in in-patients and outpatients settings. The efficacy of a 28-day IT course for eradication of *Pseudomonas aeruginosa* in mucoviscidosis patients has been confirmed in clinical trials (300 mg/day for 28 days followed by a

цин (300 мг 2 р/сут.) и ингаляционный колистин (1 млн. ЕД 2 р/сут.). Данный алгоритм лечения был эффективен у 80,5% пациентов [22–23].

Преимущества ингаляционных антибиотиков. Ингаляционный путь введения антибиотиков обладает рядом несомненных преимуществ по сравнению с внутривенным: доставка антибиотика непосредственно в очаг инфекции (использование современных небулайзеров позволяет доставить 50–70% дозы ИА непосредственно в очаг инфекции); достижение высоких концентраций антибиотика в мокроте, которые значительно выше, чем после внутривенного введения, что особенно важно при лечении инфекций, вызванных полирезистентными штаммами и для предотвращения формирования резистентности (доказано в клинических и экспериментальных исследованиях) [21, 24–27]; уменьшение риска развития системного токсического действия антибиотиков вследствие минимальной системной адсорбции антибиотика [21–29]. Низкие системные концентрации антибиотиков при ингаляционном введении позволяют избежать развития резистентных форм микроорганизмов [21, 30]. Имеются доказательные данные о том, что назначение ИА сопровождается снижением общего количества используемых у данного пациента системных антибиотиков, что важно для снижения антибиотикорезистентности микроорганизмов в стационаре и для формирования программ рациональной антибиотикотерапии [31–32].

В 70–80-е гг. были проведены первые исследования по изучению эффективности ингаляционного гентамицина, амикацина и тобрамицина при НП у реаниматологических пациентов, которые отличались малой выборкой и различным дизайном. В большинстве работ было показано разрешение НП при лечении ингаляционными аминогликозидами, однако максимально достоверные различия были получены при сравнении ИА с плацебо. Кроме того, во многих исследованиях был зарегистрирован значительный рост резистентности к аминогликозидам, что вызвало значительные опасения у исследователей и затормозило на несколько лет дальнейшие исследования по данной проблеме. В ряде более поздних работ и в большинстве современных исследований было доказано, что использование ингаляционных антибиотиков не влияет на рост антибиотикорезистентности [33–39].

Крупных рандомизированных многоцентровых исследований по ИА в лечении НП до настоящего времени не проводилось. Все исследования крайне гетерогенны по дизайну, вследствие чего в настоящее время Европейским обществом клинической микробиологии и инфекционных заболеваний не рекомендовано использовать ингаля-

28-day interval). However, the latest meta-analysis shows that at present there is no sufficient evidence of IA efficacy for exacerbations of pseudomonas infections in case of mucoviscidosis. Besides, recently the number of mucoviscidosis patients with *Pseudomonas aeruginosa* strains resistant to colistin and aminoglycosides has been growing and the role of gram-positive cocci in the development of infection complications has been increasing. Cumulative toxicity of aminoglycosides in case of their application in courses in mucoviscidosis patients raises concerns, too [17–20]. The investigations of using inhaled tobramycin for bronchiectasis lung disease exacerbation did not produce reliable enough data on its efficacy while a considerable number of complications were recorded [21]. In their study, Rietmuller J. et al. used an unconventional technique of inhaled antibiotic therapy for *P. aeruginosa* infection during mucoviscidosis: they sequentially combined inhaled tobramycin (300 mg 2 times/day) and inhaled colistin (1 mln. U 2 times/day). That algorithm of therapy was efficient in 80.5% of patients [22–23].

Advantages of Inhaled Antibiotics. Administration of antibiotics by inhalation features a number of doubtless advantages versus intravenous administration: antibiotic delivery straight to infection focus (application of up-to-date nebulizers allows delivering 50–70% of IA dose straight to the infection focus); achievement of high concentrations of antibiotics in sputum that are much greater than after intravenous administration, which is particularly important during treatment of infections caused by multiresistant strains and for prevention of resistance formation (has been proven in clinical and experimental studies) [21, 24–27]; reduced risk of developing systemic toxic effect of antibiotics thanks to minimal systemic absorption of antibiotic [21–29]. Low systemic concentrations of antibiotics in case of administration by inhalation allow avoiding development of resistant forms of microorganisms [21, 30]. There is evidence that IA prescription is accompanied with decrease of the total quantity of systemic antibiotics used in that particular patients, which is important for abating antibiotic resistance of microorganisms in a hospital and for setting up rational antibiotic therapy programs [31–32].

In the 70–80s, first investigations were conducted to study efficacy of inhaled gentamicin, amikacin and tobramycin during NP in critical care patients, which were characterized by a small sample and different design. Most papers showed NP resolution in case of treatment with inhaled aminoglycosides, however, maximally reliable differences were obtained in the comparison of IA versus placebo. Besides, many investigations recorded a considerable growth of resistance to aminoglycosides, which raised considerable concern of researchers and delayed further investigations of that problem by a few

ционные антибиотики в клинической практике [40]. Напротив, в рекомендациях Американского общества инфекционных заболеваний (Infectious Diseases Society of America, IDSA) 2016 г. отмечено, что при наличии чувствительности только к аминогликозидам или колистину предпочтительно проводить комбинированное лечение данными антибиотиками (внутривенно+ингаляционно). Кроме того, в данных рекомендациях указано, что применять ингаляционные антибиотики целесообразно в тех ситуациях, когда нет клинического ответа на внутривенном режиме антибиотикотерапии. Данные мета-анализа IDSA показывают, что использование ингаляционных антибиотиков в качестве дополнения к системным увеличивает частоту разрешения НП (RR 1,29) без влияния на летальность (RR 0,84) или частоту развития побочных эффектов (RR 1,11) [41].

В Российских национальных рекомендациях «Нозокомиальная пневмония у взрослых» 2016 г. также отмечена целесообразность применения ингаляционных антибиотиков в качестве дополнения к системным. Отмечена важность соблюдения техники ингаляции антибиотиков и использования небулайзеров последнего поколения для увеличения доставки препарата в легкие. Кроме того, решение о назначении ингаляционной антибиотикотерапии должен принимать консилиум федеральной специализированной медицинской организации при условии наличия добровольного информированного согласия пациента или его законных представителей (Приказ Минздравсоцразвития России от 09.08.2005 г. №494 «О применении лекарственных средств у больных по жизненным показаниям») [1].

Наибольшее распространение в реаниматологии получил ингаляционный колистин и ингаляционные аминогликозиды вследствие их бактерицидного эффекта и доказанной безопасности при ингаляционном введении.

Ингаляционные аминогликозиды. В России зарегистрирована специальная лекарственная форма для ингаляционного введения тобрамицина. Необходимо отметить, что аминогликозиды наиболее удобны для ингаляционного введения, поскольку они обладают бактерицидной активностью, зависимой от концентрации, когда создается высокая пиковая концентрация препарата в легких, но продолжительность его действия мала. Напротив, при внутривенном введении проникновение аминогликозидов в легкие минимальное (12% для гентамицина, 32% для тобрамицина; концентрация в мокроте менее 10^* МПК), а риск развития токсических эффектов высок [16–18, 42].

Аминогликозиды представляют собой полярные молекулы и очень плохо проникают в легочный эпителий при внутривенном введении (15–20% дозы). При ингаляционном приме-

years. A number of more recent papers and most contemporary studies proved that use of inhaled antibiotics renders no influence on growth of antibiotic resistance [33–39].

No large randomized multi-center studies of IA in NP therapy have been conducted so far. All investigations are extremely heterogeneous in design; consequently, at present, the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases does not recommend use of inhaled antibiotics in clinical practice [40]. On the contrary, the guidelines of the Infectious Diseases Society of America, IDSA, of 2016 say that when there is sensitivity only to aminoglycosides or colistin, a combined therapy with these antibiotics (intravenous+inhaled) is preferable. Besides, these guidelines mention that it is expedient to apply inhaled antibiotics in situations when there is no clinical response to the intravenous regime of an antibiotic therapy. IDSA meta-analysis shows that use of inhaled antibiotics as adjuvant to systemic therapy increases the rate of NP resolution (RR 1.29) without influence on the case fatality rate (RR 0.84) or the rate of side effects (RR 1.11) [41].

Russian National Guidelines «Nosocomial Pneumonia in Adults», 2016, also note expediency of applying inhaled antibiotics as adjuvant to systemic therapy. The importance of observing the antibiotic inhalation technique and use of the last generation nebulizers to increase drug delivery to lungs is underlined. Besides, the decision of prescribing an inhaled antibiotic therapy must be made by a case conference of a federal specialized medical organization subject to voluntary informed consent of the patient or his lawful representatives (Order No.494 of the Russian Ministry of Health and Social Development «On Life-Saving Application of Drugs in Patients» of 09.08.2005) [1].

Most common in critical care are inhaled colistin and inhaled aminoglycosides due to their bactericidal effect and proven safety in case of administration by inhalation.

Inhaled Aminoglycosides. In Russia, a special dosage for inhaled tobramycin administration is registered. It should be noted that aminoglycosides are most convenient for administration by inhalation since they feature bactericidal activity dependent on concentration when a high peak dose of a drug is created in lungs, but the duration of its effect is short. On the contrary, in case of intravenous administration, penetration of aminoglycosides into lungs is minimal (12% for gentamicin, 32% for tobramycin; sputum concentration is less than 10^* MIC), while the risk of development of toxic effects is high [16–18, 42].

Aminoglycosides are polar molecules and they poorly penetrate into pulmonary epithelium when administered intravenously (15–20% of the dose). Inhaled tobramycin remains mostly in the respiratory tract; it does not penetrate through respiratory epit-

нии тобрамицин преимущественно остается в дыхательных путях, не проникает через респираторный эпителий. Биодоступность тобрамицина зависит от техники ингаляции и состояния дыхательных путей. Через 10 мин после ингаляции 300 мг ИТ средняя концентрация тобрамицина в мокроте составляет 1237 мкг/г (35–7414 мкг/г). Через 2 ч после ингаляции концентрация тобрамицина составляет 14% от концентрации через 10 мин. Средняя сывороточная концентрация тобрамицина через 1 ч после ингаляции 300 мг ИТ у больных с муковисцидозом составляет 0,95 мкг/мл. Выводится тобрамицин преимущественно с мокротой, незначительная часть — путем клубочковой фильтрации, $T_{1/2}$ тобрамицина из сыворотки — примерно 2 ч [24–25].

Czosnowski и соавт. [39] доказали, что использование ингаляционных антибиотиков позволяет достичь разрешения НП в 73% случаев, эрадикации возбудителя в 71% случаев. В ретроспективном исследовании Arnold H. и соавт. отмечена тенденция к более высокой выживаемости больных НП, которых лечили ингаляционным тобрамицином [43]. В исследовании Niederman и соавт. [44] была показана эффективность ингаляционного амикацина, который вводили с помощью экспериментального небулайзера 400 мг каждые 12 ч. или каждые 24 ч. Частота разрешения НП составила 50% при двукратном введении амикацина и 17% при однократном, частота побочных эффектов была минимальной. Le Conte и соавт. [45] показали, что использование ингаляционного тобрамицина в качестве дополнения к внутривенным бета-лактамам позволяет сократить продолжительность ИВЛ. В ретроспективном исследовании Lu Q. и соавт. была зарегистрирована сходная клиническая эффективность системного и ингаляционного введения цефтазидима и амикацина, но меньшая частота формирования резистентных штаммов *Pseudomonas aeruginosa* в группе ИА. [46]. Та же группа исследователей показала сходную эффективность ингаляционного колистина и комбинации внутривенных бета-лактамов и аминогликозидов у больных НП, вызванной *Pseudomonas aeruginosa* и *Acinetobacter baumannii* [47]. В данном исследовании не было показано формирования резистентности микроорганизмов на фоне ИА. Напротив, у 25% микроорганизмов на фоне лечения ИА повысилась чувствительность к антибиотикам, к которым они ранее были резистентны. В работе Ghannam D. и соавт. [48] было продемонстрировано, что в группе больных НП, которых лечили ингаляционными аминогликозидами, разрешение НП было более быстрым (у 81% больных по сравнению с 31% в группе внутривенных антибиотиков). Не было зарегистрировано случаев нефротоксичности в группе ингаляционных аминогли-

helium. Tobramycin bioavailability depends on the inhalation technique and respiratory tract condition. 10 min after inhalation of 300 mg of IT, the mean sputum tobramycin concentration equals to 1237 mcg/g (35–7414 mcg/g). 2 hrs. after inhalation, tobramycin concentration equals to 14% of the 10 min concentration. The mean serum tobramycin concentration 1 hr. after inhalation of 300 mg of IT in mucoviscidosis patients is 0.95 mcg/ml. Tobramycin is eliminated predominantly with sputum, a minor fraction — through glomerular filtration, tobramycin $T_{1/2}$ from serum is about 2 hrs. [24–25].

Czosnowski et al. [39] proved that use of inhaled antibiotics allows achieving NP resolution in 73% of cases and germ eradication — in 71% of cases. In a retrospective study, Arnold H. et al. observed a tendency towards higher survivability of NP patients treated with inhaled tobramycin [43]. The study of Niederman et al. [44] showed efficacy of inhaled amikacin administered with the help of an experimental nebulizer in a dose of 400mg every 12 hrs. or every 24 hrs. The NP resolution rate amounted to 50% for amikacin administration done twice and 17% for single, occurrence of side effects being minimal. Le Conte et al. [45] demonstrated that inhaled tobramycin used as an adjunctive therapy to intravenous betalactams allows reducing the ALV period. In a retrospective study, Lu Q. et al. recorded a similar clinical efficacy of systemic and inhaled ceftazidime and amikacin, but less frequent formation of resistant strains of *Pseudomonas aeruginosa* in the IA group [46]. The same team of researchers showed a similar efficacy of inhaled colistin and a combination of intravenous betalactams and aminoglycosides in patients with NP caused by *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* [47]. That study did not show formation of microorganisms' resistance at the background of IA. On the contrary, at the background of IA therapy, 25% of microorganisms developed sensitivity to antibiotics, which they had been resistant to previously. Ghannam D. et al. [48] demonstrated that in the group of NP patients treated with inhaled aminoglycosides, NP resolution was faster (in 81% of patients versus 31% in the group of intravenous antibiotics). No cases of nephrotoxicity were recorded in the group of inhaled aminoglycosides. Our study [49] proved that inhaled tobramycin dosed 300 mg 2 times/day is efficient as an adjuvant therapy to systemic antibacterial therapy in the treatment of ALV-associated pneumonia caused by multiresistant gram-negative germs: such modified treatment facilitates faster pneumonia resolution and earlier unassisted breathing.

Inhaled Colistin. Polymyxin E (colistin) was isolated from *Bacillus polymyxa* by Japanese researcher Koyama Y. in 1949. Polymyxin E (colistin) and polymyxin B differ by their chemical structure. These antibiotics were intensively used for severe gram-ne-

козидов. В нашем исследовании [49] было доказано, что применение ингаляционного тобрамицина в дозе 300 мг 2 р/сут эффективно в качестве дополнения к системной антибактериальной терапии при лечении ИВЛ-ассоциированной пневмонии, вызванной полирезистентными грамотрицательными возбудителями: данное модифицированное лечение способствует более быстрому разрешению пневмонии и более раннему переводу больных на самостоятельное дыхание.

Ингаляционный колистин. Полимиксин Е (колистин) был выделен из *Bacillus polymyxa* японским исследователем Коуама У. в 1949 г. Полимиксин Е (колистин) и полимиксин В отличаются по химической структуре. Эти антибиотики активно применяли для лечения тяжелых грамотрицательных инфекций в 1950–70-е гг., затем их в основном использовали при муковисцидозе, а с начала 2000 г. снова вернулись к их использованию в реаниматологии в связи с ростом антибиотикорезистентности [50].

Колистин — наиболее сложный для ингаляционного введения антибиотик, поскольку он представляет собой пролекарство (колистиметат), которое для активации должно подвергнуться гидролизу. Именно данная форма препарата предпочтительна для ингаляционной антибиотикотерапии. Колистин является смесью циклических катионных пептидов, которые могут повреждать не только клетки микробов, но и клетки респираторного тракта и легких. Мишень для колистина — липополисахарид клеточной стенки бактерий [50]. Колистиметат натрия при внутривенном введении не обнаруживается ни в одном из сегментов легочной ткани в измеряемых концентрациях, поэтому для лечения НП препарат рекомендован только для ингаляционного введения [1].

В ретроспективном исследовании Doshi M. и соавт. было показано, что добавление ингаляционного колистина к внутривенному колистину ускоряет разрешение НП и снижает летальность при НП, вызванной полирезистентными грам-отрицательными микроорганизмами [36]. В исследовании Tumbarello M. и соавт. было показано, что использование ИК по сравнению с внутривенным способствует более быстрому разрешению НП и более раннему переводу больных на самостоятельное дыхание [35]. Korbila I. и соавт. доказали, что ИВЛ-ассоциированная НП быстрее разрешается при добавлении к внутривенному колистину ингаляционной формы антибиотика [33]. В работе Liu D. и соавт. была достигнута большая частота эрадикации возбудителя из мокроты и меньшая летальность при комбинировании ингаляционного и внутривенного колистина. Частота побочных эффектов в этом случае не возрасла [51–52]. В мета-анализе Valachis A. и соавт. было показано, что использование ИК вме-

гative infections in the 1950–70s; later, they were mostly used during mucoviscidosis; and since early 2000, they have been used again in intensive care because of growth of antibiotic resistance [50].

Colistin is the most difficult antibiotic for administration by inhalation as it is a pro-drug (colistimethate), which must be hydrolyzed to become active. It is this form of the drug that is preferable for an inhaled antibiotic therapy. Colistin is a mixture of cyclic cationic peptides that can damage not only microbial cells, but cells of the respiratory tract and lungs, as well. The colistin target is bacterial cellular wall lipopolysaccharide [50]. Intravenously administered sodium colistimethate is not found in any of pulmonary tissue segments in measurable concentrations; therefore, for NP treatment, the drug is recommended only for administration by inhalation [1].

In a retrospective study, Doshi M. et al. showed that the addition of inhaled colistin to intravenous colistin accelerates NP resolution and decreases the case fatality rate during NP caused by multiresistant gram-negative microorganisms [36]. The study of Tumbarello M. et al. demonstrated that IC versus intravenous therapy assists faster NP resolution and earlier unassisted breathing [35]. Korbila I. et al. proved that ALV-associated NP resolves faster when intravenous colistin is complemented with the inhaled antibiotic [33]. Liu D. et al. achieved more often eradication of germ from sputum and lower case fatality rate in case of combination of inhaled and intravenous colistin. Occurrence of side effects did not increase in that instance [51–52]. In a meta-analysis, Valachis A. et al. showed that use of IC together with intravenous colistin is accompanied with a higher rate of NP resolution, eradication of germs from sputum, and lower case fatality rate, while IC combination with other systemic antibiotics renders no influence on the case fatality rate [53]. In a meta-analysis, Floresci D. et al. proved positive clinical effects of inhaled colistin, low occurrence of nephro- and neurotoxicity, as well as decrease of the case fatality rate [54]. On the contrary, in a retrospective case-control study, Kofteridis D. et al. did not observe clinical efficacy of inhaled colistin as adjuvant to intravenous colistin [55]. Similar data were obtained in the recent study of Demirdal T. et al. [56–57]. Comparative studies of inhaled tobramycin and colistin were carried out only in spontaneously breathing mucoviscidosis patients, which makes it difficult to use the data obtained in critical care NP patients [58–59]. Our study [60] proved efficacy of inhaled colistin dosed 2 mln. U 3 times/day as adjuvant to systemic antibacterial therapy in treating NP caused by multiresistant gram-negative germs: such modified therapy facilitates faster resolution of pneumonia, earlier spontaneous breathing of patients, and shorter period in a critical care unit. Our study did not re-

сте с внутривенным колистином сопровождается увеличением частоты разрешения НП, эрадикации возбудителей из мокроты и снижением летальности, тогда как добавление ИК к другим системным антибиотикам не влияет на летальность [53]. В мета-анализе Floresci D. и соавт. были доказаны положительные клинические эффекты ингаляционного колистина, низкая частота нефро- и нейротоксичности, а также снижение летальности [54]. Напротив, в ретроспективном исследовании случай-контроль Kofteridis D. и соавт. не было отмечено клинической эффективности ингаляционного колистина при его добавлении к внутривенному колистину [55]. Аналогичные данные были получены в недавнем исследовании Demirdal T. и соавт. [56–57]. Сравнительные исследования ингаляционного тобрамицина и колистина проводились только у больных муковисцидозом на самостоятельном дыхании, что затрудняет использование полученных данных у реаниматологических больных с НП [58–59]. В нашем исследовании [60] была доказана эффективность ингаляционного колистина 2 млн. ЕД 3 р/сут. в качестве дополнения к системной антибактериальной терапии при лечении НП, вызванной полирезистентными грамотрицательными возбудителями: данное модифицированное лечение способствует более быстрому разрешению пневмонии, более раннему переводу пациентов на самостоятельное дыхание и сокращению сроков пребывания в отделении реаниматологии. В нашем исследовании не было найдено достоверных различий между ингаляционным тобрамицином и ингаляционным колистином по клиническим исходам.

Также в реаниматологии используются ингаляционные фторхинолоны, липосомальная форма аминогликозидов; азтреонам, комбинации ингаляционных антибиотиков (фосфомидин/тобрамицин, колистин/тобрамицин, ципрофлоксацин/колистин). Ингаляционный фосфомидин, обладающий антимикробной активностью как против грамотрицательных, так и против грамположительных микроорганизмов, рекомендовано комбинировать с другими антибиотиками во избежание быстрого развития резистентности к нему [20–35].

Использование ингаляционных цефалоспоринов или монобактамов подразумевает частые ингаляции вследствие фармакокинетических особенностей данных антибиотиков. Например, для эффективной ингаляционной терапии цефтазидимом необходимы ингаляции каждые 3 часа, что трудновыполнимо на практике [61]. Использование ингаляционной формы бета-лактамов нецелесообразно, поскольку их антимикробная активность зависит от времени, что требует частых ингаляций препарата (например, цефтазидим —

veal reliable difference between inhaled tobramycin and inhaled colistin based on clinical outcome.

In critical care, и используются inhaled fluoroquinolones, liposomal aminoglycosides; aztreonam, combinations of inhaled antibiotics (fosfomicin/tobramycin, colistin/tobramycin, ciprofloxacin/colistin) are also used. Inhaled fosfomicin featuring antimicrobial activity both against gram-negative and gram-positive microorganisms is recommended to be combined with other antibiotics to avoid fast development of resistance thereto [20–35].

Use of inhaled cephalosporins or monobactams implies frequent inhalations due to pharmacokinetic specificity of these antibiotics. For example, an effective inhaled ceftazidime therapy requires inhalations every 3 hours, which is hard to implement in practice [61]. Use of inhaled betalactams is inexpedient because their antimicrobial activity depends on time, which requires frequent drug inhalations (for example, ceftazidime — every 3 hrs.). When administered by inhalation, carbapenems cause allergies: the investigation of inhaled doripenem was stopped for this reason at phase one [20–45, 61].

Devices for Inhaled Antibiotic Therapy. To perform an effective inhaled antibiotic therapy, it is necessary to use special inhaled forms of drugs and up-to-date nebulizers. There are ultrasound, jet, and vibrating-mesh nebulizers. Among nebulizers available in the critical care practice, most advantageous are vibrating-mesh nebulizers where piezoeffect is used for aerosol generation. This type of nebulizers provides formation of aerosol droplets of 2.1 mcm in size and delivery of up to 70% of the drug dose into lungs; aerosol temperature does not change in the course of inhalation, which minimizes the risk of drug degradation; aerosol flow renders minimal influence on the ALV parameters; when this type of nebulizers is used, it is possible to continue moistening the breathing gas in the ALV apparatus circuit. Drug spraying in this nebulizer is synchronized with the inspiratory phase; a smaller amount of drug is required for efficient inhalation [1–35]. Jet or ultrasound nebulizers do not allow achieving the necessary size of particles. It has been shown that during inhalation of 300 mg of tobramycin through a jet nebulizer, the mean sputum concentration of the antibiotic was 900 mg/g, which is significantly less than 25*MIC [30–40].

Currently several special systems for delivery of inhaled antibiotics are employed on clinics. The Investigational eFlow InlineNebulizer System by PARI Pharma can be used several times in the same patient, which allows avoiding circuit disconnection between inhalations. This nebulizer represents a vibrating stainless steel mesh placed in the airflow from an ALV apparatus and works continuous. The system allows inhalations of amikacin and fosfomicin combined in ratio 5:2. In this device, the expiratory elbow

каждые 3 ч). Карбапенемы при ингаляционном введении вызывают аллергии: исследование ингаляционной формы дорипенема было остановлено по данной причине в первой фазе [20–45, 61].

Устройства для ингаляционной антибиотикотерапии. Для проведения эффективной ингаляционной антибиотикотерапии необходимо использовать специальные ингаляционные формы препаратов и современные небулайзеры. Существуют небулайзеры ультразвуковые, струйные и с вибрирующей пластиной (mesh-небулайзеры). Из доступных в реаниматологической практике небулайзеров наибольшими преимуществами обладают небулайзеры с вибрирующей пластиной, в которых используется пьезо-эффект для генерации аэрозоля. Данный тип небулайзеров обеспечивает формирование капель аэрозоля размером 2.1 мкм и доставку до 70% дозы лекарственного препарата в легкие; температура аэрозоля не изменяется в процессе ингаляции, что минимизирует риск разрушения лекарственного препарата; поток аэрозоля оказывает минимальное влияние на параметры ИВЛ; при использовании данного типа небулайзеров можно продолжать увлажнение дыхательной смеси в контуре аппарата ИВЛ. Данный небулайзер проводит распыление препарата синхронизировано с фазой вдоха, требуется меньший объем лекарственного препарата для эффективной ингаляции [1–35]. Использование струйных или ультразвуковых небулайзеров не позволяет достичь необходимого размера частиц. Было показано, что при ингаляции 300 мг тобрамицина через струйный небулайзер средняя концентрация антибиотика в мокроте была 900 мг/г, что значительно меньше, чем 25*МПК [30–40].

В настоящее время известно несколько специальных систем для доставки ингаляционных антибиотиков. Система PARI Investigational eFlow InlineNebulizer System может быть использована несколько раз у одного и того же больного, что дает возможность избежать размыкания контура между ингаляциями. Данный небулайзер представляет собой вибрирующую пластину из нержавеющей стали, которая расположена в потоке воздуха из аппарата ИВЛ и работает непрерывно. Система позволяет выполнять ингаляции амикацина и фосфомицина в комбинации в соотношении 5:2. В данном устройстве экспираторное колено контура играет роль резервуара для аэрозоля антибиотика в фазу выдоха. Размер частиц — изначально 2,8 нм, с последующим увеличением до 3,2 нм при приросте влажности. Время ингаляции 12 мин. Технические характеристики данного небулайзера были описаны в ряде исследований [62–64]. В настоящее время проводится исследование II фазы с использованием системы PARI. Система для ингаляции тобрамицина (TOBI®) в настоящее время исследуется в группе пациентов муковисцидозом [65].

of the circuit plays the role of a tank for the antibiotic aerosol during the expiratory phase. The size of particles that is 2.8 nm initially, is significantly increasing to 3.2 nm as a moisture content grows. The inhalation duration that is 12 min. The technical characteristics of this nebulizer were described in a number of studies [62–64]. At present, a phase-II study with the PARI system is underway. The tobramycin inhalation system (TOBI®) is currently investigated in patients with mucoviscidosis [65].

The amikacin inhalation system (Amikacin Inhale) is designed for administration of a special inhaled form of amikacin in NP patients and includes a special drug delivery system providing antibiotic inhalation synchronization with the first 75% of the time of inspiration [66]. This system allows delivering 35–58% of the drug to air vesicles in a concentration much exceeding MIC [31]. During use of Amikacin Inhale, the maximal amikacin concentrations in blood serum were within a safe range. At present, a phase-III clinical study of this system is carried out. Antibiotic instillation via an intubation or tracheotomy tube is inefficient and should not be used.

Inhaled antibiotics are not used as a monotherapy without systemic drugs, because their absorption into blood is low (2–4%) and insufficient for treatment of infections accompanying NP, and the amount of antibiotic reaching the respiratory region of lungs is insignificant [1–13, 20–30, 32–40, 49]. It should be noted that we have described a clinical example of inhaled tobramycin monotherapy for NP with a good clinical and microbiological effect in a patient with a severe allergic reaction to systemic antibiotics of several classes (Lyll's syndrome) [67].

At present, there is no sufficient body of evidence to recommend inhaled antibiotics as prophylaxis of NP development in a critical care unit. However, this concept is highly attractive and pathogenically substantiated: in theory, inhaled antibiotics allow reducing oropharyngeal colonization and preventing NP development, or may prevent nosocomial tracheal bronchitis aggravation to NP [49–52].

Use of IA is connected with some problems:

- Insufficient IA penetration into those pulmonary regions where patency of airways is disturbed, which is especially relevant when there are concomitant obstructive lung diseases;
- partial depositing of the IA dose in the intubation tube and large airways: this may play a protective role against formation of a microbial biofilm;
- IA inactivation by inhibiting substances contained in sputum: this effect manifests most prominently in case of aminoglycosides; to overcome inactivation, MIC must be exceeded 25-fold, which is achievable by use of up-to-date nebulizers;
- alteration of IA physical and chemical properties in the course of aerosol formation due to heating,

Система для ингаляции амикацина (Amikacin Inhale) предназначена для введения специальной ингаляционной формы амикацина у пациентов НП и включает в себя специальную систему доставки препарата, которая обеспечивает синхронизацию ингаляции антибиотика с первыми 75% времени вдоха [66]. Данная система позволяет доставить 35–58% препарата до альвеол, в концентрации, значительно превышающей МПК [31]. При использовании Amikacin Inhale максимальные концентрации амикацина в сыворотке крови находились в безопасном диапазоне. В настоящее время проводится клиническое исследование III фазы данной системы. Инстиляция антибиотика через интубационную или трахеостомическую трубку неэффективна и не должна применяться.

Ингаляционные антибиотики не используются в качестве монотерапии без системных препаратов, так как степень их всасывания в кровь низка (2–4%) и недостаточна для лечения сопутствующих НП инфекций, а количество антибиотика, достигающего респираторной зоны легких, незначительно [1–13, 20–30, 32–40, 49]. Следует отметить, что нами описан клинический пример монотерапии НП ингаляционным тобрамицином с хорошим клиническим и микробиологическим эффектом у больной с тяжелой аллергической реакцией на системные антибиотики нескольких классов (синдром Лайела) [67].

В настоящее время нет достаточной доказательной базы для того, чтобы рекомендовать ингаляционные антибиотики в качестве профилактики развития НП в отделении реаниматологии. Но данная концепция является крайне привлекательной и патогенетически обоснованной: ингаляционные антибиотики теоретически позволяют уменьшить степень орофарингеальной колонизации и предотвратить развитие НП, или могут предотвратить переход нозокомиального трахеобронхита в НП [49–52].

Использование ИА связано с определенными проблемами:

- недостаточное проникновения ИА в те зоны легких, в которых нарушена проходимость дыхательных путей, что особенно актуально при наличии сопутствующих обструктивных заболеваний легких;
- депонирование части дозы ИА в интубационной трубке и крупных дыхательных путях: это может играть защитную роль против формирования микробной биопленки;
- инаktivация ИА ингибирующими веществами, содержащимися в мокроте: данный эффект наиболее выражен в отношении аминогликозидов; для преодоления инаktivации необходимо превышение МПК в 25 раз, что достижимо при использовании современных небулайзеров;
- изменение физико-химических свойств ИА в процессе образования аэрозоля вследствие

cooling, vibration: this manifests most prominently when jet nebulizers are used [2–12, 15–24, 30–32];

- local toxic effect of IA, which manifests most frequently in the bronchoconstriction action of preservatives (EDTA, benzalkonium chloride) [61];

- systemic side effects of IA — in a number of clinical case descriptions, there were examples of nephro- and ototoxicity when inhaled tobramycin was used; development of systemic side effects might be connected with antibiotic adsorption into blood, which is considerably greater during pneumonia compared to healthy lungs [40–43];

- Decreased informational content of microbiological analysis results of sputum at the background of IA therapy: absence of microorganisms in sputum does not rule out their presence in distal regions of airways and pulmonary tissues [43, 44];

- contamination of environment by IA, exposure of medical stuff and other patients to antibiotic's particles.

To avoid these effects, it is necessary to observe recommendations for nebulizer use [45].

An ideal inhaled antibiotic — is it possible? An ideal inhaled antibiotic must possess a number of characteristics [68]:

- An optimal chemical composition of an inhaled antibiotic drug product. Intravenous forms of antibiotics usually contain phenol and far from optimal in terms of osmolarity (less than 150 mOsm/L, more than 1200 mOsm/L), which causes irritation of airways and bronchospasm. A drug product for inhalation must be sterile and pyrogen-free, pH should be within 4.0–8.0, osmolarity should be 150–1200 mOsm/L. Today, special inhaled forms of drugs are available for colistin, tobramycin, and aztreonam only.

- Inhaled antibiotic dose: such dose of a drug is considered optimal that provides antibiotic concentration in distal airways that is 25 times higher than microorganism's MIC.

- Antibiotic inhalation must be performed only with the help of an up-to-date efficient nebulizer providing nebula size of 1–5 mcm (in this case, they can reach distal airways). Jet nebulizers cannot provide particles of that size. Vibrating-mesh nebulizers or special commercially available combinations of such nebulizers and antibiotics are the best for inhalation of antibiotics. Modern nebulizers allow performing antibiotic inhalation synchronously with artificial lung ventilation. Ideally, a nebulizer should provide minimal changes in the MLV apparatus settings when a nebulizer is used as well as efficient antibiotic inhalation even when there is a moistener in the circuit.

Recommended Algorithm for Use of Inhaled Antibiotics [1, 49]:

1. Assess NP severity and ethological structure: clinical, laboratory and instrumental signs; Clini-

нагревания, охлаждения, вибрации: наиболее выражено при использовании струйных небулайзеров [2–12, 15–24, 30–32];

- местное токсическое воздействие ИА, которое чаще всего выражается в бронхоконстрикторном действии консервантов (этилендиаминтетраацетат, бензалкония хлорид) [61];

- системные побочные эффекты ИА — в ряде описаний клинических случаев были зарегистрированы примеры нефро- и ототоксичности при использовании ингаляционного тобрамицина; развитие системных побочных эффектов может быть связано с адсорбцией антибиотика в кровь, которая значительно увеличена при пневмонии по сравнению со здоровыми легкими [40–43];

- снижение информативности результатов микробиологического исследования мокроты на фоне лечения ИА: отсутствие микроорганизмов в мокроте не исключает их наличия в дистальных отделах дыхательных путей и ткани легких [43–44];

- загрязнение окружающей среды ИА, воздействие частиц антибиотика на медицинский персонал и других больных.

Во избежание данных эффектов необходимо соблюдать рекомендации по использованию небулайзера [45].

Идеальный ингаляционный антибиотик — возможно ли это? Идеальный ингаляционный антибиотик должен обладать рядом характеристик [68]:

- Оптимальный химический состав препарата ингаляционного антибиотика. Внутривенные формы антибиотиков обычно содержат фенол и неоптимальны по осмолярности (менее 150 мОсм/л, более 1200 мОсм/л), что вызывает раздражение дыхательных путей и бронхоспазм. Препарат для ингаляции должен быть стерильным и апирогенным, pH в пределах 4,0–8,0, осмолярность 150–1200 мОсм/л. В настоящее время специальные ингаляционные формы препаратов существуют только для колистина, тобрамицина и азтреонама.

- Дозировка ингаляционного антибиотика: оптимальной считается такая доза препарата, которая обеспечивает концентрацию антибиотика в дистальных дыхательных путях, в 25 раз превышающую МПК микроорганизма.

- Ингаляция антибиотика должна производиться только с использованием современного эффективного небулайзера, который обеспечивает размер небул 1–5 мкм (в этом случае они могут достигнуть дистальных отделов дыхательных путей). Струйные небулайзеры не в состоянии обеспечить такой размер частиц. Наиболее оптимальны для ингаляции антибиотиков небулайзеры с вибрирующей пластиной или специальные коммерчески доступные комбинации данных небулайзеров и антибиотиков. Современные небулайзеры позволяют выполнять ингаляцию анти-

cal Pulmonary Infectious Score (CPIS); microbiological assay of sputum.

2. Assess presence of indications for using IA in a particular patient. Inhaled antibiotics are prescribed only at the background of systemic antibiotic therapy!

3. Assess presence of counter-indications and risk of complications in a particular patient.

4. Prior to commencing antibiotic inhalation, carry out toilet tracheobronchial tree suction (a suction catheter; if necessary, fiber-optic bronchoscopy), use mucolytics (fluimucil 300 mg i/v 1–2 times/day)

5. When a particular patient has a high risk of developing bronchospasm, before and after antibiotic inhalation, use bronchodilators via a nebulizer (ipratropium bromide 0.5 mg; berodual 20 drops, etc.). An extended aminophylline infusion at 240 mg/day is also efficient.

6. Adjust ALV apparatus operation: use the breathing circuit without a moistener, remove heat and moisture exchange filter for the duration of inhalation, fit it onto the expiratory valve (to prevent expiratory valve obstruction by medicine); fit the nebulizer onto the ALV apparatus at the point of inspiratory line connection or onto the inspiratory line of the circuit 30 cm from the Y-piece (a special circuit is required); use the breathing volume of 500 ml approximately (at least) for adults; ensure gas flow of 40 L/min approximately (a higher flow rate is worse), the inspiration/expiration ratio exceeding 1/2; switch off the flow trigger [1].

7. Prepare a sterile nebulizer, connect it into patient's breathing circuit; fill with a drug. Do not mix the IA solution for inhalations with other drugs. While operating a nebulizer, follow the manufacturer's instructions. The dosing schedule is determined by the drug's insert and National Recommendations [1].

8. Perform drug inhalation via the nebulizer: inhalation shall be carried out until there is no more IA in the nebulizer.

9. Upon procedure completion, check the residual volume of the drug in the nebulizer, remove the nebulizer from the breathing circuit, and perform its treatment as per manufacturer's recommendations. Pay special attention to nebulizer disinfection to preclude its colonization by nosocomial microflora.

1. Fit the heat and moisture exchange filter onto the Y-piece, reset the ALV apparatus to previous settings.

2. IA therapy duration — there is no body of evidence on this issue; one should rely on clinical data and own experience.

3. During the therapy and upon its completion, its efficacy should be assessed (clinical, laboratory, and instrumental signs; CPIS; dynamic microbiological assay of sputum), and presence of side effects.

биотика синхронно с проводимой искусственной вентиляцией легких. В идеале небулайзер должен обеспечивать минимальные изменения в настройках аппарата ИВЛ при использовании небулайзера, а также эффективную ингаляцию антибиотика даже при наличии увлажнителя в контуре.

Рекомендованный алгоритм применения ингаляционных антибиотиков [1, 49]:

1. Оценить степень тяжести и этиологическую структуру НП: клинические, лабораторные и инструментальные признаки; шкала Clinical Pulmonary Infectious Score (CPIS); данные количественного микробиологического исследования мокроты.

2. Оценить наличие показаний к использованию ИА у данного больного. Ингаляционные антибиотики назначаются только на фоне лечения системными антибиотиками!

3. Оценить наличие противопоказаний и риск развития осложнений у данного больного.

4. Перед началом ингаляции антибиотика выполнить санацию трахеобронхиального дерева (санационный катетер, при необходимости — фибробронхоскопия), использовать муколитики (флуимуцил 300 мг в/в 1–2 р/сут.)

5. При высоком риске развития бронхоспазма у данного больного — перед ингаляцией антибиотика и после нее использовать бронходилататоры через небулайзер (ипратропия бромид 0,5 мг; беродуал 20 капель и др.). Также эффективна продленная инфузия эуфиллина 240 мг/сут.

6. Коррекция работы аппарата ИВЛ — использовать дыхательный контур без увлажнителя, снять фильтр-тепловлагообменник на время ингаляции, поместить его на клапан выдоха (для предотвращения обструкции клапана выдоха медикаментом); поместить небулайзер на аппарат ИВЛ в месте присоединения линии вдоха или на линию вдоха контура в 30 см от тройника (нужен специальный контур); использовать дыхательный объем около 500 мл (не меньше) для взрослых; обеспечить поток газа около 40 л/мин (более высокий поток хуже), соотношение вдоха к выдоху более 1/2; выключить потоковый триггер [1].

7. Подготовить стерильный небулайзер, включить его в дыхательный контур больного, заполнить лекарственным препаратом. Не следует смешивать раствор ИА для ингаляций с другими лекарственными препаратами. При работе с небулайзером следовать инструкциям производителя. Режим дозирования определяется инструкцией в препарату и Национальными рекомендациями [1].

Литература

1. Гельфанд Б.Р. (ред.). Нозокомиальная пневмония у взрослых. Российские национальные рекомендации. М.: МИА; 2016: 176.
2. Bekaert M., Timsit J.F., Vansteelandt S., Depuydt P., Vésin A., Garrouste-Orgeas M., Decruyenaere J., Clec'h C., Azoulay E., Benoit D.; Outcomerea Study Group. Attributable mortality of ventilator-associated pneumonia: a reappraisal using causal analysis. *Am. J. Respir.*

Conclusion

Therefore, inhaled antibiotics (first of all, inhaled colistin and inhaled aminoglycosides) are highly effective as adjuvant therapy to systemic antibiotics for NP and should be actively used in critical care. Further studies of clinical use of inhaled antibiotics in different categories of critical care patients as a monotherapy and for NP prophylaxis in nosocomial tracheal bronchitis patients are warranted.

8. Выполнить ингаляцию препарата через небулайзер: ингаляция проводится до тех пор, пока раствор ИА в небулайзере не закончится.

9. После завершения процедуры проверить остаточный объем препарата в небулайзере, удалить небулайзер из дыхательного контура, провести его обработку в соответствии с рекомендациями производителя. Следует уделять особое внимание дезинфекции небулайзера во избежание его колонизации нозокомиальной микрофлорой.

1. Установить фильтр-тепловлагообменник на Y-образный тройник, вернуть прежние настройки аппарата ИВЛ.

2. Продолжительность лечения ИА — нет доказательной базы по данному вопросу, необходимо руководствоваться клиническими данными и собственным опытом.

3. В процессе лечения и по завершении необходимо оценивать его эффективность (клинические, лабораторные и инструментальные признаки; шкала CPIS; данные количественного микробиологического исследования мокроты в динамике) и наличие побочных эффектов.

Заклучение

Таким образом, ингаляционные антибиотики (прежде всего ингаляционный колистин и ингаляционные аминогликозиды) в качестве дополнения к системным антибиотикам при НП высокоэффективны и должны активно использоваться в реаниматологии. Требуются дальнейшие исследования в данном направлении, особенно в отношении применения ингаляционных антибиотиков у различных категорий реаниматологических больных в качестве монотерапии, а также для профилактики развития НП у пациентов с нозокомиальным трахеобронхитом.

References

1. Gelfand B.R. (ed.). Nosocomial pneumonia in adults. Russian national guidelines. Moscow: Meditsinskoe Informatsionnoe Agentstvo; 2016: 176. [In Russ.]
2. Bekaert M., Timsit J.F., Vansteelandt S., Depuydt P., Vésin A., Garrouste-Orgeas M., Decruyenaere J., Clec'h C., Azoulay E., Benoit D.; Outcomerea Study Group. Attributable mortality of ventilator-associated pneumonia: a reappraisal using causal analysis. *Am. J. Respir.*

- Crit. Care Med.* 2011; 184: 1133–1139. DOI: 10.1164/rccm.201105-0867OC. PMID: 21852541
3. Голубев А.М., Кузовлев А.Н., Сундуков Д.В., Голубев М.А. Морфологическая характеристика легких при ингаляции липополисахарида и перфторана. *Общая реаниматология*. 2015; 11 (1): 6-13. DOI: 10.15360/1813-9779-2015-1-6-13
 4. Мороз В.В., Кузовлев А.Н., Голубев А.М., Стец В.В., Половников С.Г. Респираторная поддержка в безопасном режиме при нозокомиальной пневмонии. *Общая реаниматология*. 2015; 11 (2): 6-17. DOI: 10.15360/1813-9779-2015-2
 5. Чучалин А.Г. (ред.). Респираторная медицина. Руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2007: 757.
 6. Valencia M., Torres A. Ventilator-associated pneumonia. *Curr. Opin. Crit. Care.* 2009; 15 (1): 30-35. DOI: 10.1097/MCC.0b013e3283220e78. PMID: 19186407
 7. Chastre J., Wunderink R., Prokocimer P., Lee M., Kaniga K., Friedland I. Efficacy and safety of intravenous infusion of doripenem versus imipenem in ventilator-associated pneumonia: a multicenter, randomized study. *Crit. Care Med.* 2008; 36 (4): 1089–1096. DOI: 10.1097/CCM.0b013e3181691b99. PMID: 18379232
 8. Jenkins S., Fisher A., Peterson J., Nicholson S., Kaniga K. Meta-analysis of doripenem vs comparators in patients with *Pseudomonas* infections enrolled in four phase III efficacy and safety clinical trials. *Curr. Med. Res. Opin.* 2009; 25 (12): 3029–3036. DOI: 10.1185/03007990903396790. PMID: 19849650
 9. Kollef M., Chastre J., Clavel M., Restrepo M., Michiels B., Kaniga K., Cirillo I., Kimko H., Redman R. A randomized trial of 7-day doripenem versus 10-day imipenem-cilastatin for ventilator-associated pneumonia. *Crit. Care.* 2012; 16 (6): R218. DOI: 10.1186/cc11862. PMID: 23148736
 10. Awad S.S., Rodriguez A.H., Chuang Y.C., Marjanek Z., Pareigis A.J., Reis G., Scheeren T.W.L., Sanchez A.S., Zhou X., Saulay M., Engelhardt M. A phase 3 randomized double-blind comparison of ceftobiprole medocartil versus ceftazidime plus linezolid for the treatment of hospital-acquired pneumonia. *Clin. Infect. Dis.* 2014; 59 (1): 51–61. DOI: 10.1093/cid/ciu219. PMID: 24723282
 11. Flume P., VanDevanter D. Clinical applications of pulmonary delivery of antibiotics. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2015; 85: 1–6. DOI: 10.1016/j.addr.2014.10.009. PMID: 25453268
 12. Boucher H., Talbot G., Bradley J., Edwards J., Gilbert D., Rice L., Scheld M., Spellberg B., Bartlett J. Bad bugs, no drugs: no ESKAPE! An update from the Infectious Diseases Society of America. *Clin. Infect. Dis.* 2009; 48 (1): 1–12. DOI: 10.1086/595011. PMID: 19035777
 13. Spellberg B., Bartlett J., Wunderink R., Gilbert D.N. Novel approaches are needed to develop tomorrow's antibacterial therapies. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2015; 191 (2): 135–140. DOI: 10.1164/rccm.201410-1894OE. PMID: 25590154
 14. Imberti R., Cusato M., Villani P., Carnevale L., Iotti G., Langer M., Regazzi M. Steady-state pharmacokinetics and BAL concentration of colistin in critically ill patients after IV colistin methanesulfonate administration. *Chest.* 2010; 138 (6): 1333–1339. DOI: 10.1378/ chest.10-0463. PMID: 20558557
 15. Smith B., Yogaratnam D., Levasseur-Franklin K., Formi A., Fong J. Introduction to drug pharmacokinetics in the critically ill patient. *Chest.* 2012; 141 (5): 1327–1336. DOI: 10.1378/chest.11-1396. PMID: 22553267
 16. Spellberg B. The future of antibiotics. *Crit. Care.* 2014; 18 (3): 228. DOI: 10.1186/cc13948. PMID: 25043962
 17. Амелина Е.Л., Чучалин А.Г. Ингаляционный тобрамицин в лечении синегнойной инфекции у больных муковисцидозом. *Пульмонология*. 2009; 5: 120-126.
 18. Белоусов Ю.Б., Зырянов С.К., Соколов А.В. Эффективность и безопасность раствора тобрамицина для ингаляций в лечении синегнойной инфекции при муковисцидозе. *Пульмонология*. 2010; 2: 114-119.
 19. Капранов Н.И., Каширская Н.Ю., Родионович А.М., Амелина Е.Л., Чучалин А.Г., Гембицкая Т.Е., Черменский А.Г., Орлов А.В., Varoli G., Monici Preti P. Клиническое значение специальной аэрозольной формы тобрамицина в лечении хронического бронхолегочного процесса у больных муковисцидозом. *Пульмонология*. 2008; 3: 20-26.
 20. Смелая Т.В., Кузовлев А.Н., Мороз В.В., Голубев А.М., Белопольская О.Б., Сальникова Л.Е. Молекулярно-генетические маркеры нозокомиальной пневмонии и острого респираторного дистресс-синдрома. *Общая реаниматология*. 2015; 11 (3): 24-38. DOI: 10.15360/1813-9779-2015-3
 21. Dhand R. The role of aerosolized antimicrobials in the treatment of ventilator-associated pneumonia. *Respir. Care.* 2007; 52 (7): 866-884. PMID: 17594731
 22. Riethmüller J., Herrmann G., Graepler-Mainka U., Hellwig D., Heuer H., Heyder S., Köster H., Kinder B., Kröger K., Paul K., Poplawska K., Melichar V., Smaczny C., Mellies U. Sequential inhalational tobramycin-colistin-combination in CF-patients with chronic *Paeruginosa* colonization — an observational study. *Cell Physiol. Biochem.* 2016; 39 (3): 1141-1151. DOI: 10.1159/000447821. PMID: 27576543
 - a reappraisal using causal analysis. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2011; 184: 1133–1139. DOI: 10.1164/rccm.201105-0867OC. PMID: 21852541
 3. Golubev A.M., Kuzovlev A.N., Sundukov D.V., Golubev M.A. Morphological characteristics of the lung during lipopolysaccharide and perfluorane inhalation. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2015; 11 (1): 6-13. DOI: 10.15360/1813-9779-2015-1-6-13. [In Russ., In Engl.]
 4. Moroz V.V., Kuzovlev A.N., Golubev A.M., Stets V.V., Polovnikov S.G. Safety-mode respiratory support in nosocomial pneumonia. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2015; 11 (2): 6-17. DOI: 10.15360/1813-9779-2015-2. [In Russ., In Engl.]
 5. Chuchalin A.G. (ed.). Respiratory medicine. Manual. Moscow: GEO-TAR-Media; 2007: 757. [In Russ.]
 6. Valencia M., Torres A. Ventilator-associated pneumonia. *Curr. Opin. Crit. Care.* 2009; 15 (1): 30-35. DOI: 10.1097/MCC.0b013e3283220e78. PMID: 19186407
 7. Chastre J., Wunderink R., Prokocimer P., Lee M., Kaniga K., Friedland I. Efficacy and safety of intravenous infusion of doripenem versus imipenem in ventilator-associated pneumonia: a multicenter, randomized study. *Crit. Care Med.* 2008; 36 (4): 1089–1096. DOI: 10.1097/CCM.0b013e3181691b99. PMID: 18379232
 8. Jenkins S., Fisher A., Peterson J., Nicholson S., Kaniga K. Meta-analysis of doripenem vs comparators in patients with *Pseudomonas* infections enrolled in four phase III efficacy and safety clinical trials. *Curr. Med. Res. Opin.* 2009; 25 (12): 3029–3036. DOI: 10.1185/03007990903396790. PMID: 19849650
 9. Kollef M., Chastre J., Clavel M., Restrepo M., Michiels B., Kaniga K., Cirillo I., Kimko H., Redman R. A randomized trial of 7-day doripenem versus 10-day imipenem-cilastatin for ventilator-associated pneumonia. *Crit. Care.* 2012; 16 (6): R218. DOI: 10.1186/cc11862. PMID: 23148736
 10. Awad S.S., Rodriguez A.H., Chuang Y.C., Marjanek Z., Pareigis A.J., Reis G., Scheeren T.W.L., Sanchez A.S., Zhou X., Saulay M., Engelhardt M. A phase 3 randomized double-blind comparison of ceftobiprole medocartil versus ceftazidime plus linezolid for the treatment of hospital-acquired pneumonia. *Clin. Infect. Dis.* 2014; 59 (1): 51–61. DOI: 10.1093/cid/ciu219. PMID: 24723282
 11. Flume P., VanDevanter D. Clinical applications of pulmonary delivery of antibiotics. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2015; 85: 1–6. DOI: 10.1016/j.addr.2014.10.009. PMID: 25453268
 12. Boucher H., Talbot G., Bradley J., Edwards J., Gilbert D., Rice L., Scheld M., Spellberg B., Bartlett J. Bad bugs, no drugs: no ESKAPE! An update from the Infectious Diseases Society of America. *Clin. Infect. Dis.* 2009; 48 (1): 1–12. DOI: 10.1086/595011. PMID: 19035777
 13. Spellberg B., Bartlett J., Wunderink R., Gilbert D.N. Novel approaches are needed to develop tomorrow's antibacterial therapies. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2015; 191 (2): 135–140. DOI: 10.1164/rccm.201410-1894OE. PMID: 25590154
 14. Imberti R., Cusato M., Villani P., Carnevale L., Iotti G., Langer M., Regazzi M. Steady-state pharmacokinetics and BAL concentration of colistin in critically ill patients after IV colistin methanesulfonate administration. *Chest.* 2010; 138 (6): 1333–1339. DOI: 10.1378/ chest.10-0463. PMID: 20558557
 15. Smith B., Yogaratnam D., Levasseur-Franklin K., Formi A., Fong J. Introduction to drug pharmacokinetics in the critically ill patient. *Chest.* 2012; 141 (5): 1327–1336. DOI: 10.1378/chest.11-1396. PMID: 22553267
 16. Spellberg B. The future of antibiotics. *Crit. Care.* 2014; 18 (3): 228. DOI: 10.1186/cc13948. PMID: 25043962
 17. Amelina E.L., Chuchalin A.G. Inhaling tobramycin in the treatment of *Pseudomonas aeruginosa* infection in patients with cystic fibrosis. *Pulmonologiya*. 2009; 5: 120-126. [In Russ.]
 18. Belousov Yu.B., Zyryanov S.K., Sokolov A.V. Efficacy and safety of tobramycin solution for inhalations in the treatment of *Pseudomonas aeruginosa* infection in cystic fibrosis. *Pulmonologiya*. 2010; 2: 114-119. [In Russ.]
 19. Kapranov N.I., Kashirskaya N.Yu., Rodionovich A.M., Amelina E.L., Chuchalin A.G., Gembitskaya T.E., Chermensky A.G., Orlov A.V., Varoli G., Monici Preti P. Clinical importance of special aerosol formulation of tobramycin for treatment of chronic pulmonary disease in patients with cystic fibrosis. *Pulmonologiya*. 2008; 3: 20-26. [In Russ.]
 20. Smelaya T.V., Kuzovlev A.N., Moroz V.V., Golubev A.M., Belopolskaya O.B., Sahnikova L.E. Search for common molecular genetic markers of nosocomial pneumonia and acute respiratory distress syndrome. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2015; 11 (3): 24-38. DOI: 10.15360/1813-9779-2015-3. [In Russ., In Engl.]
 21. Dhand R. The role of aerosolized antimicrobials in the treatment of ventilator-associated pneumonia. *Respir. Care.* 2007; 52 (7): 866-884. PMID: 17594731
 22. Riethmüller J., Herrmann G., Graepler-Mainka U., Hellwig D., Heuer H., Heyder S., Köster H., Kinder B., Kröger K., Paul K., Poplawska K., Melichar V., Smaczny C., Mellies U. Sequential inhalational tobramycin-colistin-combination in CF-patients with chronic *Paeruginosa* colonization — an observational study. *Cell Physiol. Biochem.* 2016; 39 (3): 1141-1151. DOI: 10.1159/000447821. PMID: 27576543

Reviews

23. Aksamit T., Bandel T.J., Criollo M., De Soyza A., Elborn J.S., Operschall E., Polverino E., Roth K., Winthrop K.L., Wilson R. The RESPIRE trials: two phase III, randomized, multicentre, placebo-controlled trials of Ciprofloxacin Dry Powder for Inhalation (Ciprofloxacin DPI) in non-cystic fibrosis bronchiectasis. *Contemp. Clin. Trials*. 2017; 58: 78-85. DOI: 10.1016/j.cct.2017.05.007. PMID: 28495619
24. Ioannidou E., Siempos I., Falagas M. Administration of antimicrobials via the respiratory tract for the treatment of patients with nosocomial pneumonia: a meta-analysis. *J. Antimicrob. Chemother.* 2007; 60 (6): 1216-1226. DOI: 10.1093/jac/dkm385. PMID: 17934205
25. Hudson R., Olson Blair B. Inhaled antibiotics for gram-negative respiratory infections. *Future Med. Chem.* 2011; 3 (13): 1663-1677. DOI: 10.4155/fmc.11.114. PMID: 21942255
26. Le J., Ashley E.D., Neuhauser M.M., Brown J., Gentry C., Klepser M.E., Marr A.M., Schiller D., Schwiesow J.N., Tice S., VandenBussche H.L., Wood G.C.; Society of Infectious Diseases Pharmacists Aerosolized Antimicrobials Task Force. Consensus summary of aerosolized antimicrobial agents: application of guideline criteria. Insights from the Society of Infectious Diseases Pharmacists. *Pharmacotherapy*. 2010; 30 (6): 562-584. DOI: 10.1592/phco.30.6.562. PMID: 20500046
27. Goldstein I., Wallet F., Nicolas-Robin A., Ferrari F., Marquette C.-H., Rouby J.-J. Lung deposition and efficiency of nebulized amikacin during *Escherichia coli* pneumonia in ventilated piglets. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2002; 166: 1375-1381. DOI: 10.1164/rccm.200204-363OC. PMID: 12406838
28. Weers J. Inhaled antimicrobial therapy — barriers to effective treatment. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2015; 85: e3-e5. DOI: 10.1016/j.addr.2015.04.014. PMID: 25913567
29. Lu Q., Yang J., Liu Z., Gutierrez C., Aymard G., Rouby J.; Nebulized Antibiotics Study Group. Nebulized ceftazidime and amikacin in ventilator-associated pneumonia caused by *Pseudomonas aeruginosa*. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2011; 184 (1): 106-115. DOI: 10.1164/rccm.201011-1894OC. PMID: 21474643
30. Drlica K., Zhao X. Mutant selection window hypothesis updated. *Clin. Infect. Dis.* 2007; 44 (5): 681-688. DOI: 10.1086/511642. PMID: 17278059
31. Niederman M.S., Chastre J., Corkery K., Fink J.B., Luyt C.E., García M.S. Bay41-6551 achieves bactericidal tracheal aspirate amikacin concentrations in mechanically ventilated patients with gram-negative pneumonia. *Intensive Care Med.* 2012; 38 (2): 263-271. DOI: 10.1007/s00134-011-2420-0. PMID: 22147112
32. Chastre J., Luyt C.-E. Optimising the duration of antibiotic therapy for ventilator-associated pneumonia. *Eur. Respir. Rev.* 2007; 16: 40-44. DOI: 10.1183/09059180.00010303
33. Korbila I., Michalopoulos A., Rafailidis P.I., Nikita D., Samonis G., Falagas M.E. Inhaled colistin as adjunctive therapy to intravenous colistin for the treatment of microbiologically documented ventilator-associated pneumonia: a comparative cohort study. *Clin. Microbiol. Infect.* 2010; 16 (8): 1230-1236. DOI: 10.1111/j.1469-0691.2009.03040.x. PMID: 19732088
34. Michalopoulos A., Papadakis E. Inhaled anti-infective agents: emphasis on colistin. *Infection*. 2010; 38 (2): 81-88. DOI: 10.1007/s15010-009-9148-6. PMID: 20191398
35. Tumbarello M., De Pascale G., Trecarichi E., De Martino S., Bello G., Marviglia R., Spanu T., Antonelli M. Effect of aerosolized colistin as adjunctive treatment on the outcomes of microbiologically documented ventilator-associated pneumonia caused by colistin-only susceptible gram-negative bacteria. *Chest*. 2013; 144 (6): 1768-1775. DOI: 10.1378/chest.13-1018. PMID: 23989805
36. Doshi N.M., Cook C.H., Mount K.L., Stawicki S.P., Frazee E.N., Personett H.A., Schramm G.E., Arnold H.M., Murphy C.V. Adjunctive aerosolized colistin for multi-drug resistant gram-negative pneumonia in the critically ill: a retrospective study. *BMC Anesthesiol.* 2013; 13 (1): 45. DOI: 10.1186/1471-2253-13-45. PMID: 24274315
37. Hall A., Cohn S.M., Namias N., Habib F., Baracco G., Manning R.J., Crookes B., Schulman C.I. Aerosolized tobramycin in the treatment of ventilator-associated pneumonia: a pilot study. *Surg. Infect. (Larchmt.)*. 2007; 8 (1): 73-82. DOI: 10.1089/sur.2006.051. PMID: 17381399
38. Mohr A.M., Sifri Z.C., Horng H.S., Sadek R., Savetamal A., Hauser C.J., Livingston D.H. Use of aerosolized aminoglycosides in the treatment of gram-negative ventilator-associated pneumonia. *Surg. Infect. (Larchmt.)*. 2007; 8 (3): 349-357. DOI: 10.1089/sur.2006.041. PMID: 17635058
39. Czosnowski Q.A., Wood G.C., Magnotti L.J., Croce M.A., Swanson J.M., Boucher B.A., Fabian T.C. Adjunctive aerosolized antibiotics for treatment of ventilator-associated pneumonia. *Pharmacotherapy*. 2009; 29 (9): 1054-1060. DOI: 10.1592/phco.29.9.1054. PMID: 19698010
40. Rello J., Solé-Lleonart C., Rouby J., Chastre J., Blot S., Poulakou G., Luyt C., Riera J., Palmer L., Pereira J., Felton T., Dhanani J., Bassetti M., Welte T., Roberts J. Use of nebulized antimicrobials for the treatment of respiratory infections in invasively mechanically ventilated adults: a position paper from the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. *Clin. Microbiol. Infect.* 2017; pii: S1198-743X(17)30219-7. DOI: 10.1016/j.cmi.2017.04.011. PMID: 28412382
23. Aksamit T., Bandel T.J., Criollo M., De Soyza A., Elborn J.S., Operschall E., Polverino E., Roth K., Winthrop K.L., Wilson R. The RESPIRE trials: two phase III, randomized, multicentre, placebo-controlled trials of Ciprofloxacin Dry Powder for Inhalation (Ciprofloxacin DPI) in non-cystic fibrosis bronchiectasis. *Contemp. Clin. Trials*. 2017; 58: 78-85. DOI: 10.1016/j.cct.2017.05.007. PMID: 28495619
24. Ioannidou E., Siempos I., Falagas M. Administration of antimicrobials via the respiratory tract for the treatment of patients with nosocomial pneumonia: a meta-analysis. *J. Antimicrob. Chemother.* 2007; 60 (6): 1216-1226. DOI: 10.1093/jac/dkm385. PMID: 17934205
25. Hudson R., Olson Blair B. Inhaled antibiotics for gram-negative respiratory infections. *Future Med. Chem.* 2011; 3 (13): 1663-1677. DOI: 10.4155/fmc.11.114. PMID: 21942255
26. Le J., Ashley E.D., Neuhauser M.M., Brown J., Gentry C., Klepser M.E., Marr A.M., Schiller D., Schwiesow J.N., Tice S., VandenBussche H.L., Wood G.C.; Society of Infectious Diseases Pharmacists Aerosolized Antimicrobials Task Force. Consensus summary of aerosolized antimicrobial agents: application of guideline criteria. Insights from the Society of Infectious Diseases Pharmacists. *Pharmacotherapy*. 2010; 30 (6): 562-584. DOI: 10.1592/phco.30.6.562. PMID: 20500046
27. Goldstein I., Wallet F., Nicolas-Robin A., Ferrari F., Marquette C.-H., Rouby J.-J. Lung deposition and efficiency of nebulized amikacin during *Escherichia coli* pneumonia in ventilated piglets. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2002; 166: 1375-1381. DOI: 10.1164/rccm.200204-363OC. PMID: 12406838
28. Weers J. Inhaled antimicrobial therapy — barriers to effective treatment. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2015; 85: e3-e5. DOI: 10.1016/j.addr.2015.04.014. PMID: 25913567
29. Lu Q., Yang J., Liu Z., Gutierrez C., Aymard G., Rouby J.; Nebulized Antibiotics Study Group. Nebulized ceftazidime and amikacin in ventilator-associated pneumonia caused by *Pseudomonas aeruginosa*. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2011; 184 (1): 106-115. DOI: 10.1164/rccm.201011-1894OC. PMID: 21474643
30. Drlica K., Zhao X. Mutant selection window hypothesis updated. *Clin. Infect. Dis.* 2007; 44 (5): 681-688. DOI: 10.1086/511642. PMID: 17278059
31. Niederman M.S., Chastre J., Corkery K., Fink J.B., Luyt C.E., García M.S. Bay41-6551 achieves bactericidal tracheal aspirate amikacin concentrations in mechanically ventilated patients with gram-negative pneumonia. *Intensive Care Med.* 2012; 38 (2): 263-271. DOI: 10.1007/s00134-011-2420-0. PMID: 22147112
32. Chastre J., Luyt C.-E. Optimising the duration of antibiotic therapy for ventilator-associated pneumonia. *Eur. Respir. Rev.* 2007; 16: 40-44. DOI: 10.1183/09059180.00010303
33. Korbila I., Michalopoulos A., Rafailidis P.I., Nikita D., Samonis G., Falagas M.E. Inhaled colistin as adjunctive therapy to intravenous colistin for the treatment of microbiologically documented ventilator-associated pneumonia: a comparative cohort study. *Clin. Microbiol. Infect.* 2010; 16 (8): 1230-1236. DOI: 10.1111/j.1469-0691.2009.03040.x. PMID: 19732088
34. Michalopoulos A., Papadakis E. Inhaled anti-infective agents: emphasis on colistin. *Infection*. 2010; 38 (2): 81-88. DOI: 10.1007/s15010-009-9148-6. PMID: 20191398
35. Tumbarello M., De Pascale G., Trecarichi E., De Martino S., Bello G., Marviglia R., Spanu T., Antonelli M. Effect of aerosolized colistin as adjunctive treatment on the outcomes of microbiologically documented ventilator-associated pneumonia caused by colistin-only susceptible gram-negative bacteria. *Chest*. 2013; 144 (6): 1768-1775. DOI: 10.1378/chest.13-1018. PMID: 23989805
36. Doshi N.M., Cook C.H., Mount K.L., Stawicki S.P., Frazee E.N., Personett H.A., Schramm G.E., Arnold H.M., Murphy C.V. Adjunctive aerosolized colistin for multi-drug resistant gram-negative pneumonia in the critically ill: a retrospective study. *BMC Anesthesiol.* 2013; 13 (1): 45. DOI: 10.1186/1471-2253-13-45. PMID: 24274315
37. Hall A., Cohn S.M., Namias N., Habib F., Baracco G., Manning R.J., Crookes B., Schulman C.I. Aerosolized tobramycin in the treatment of ventilator-associated pneumonia: a pilot study. *Surg. Infect. (Larchmt.)*. 2007; 8 (1): 73-82. DOI: 10.1089/sur.2006.051. PMID: 17381399
38. Mohr A.M., Sifri Z.C., Horng H.S., Sadek R., Savetamal A., Hauser C.J., Livingston D.H. Use of aerosolized aminoglycosides in the treatment of gram-negative ventilator-associated pneumonia. *Surg. Infect. (Larchmt.)*. 2007; 8 (3): 349-357. DOI: 10.1089/sur.2006.041. PMID: 17635058
39. Czosnowski Q.A., Wood G.C., Magnotti L.J., Croce M.A., Swanson J.M., Boucher B.A., Fabian T.C. Adjunctive aerosolized antibiotics for treatment of ventilator-associated pneumonia. *Pharmacotherapy*. 2009; 29 (9): 1054-1060. DOI: 10.1592/phco.29.9.1054. PMID: 19698010
40. Rello J., Solé-Lleonart C., Rouby J., Chastre J., Blot S., Poulakou G., Luyt C., Riera J., Palmer L., Pereira J., Felton T., Dhanani J., Bassetti M., Welte T., Roberts J. Use of nebulized antimicrobials for the treatment of respiratory infections in invasively mechanically ventilated adults: a position paper from the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. *Clin. Microbiol. Infect.* 2017; pii: S1198-743X(17)30219-7. DOI: 10.1016/j.cmi.2017.04.011. PMID: 28412382

41. Kalil A., Metersky M., Klompas M., Muscedere J., Sweeney D., Palmer L., Napolitano L., O'Grady N., Bartlett J., Carratalà J., El Solh A., Ewig S., Fey P., File T., Restrepo M., Roberts J., Waterer G., Cruse P., Knight S., Brozek J. Executive Summary: Management of Adults With Hospital-acquired and Ventilator-associated Pneumonia: 2016 Clinical Practice Guidelines by the Infectious Diseases Society of America and the American Thoracic Society. *Clin. Infect. Dis.* 2016; 63 (5): 575-582. DOI: 10.1093/cid/ciw504. PMID: 27521441
42. Palmer L.B. Aerosolized antibiotics in the intensive care unit. *Clin. Chest. Med.* 2011; 32 (3): 559-574. DOI: 10.1016/j.ccm.2011.05.012. PMID: 21867823
43. Arnold H., Sawyer A., Kollef M. Use of adjunctive aerosolized antimicrobial therapy in the treatment of *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* ventilator-associated pneumonia. *Respir. Care.* 2012; 57 (8): 1226-1233. DOI: 10.4187/respcare.01556. PMID: 22349038
44. Rigatto M., Ribeiro V., Konzen D., Zavascki A. Comparison of polymyxin B with other antimicrobials in the treatment of ventilator-associated pneumonia and tracheobronchitis caused by *Pseudomonas aeruginosa* or *Acinetobacter baumannii*. *Infection.* 2013; 41 (2): 321-328. DOI: 10.1007/s15010-012-0349-z. PMID: 23124906
45. Le Conte P., Potel G., Clementi E., Legras A., Villers D., Bironneau E., Cousson J., Baron D. Administration of tobramycin aerosols in patients with nosocomial pneumonia: a preliminary study. *Presse. Med.* 2000; 29 (2): 76-78. PMID: 10682031
46. Кузовлев А.Н., Мороз В.В., Голубев А.М. Ингаляционные антибиотики в лечении нозокомиальной пневмонии. *Анестезиология и реаниматология.* 2015; 60 (4): 55-62. PMID: 26596034
47. Lu Q., Luo R., Bodin L., Yang J., Zahr N., Aubry A., Golmard J.L., Rouby J.J.; Nebulized Antibiotics Study Group. Efficacy of high-dose nebulized colistin in ventilator-associated pneumonia caused by multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*. *Anesthesiology.* 2012; 117 (6): 1335-1347. DOI: 10.1097/ALN.0b013e31827515de. PMID: 23132092
48. Ghannam D.E., Rodriguez G.H., Raad I.I., Safdar A. Inhaled aminoglycosides in cancer patients with ventilator-associated gram-negative bacterial pneumonia: safety and feasibility in the era of escalating drug resistance. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2009; 28 (3): 253-259. DOI: 10.1007/s10096-008-0620-5. PMID: 18752007
49. Кузовлев А.Н., Мороз В.В., Голубев А.М., Половников С.Г. Ингаляционный тобрамицин в лечении ИВЛ-ассоциированной пневмонии. *Клини. фармакол. и терапия.* 2014; 23 (4): 52-58.
50. Gurjar M. Colistin for lung infection: an update. *J. Intensive Care.* 2015; 3 (1): 3. DOI: 10.1186/s40560-015-0072-9. PMID: 25705428
51. Liu D., Zhang J., Liu H., Zhu Y., Qu J. Intravenous combined with aerosolised polymyxin versus intravenous polymyxin alone in the treatment of pneumonia caused by multidrug-resistant pathogens: a systematic review and meta-analysis. *Int. J. Antimicrob. Agents.* 2015; 46 (6): 603-609. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2015.09.011. PMID: 26607337
52. Rattanaumpawan P., Lorsuthitham J., Ungprasert P., Angkasekwinai N., Thamlikitkul V. Randomized controlled trial of nebulized colistimethate sodium as adjunctive therapy of ventilator-associated pneumonia caused by Gram-negative bacteria. *J. Antimicrob. Chemother.* 2010; 65 (12): 2645-2649. DOI: 10.1093/jac/dkq360. PMID: 20876621
53. Valachis A., Samonis G., Kofteridis D. The role of aerosolized colistin in the treatment of ventilator-associated pneumonia: a systematic review and metaanalysis. *Crit. Care Med.* 2015; 43 (3): 527-533. DOI: 10.1097/CCM.0000000000000771. PMID: 25493971
54. Florescu D., Qiu F., McCartan M., Mindru C., Fey P., Kalil A. What is the efficacy and safety of colistin for the treatment of ventilator-associated pneumonia? A systematic review and meta-regression. *Clin. Infect. Dis.* 2012; 54 (5): 670-680. DOI: 10.1093/cid/cir934. PMID: 22322268
55. Kofteridis D., Alexopoulou C., Valachis A., Maraki S., Dimopoulou D., Georgopoulos D., Samonis G. Aerosolized plus intravenous colistin versus intravenous colistin alone for the treatment of ventilator-associated pneumonia: a matched case-control study. *Clin. Infect. Dis.* 2010; 51 (11): 1238-1244. DOI: 10.1086/657242. PMID: 20973727
56. Demirdal T., Sari U., Nemli S. Is inhaled colistin beneficial in ventilator associated pneumonia or nosocomial pneumonia caused by *Acinetobacter baumannii*? *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.* 2016; 15: 11. DOI: 10.1186/s12941-016-0123-7. PMID: 26911714
57. Abdellatif S., Trifi A., Daly F., Mahjoub K., Nasri R., Ben Lakhal S. Efficacy and toxicity of aerosolised colistin in ventilator-associated pneumonia: a prospective, randomised trial. *Ann. Intensive Care.* 2016; 6 (1): 26. DOI: 10.1186/s13613-016-0127-7. PMID: 27033711
58. Шабанов А.К., Хубутия М.Ш., Булава Г.В., Белобородова Н.В., Кузовлев А.Н., Гребенчиков О.А., Косолапов Д.А., Шпитонков М.И. Динамика уровня прокальцитонина при развитии нозокомиальной пневмонии у пострадавших с тяжелой сочетанной травмой в отделении реаниматологии. *Общая реаниматология.* 2013; 9 (5): 11-18. DOI: 10.15360/1813-9779-2013-5-11
59. Migiya Y., Hirosako S., Tokunaga K., Migiya E., Tashiro T., Sagishima K., Kamohara H., Kinoshita Y., Kohrogi H. Aerosolized tobramycin for
41. Kalil A., Metersky M., Klompas M., Muscedere J., Sweeney D., Palmer L., Napolitano L., O'Grady N., Bartlett J., Carratalà J., El Solh A., Ewig S., Fey P., File T., Restrepo M., Roberts J., Waterer G., Cruse P., Knight S., Brozek J. Executive Summary: Management of Adults With Hospital-acquired and Ventilator-associated Pneumonia: 2016 Clinical Practice Guidelines by the Infectious Diseases Society of America and the American Thoracic Society. *Clin. Infect. Dis.* 2016; 63 (5): 575-582. DOI: 10.1093/cid/ciw504. PMID: 27521441
42. Palmer L.B. Aerosolized antibiotics in the intensive care unit. *Clin. Chest. Med.* 2011; 32 (3): 559-574. DOI: 10.1016/j.ccm.2011.05.012. PMID: 21867823
43. Arnold H., Sawyer A., Kollef M. Use of adjunctive aerosolized antimicrobial therapy in the treatment of *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* ventilator-associated pneumonia. *Respir. Care.* 2012; 57 (8): 1226-1233. DOI: 10.4187/respcare.01556. PMID: 22349038
44. Rigatto M., Ribeiro V., Konzen D., Zavascki A. Comparison of polymyxin B with other antimicrobials in the treatment of ventilator-associated pneumonia and tracheobronchitis caused by *Pseudomonas aeruginosa* or *Acinetobacter baumannii*. *Infection.* 2013; 41 (2): 321-328. DOI: 10.1007/s15010-012-0349-z. PMID: 23124906
45. Le Conte P., Potel G., Clementi E., Legras A., Villers D., Bironneau E., Cousson J., Baron D. Administration of tobramycin aerosols in patients with nosocomial pneumonia: a preliminary study. *Presse. Med.* 2000; 29 (2): 76-78. PMID: 10682031
46. Kuzovlev A.N., Moroz V.V., Golubev A.M. Inhaled antibiotics in treatment of nosocomial pneumonia. *Anesteziology i Reanimatologiya.* 2015; 60 (4): 55-62. PMID: 26596034
47. Lu Q., Luo R., Bodin L., Yang J., Zahr N., Aubry A., Golmard J.L., Rouby J.J.; Nebulized Antibiotics Study Group. Efficacy of high-dose nebulized colistin in ventilator-associated pneumonia caused by multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*. *Anesthesiology.* 2012; 117 (6): 1335-1347. DOI: 10.1097/ALN.0b013e31827515de. PMID: 23132092
48. Ghannam D.E., Rodriguez G.H., Raad I.I., Safdar A. Inhaled aminoglycosides in cancer patients with ventilator-associated gram-negative bacterial pneumonia: safety and feasibility in the era of escalating drug resistance. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2009; 28 (3): 253-259. DOI: 10.1007/s10096-008-0620-5. PMID: 18752007
49. Kuzovlev A.N., Moroz V.V., Golubev A.M., Polovnikov S.G. Inhaled tobramycin in the treatment of ventilator-associated pneumonia. *Klinicheskaya Farmakologiya i Terapiya.* 2014; 23 (4): 52-58. [In Russ.]
50. Gurjar M. Colistin for lung infection: an update. *J. Intensive Care.* 2015; 3 (1): 3. DOI: 10.1186/s40560-015-0072-9. PMID: 25705428
51. Liu D., Zhang J., Liu H., Zhu Y., Qu J. Intravenous combined with aerosolised polymyxin versus intravenous polymyxin alone in the treatment of pneumonia caused by multidrug-resistant pathogens: a systematic review and meta-analysis. *Int. J. Antimicrob. Agents.* 2015; 46 (6): 603-609. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2015.09.011. PMID: 26607337
52. Rattanaumpawan P., Lorsuthitham J., Ungprasert P., Angkasekwinai N., Thamlikitkul V. Randomized controlled trial of nebulized colistimethate sodium as adjunctive therapy of ventilator-associated pneumonia caused by Gram-negative bacteria. *J. Antimicrob. Chemother.* 2010; 65 (12): 2645-2649. DOI: 10.1093/jac/dkq360. PMID: 20876621
53. Valachis A., Samonis G., Kofteridis D. The role of aerosolized colistin in the treatment of ventilator-associated pneumonia: a systematic review and metaanalysis. *Crit. Care Med.* 2015; 43 (3): 527-533. DOI: 10.1097/CCM.0000000000000771. PMID: 25493971
54. Florescu D., Qiu F., McCartan M., Mindru C., Fey P., Kalil A. What is the efficacy and safety of colistin for the treatment of ventilator-associated pneumonia? A systematic review and meta-regression. *Clin. Infect. Dis.* 2012; 54 (5): 670-680. DOI: 10.1093/cid/cir934. PMID: 22322268
55. Kofteridis D., Alexopoulou C., Valachis A., Maraki S., Dimopoulou D., Georgopoulos D., Samonis G. Aerosolized plus intravenous colistin versus intravenous colistin alone for the treatment of ventilator-associated pneumonia: a matched case-control study. *Clin. Infect. Dis.* 2010; 51 (11): 1238-1244. DOI: 10.1086/657242. PMID: 20973727
56. Demirdal T., Sari U., Nemli S. Is inhaled colistin beneficial in ventilator associated pneumonia or nosocomial pneumonia caused by *Acinetobacter baumannii*? *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.* 2016; 15: 11. DOI: 10.1186/s12941-016-0123-7. PMID: 26911714
57. Abdellatif S., Trifi A., Daly F., Mahjoub K., Nasri R., Ben Lakhal S. Efficacy and toxicity of aerosolised colistin in ventilator-associated pneumonia: a prospective, randomised trial. *Ann. Intensive Care.* 2016; 6 (1): 26. DOI: 10.1186/s13613-016-0127-7. PMID: 27033711
58. Shabanov A.K., Khubutiya M.Sh., Bulava G.V., Beloborodova N.V., Kuzovlev A.N., Grebenchikov O.A., Kosolapov D.A., Shpitonkov M.I. Time course of changes in the level of procalcitonin in the development of nosocomial pneumonia in victims with severe concomitant injury in an intensive care unit. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology.* 2013; 9 (5): 11-18. DOI: 10.15360/1813-9779-2013-5-11. [In Russ., In Engl.]
59. Migiya Y., Hirosako S., Tokunaga K., Migiya E., Tashiro T., Sagishima K., Kamohara H., Kinoshita Y., Kohrogi H. Aerosolized tobramycin for

Reviews

- for *Pseudomonas aeruginosa* ventilator-associated pneumonia in patients with acute respiratory distress syndrome. *Pulm. Pharmacol. Ther.* 2017; 45: 142-147. DOI: 10.1016/j.pupt.2017.04.008. PMID: 28450200
60. Smelaya T.V., Belopolskaya O.B., Smirnova S.V., Kuzovlev A.N., Moroz V.V., Golubev A.M., Pabalan N.A., Salnikova L.E. Genetic dissection of host immune response in pneumonia development and progression. *Sci. Rep.* 2016; 6: 35021. DOI: 10.1038/srep35021. PMID: 27725770
 61. Sievert D., Ricks P., Edwards J., Schneider A., Patel J., Srinivasan A., Kallen A., Limbago B., Fridkin S.; National Healthcare Safety Network (NHSN) Team and Participating NHSN Facilities. Antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections: summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2009-2010. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 2013; 34 (1): 1-14. DOI: 10.1086/668770. PMID: 23221186
 62. Montgomery A., Rhomberg P., Abuan T., Walters K., Flamm R. Amikacin/fosfomycin at a five-to-two ratio: characterization of mutation rates in microbial strains causing ventilator-associated pneumonia and interactions with commonly used antibiotics. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2014; 58 (7): 3708-3713. DOI: 10.1128/AAC.02779-13. PMID: 24752276
 63. Montgomery A., Rhomberg P., Abuan T., Walters K., Flamm R. Potentiation effects of amikacin and fosfomycin against selected amikacin-non-susceptible gram-negative respiratory tract pathogens. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2014; 58 (7): 3714-3719. DOI: 10.1128/AAC.02780-13. PMID: 24752275
 64. Montgomery A., Vallance S., Abuan T., Tservistas M., Davies A. A randomized double-blind placebo-controlled dose-escalation Phase 1 study of aerosolized amikacin and fosfomycin delivered via the PARI Investigational eFlow® Inline Nebulizer System in mechanically ventilated patients. *J. Aerosol. Med. Pulm. Drug Deliv.* 2014; 27 (6): 441-448. DOI: 10.1089/jamp.2013.1100. PMID: 24383962
 65. Tolker-Nielsen T., Hoiby N. Extracellular DNA and F-actin as targets in antibiofilm cystic fibrosis therapy. *Future Microbiol.* 2009; 4 (6): 645-647. DOI: 10.2217/fmb.09.38. PMID: 19659420
 66. Kadrichu N., Corkery K., Dang T., Challoner P. Performance of amikacin inhale: impact of supplemental oxygen and device orientation. *Crit. Care.* 2015; 19 (Suppl 1): P120. DOI: 10.1186/cc14200
 67. Esposito S., Rosazza C., Sciarabba C.S., Principi N. Inhaled antibiotic therapy for the treatment of upper respiratory tract infections. *J. Aerosol. Med. Pulm. Drug Deliv.* 2017; 30 (1): 14-19. DOI: 10.1089/jamp.2016.1300. PMID: 273362290
 68. Bassetti M., Luyt C.E., Nicolau D.P., Pugin J. Characteristics of an ideal nebulized antibiotic for the treatment of pneumonia in the intubated patient. Characteristics of an ideal nebulized antibiotic for the treatment of pneumonia in the intubated patient. *Ann. Intensive Care.* 2016; 6 (1): 35. DOI: 10.1186/s13613-016-0140-x. PMID: 27090532

Поступила 04.07.17

Received 04.07.17

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

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

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

Детоксикация при критических состояниях: понимание научной проблемы в XXI веке (обзор)

С. Е. Хорошилов, А. В. Никулин

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

Detoxication in Critical Conditions: an Insight into the Scientific Problem in the XXI Century (Review)

Sergey E. Khoroshilov, Artem V. Nikulin

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

Эндогенная интоксикация как типовой патологический процесс была и остается одной из ключевых проблем во всех областях медицины, и, прежде всего в реаниматологии. Накопление эндогенных токсических веществ является неотъемлемым компонентом любого критического состояния и сопровождается тяжелой травмой, генерализованные инфекции, деструктивные заболевания полостных органов. Утрата функции детоксикационных систем при полиорганной недостаточности влечет за собой прогрессирование эндотоксикоза и нарушение транспорта кислорода, в том числе и в самих органах детоксикации, тем самым замыкается порочный круг танатогенеза.

Эндогенная интоксикация — мультидисциплинарная проблема, являющаяся областью интересов разных направлений современной медицинской науки, экспериментальной патофизиологии и биомедицинской технологии. Благодаря этому в клиническую практику внедряются новые эффективные методы эфферентного лечения критических состояний. В Научно-исследовательском институте общей реаниматологии им. В. А. Неговского РАМН (ныне ФНКЦ РР) на протяжении многих лет ведется изучение теоретических и прикладных вопросов, направленных на решение проблемы эндотоксикоза. В представленном обзоре мы постарались обобщить основные результаты деятельности Института в данном направлении.

Ключевые слова: эндогенная интоксикация, эфферентное лечение; детоксикация

Endogenous intoxication as a typical pathological process has always been one of the key issues in all areas of medicine, especially in intensive care. Accumulation of endogenous toxic substances is an integral component of any critical condition. It accompanies severe trauma, generalized infections and destructive diseases of the cavity organs. The loss of the function of detoxification systems in multi-organ failure causes the progression of endotoxemia and the disruption of oxygen transport (in the organs of detoxification as well), hence closing the vicious cycle of thanatogenesis.

Endogenous intoxication is a multidisciplinary problem being a matter of interest in different areas of modern medical science, experimental pathophysiology and biomedical technology. As a result new effective methods of effluent treatments of critical conditions are introduced into clinical practice. For many years theoretical and applied issues aimed at solving the problem of endotoxemia have been the focus of studies in the V. A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology of the Russian Academy of Medical Sciences (now the Federal Research and Clinical Center of Intensive Care Medicine and Rehabilitology). In the presented review we have tried to generalize the main results of the Institute's activities in this direction.

Keywords: endogenous intoxication; effluent treatment; detoxification

DOI:10.15360/1813-9779-2017-5-85-108

Введение	Introduction
В сфере интересов токсикологии как самостоятельного раздела реаниматологии лежит дей-	The action of toxic substances that enter the organism exogenously is studied in toxicology as an
Адрес для корреспонденции: Сергей Хорошилов E-mail: intensive@list.ru Артём Никулин E-mail: artemka41-8@mail.ru	Correspondence to: Sergey Khoroshilov E-mail: intensive@list.ru Artem Nikulin E-mail: artemka41-8@mail.ru

ствие токсических веществ, поступающих экзогенным путем. Современная токсикология располагает многочисленными данными о токсикокINETике и механизмах экзогенных отравлений, биотрансформации ядов и их элиминации. Разработана подробная классификация отравляющих веществ и алгоритмы лечебных мероприятий в зависимости от их физико-химических свойств и путей поступления. Эндогенная интоксикация и по сей день является неразрешенной проблемой. Одним из первых опытов обсуждения возможности диагностики и лечения эндогенной интоксикации явился международный симпозиум, прошедший в 1994 году в Санкт-Петербурге под одноименным названием. Под эндогенной интоксикацией понималось накопление в жидкостных компартментах конечных или промежуточных продуктов нормального или извращенного метаболизма, приводящее к нарушению сначала специфической, а затем неспецифической функции клеток. Любое критическое состояние сопровождается накоплением токсических веществ в большем или меньшем количестве, что вызывает повреждение клеточных мембран, расстройство внутриклеточного метаболизма, разобщение окисления и фосфорилирования в митохондриях, и в конечном итоге приводит к тканевой (гистотоксической) гипоксии. Как правило интоксикация начинает играть ведущую роль в патогенезе многих системных заболеваний, тяжелой инфекции или сочетанной травмы, поэтому разработка комплекса эфферентных методов лечения при критических состояниях является одной из приоритетных направлений в научно-исследовательской деятельности НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского, в лаборатории гипоксии критических состояний под руководством чл.-корр. РАМН В. В. Мороза. Результатом деятельности научных сотрудников лаборатории за последние годы стало теоретическое обоснование и клиническое внедрение экстракорпорального лечения сепсиса, определен алгоритм применения эфферентных методов при тяжелой сочетанной травме (ТСТ), сформулированы принципы медикаментозной нефропротекции и раннего применения заместительной почечной и печеночной терапии при критических состояниях. Научные изыскания в этом направлении продолжают, изучается эффективность высоко- и сверхпроницаемых мембран для гемодиализа (ГД) и гемодиалфильтрации (ГДФ), селективных и комбинированных методик (селективная гемосорбция липополисахарида, искусственная печень, гепарин-индуцированный липаферез и др.).

Интоксикация: дефиниция, классификация, механизмы. Диссертационная работа чл.-корр. РАН Виктора Васильевича Мороза [1] посвящена фундаментальной проблеме — коррек-

independent section of resuscitation. Modern toxicology has numerous data on the toxicokinetics and mechanisms of exogenous poisoning, biotransformation of poisons and their elimination. A detailed classification of toxic substances and algorithms of curative interventions has been developed depending on their physical and chemical properties and routes of entry. To the present time endogenous intoxication has been an unresolved problem. An international symposium held in 1994 in St. Petersburg was one of the first exercises in the possibility of diagnosis and treatment of endogenous intoxication. Endogenous intoxication was determined as the accumulation of the final or intermediate products of normal or perverse metabolism in the fluid compartments resulting in a disruption of the specific and later the non-specific cell function. Any critical condition is accompanied by the accumulation of toxic substances in greater or lesser amounts, which causes damage to cell membranes, an intracellular metabolism disorder, an uncoupling of oxidation and phosphorylation in the mitochondria with the ultimate outcome being tissue (histotoxic!) hypoxia. As a rule, the intoxication has become a key factor in the pathogenesis of many systemic diseases, severe infection and combined trauma. Development of a complex of efferent treatment methods in critical conditions remains the one of the priority areas in the research activities of the V. A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology (in the Laboratory of Hypoxia in Critical Conditions under the guidance of V.V. Moroz, a Corresponding Member of the RAMS). The activity of the Laboratory's scientists in recent years has resulted in a theoretical substantiation and clinical implementation of the extracorporeal treatment of sepsis, the algorithm for the use of efferent methods in severe combined trauma (SCT), principles for the drug nephroprotection and the early use of renal and hepatic replacement therapy in critical illness. There are ongoing studies in following areas: the efficacy of highly permeable and superpermeable membranes for hemodialysis (HD) and hemodiafiltration (HDF), clinical studies that employ selective and combined methods (selective hemosorption of lipopolysaccharide, artificial liver, heparin-induced lipapheresis, etc.).

Intoxication: definition, classification and mechanisms. The subject of the doctoral thesis of Victor Vasilyevich Moroz, a Corresponding Member of the RAS [1] was the fundamental issue of correcting hypoxia in critical conditions. For the first time the concepts of detoxification and disintoxication were clearly defined. Detoxification should be understood as the removal of toxic substances from the body in an unchanged form. Disintoxication involves their destruction in the body to safer substances that are further eliminated by natural organs of detoxification (primarily,

ции гипоксии при критических состояниях. В ней впервые четко были определены понятия детоксикация и дезинтоксикация. Под «детоксикацией» следует понимать удаление токсических веществ из организма в неизменном виде, к «дезинтоксикации» относится разрушение их непосредственно в организме до более безопасных веществ с последующей элиминацией естественными органами детоксикации, прежде всего почками и печенью. Тем не менее, неоднозначность термина «токсин» создает в научных публикациях терминологическую путаницу, и как синонимы используется множество понятий.

Определение термина «эндогенные токсические субстанции» (ЭТС) охватывает широкий спектр веществ с массой молекулы от одного (катион водорода) до миллионов (гаптеновые белки) Дальтон, и лишь малая часть из них химически идентифицирована. Поэтому можно значительно расширить круг состояний, подпадающих под понятие интоксикации. Например, оксид водорода, т.е. вода, — структурный и функциональный компонент каждой клетки, который при этом проявляет «токсические» свойства, накапливаясь при целом ряде состояний (острая почечная недостаточность, отек легких, гиперволемиа, застойная сердечная недостаточность, гипергидратация при легочной гипертензии, анасарка и др.) Источником ЭТС могут служить как собственные клетки, так и микроорганизмы — патогенные или симбионтные. Последние в норме колонизируют ЖКТ, легкие, мочевыделительные пути и кожу. Задача, стоящая перед эфферентной медициной, сводится к удалению вещества, избыток которого нарушает нормальное течение физиологических процессов. При этом с точки зрения технологии удаления совершенно не важно, существует ли это вещество в норме, поступило оно извне или явилось продуктом извращенного синтеза.

По преимущественному пути поступления ЭТС в кровоток можно выделить несколько механизмов интоксикации.

1) Продукционный механизм — избыточное поступление продуктов нормального метаболизма при сохранной функции органов элиминации. Пример — продукционная азотемия при белковом катаболизме у больных сепсисом или при тяжелой сочетанной травме.

2) Резорбционный механизм — поступление в кровоток продуктов клеточного распада из очага тканевой деструкции или продуктов жизнедеятельности микроорганизмов. Пример — травматический рабдомиолиз при синдроме длительного сдавления, деструктивный панкреатит. Особая разновидность — транслокация эндотоксина микроорганизмов при несостоятельности гистогематических барьеров (абдоминальный сепсис при третичном перитоните).

kidney and liver). Nevertheless, the ambiguity of the term «toxin» creates terminological confusion in scientific publications, and many concepts are used as synonyms.

The definition of the term «endogenous toxic substances» (ETS) covers a broad range of substances with a molecule mass from one Dalton (hydrogen cation) to millions Dalton (haptenic proteins), and only a small fraction of them have been chemically identified. Therefore, the range of conditions falling under the concept of intoxication can be significantly expanded. For example, hydrogen oxide (water) is a structural and functional component of each cell, which at the same time exhibits «toxic» properties when accumulating in a number of conditions (acute renal failure, pulmonary edema, hypervolemia, congestive heart failure, hyperhydration in pulmonary hypertension, anasarca, etc.). Both own cells and microorganisms (pathogenic or symbiotic) can be the source of ETS. The latter normally colonize the gastrointestinal tract, lungs, urinary tract and skin. The task facing efferent medicine is reduced to the removal of a substance the excess of which disrupts the normal course of physiological processes. At the same time, as far as the removal technology is concerned, it is not at all important whether this substance is normal, has come from the outside or was a product of a perverse synthesis.

There are several mechanisms of intoxication identified by the primary route of ETS entering the bloodstream:

1) The production mechanism: an excessive supply of products of normal metabolism with the function of elimination organs unimpaired, for example, production azotemia in protein catabolism in patients with sepsis or in severe combined trauma.

2) The resorption mechanism: the entry into the bloodstream of cellular decay products from a source of tissue destruction or the products of vital activity of microorganisms, for example, traumatic rhabdomyolysis in long-term compression syndrome or destructive pancreatitis. The translocation of endotoxin of microorganisms with insufficiency of histohematological barriers (abdominal sepsis with tertiary peritonitis) is a special variety of this mechanism.

3) The reperfusion mechanism: products of unfinished metabolism from tissues, which have been subject to prolonged ischemia, enter the bloodstream, for example, ischemic rhabdomyolysis in the syndrome of positional compression, restoration of blood circulation after successful resuscitation or operations with artificial circulation;

4) The retention mechanism: a delay in excretion of substances of any origin as a result of the failure of natural detoxification organs, for example, an impairment of the nitrogen excretory function of kidneys (uremia), obstructive jaundice, etc.

3) Реперфузионный механизм — поступление в кровотоки продуктов незавершенного метаболизма из тканей, подвергшихся длительной ишемии. Пример — ишемический рабдомиолиз при синдроме позиционного сдавления, восстановление кровообращения после успешной реанимации, операции с искусственным кровообращением;

4) Ретенционный механизм — задержка выведения веществ любого происхождения в результате несостоятельности естественных органов детоксикации. Пример — нарушение азотвыделительной функции почек (уремия), механическая желтуха и т.д.

Необходимым условием для развития любой интоксикации является попадание ЭТС в кровотоки и их распространение по водным секторам организма. Объем распределения ЭТС зависит от их физико-химических свойств, главными из которых являются молекулярная масса и водо-(жиро)-растворимость. Эти характеристики являются ключевыми при выборе методов экстракорпоральной детоксикации. Условной границей веществ малой молекулярной массы является 500 Да — проницаемость клеточных мембран. Это все молекулярные элементы (см. периодическую таблицу Менделеева), мочевины, креатинин, глюкоза, аминокислоты. Методом устранения низкомолекулярной интоксикации является гемодиализ. Существует лишь одна эндогенная низкомолекулярная интоксикация — уремия, развивающаяся при острой или хронической почечной недостаточности. Вещества, обладающие большой молекулярной массой, являются полимерами или белками (циркулирующие иммунные комплексы, иммуноглобулины, факторы свертывания). Размер их молекул превышает 50–60 тыс. Да. Они эффективно удаляются плазмаферезом. Их накопление характерно для многих иммунопатологических процессов, однако в реаниматологии эти вещества не играют существенной роли. Наконец, самая большая группа соединений — вещества «средней молекулярной массы» с размером молекулы от 0,5 до 50 тыс. Да. Химический состав молекул средней массы (МСМ) весьма неоднороден и объединяет гетерогенную группу веществ. Сюда попадают регуляторные гормоны, биоактивные пептиды, незавершенные продукты разрушения бактериальных клеток, белкового катаболизма и аутолиза, миоглобин. Именно средние молекулы являются наиболее важной точкой приложения при проведении экстракорпоральной детоксикации при критических состояниях. Современными разработками для устранения этой проблемы являются сверхпроницаемые диализаторы и плазмосепараторы с высоким диффузионным клиренсом по МСМ, что сделало возможным эффективное удаление этих

A prerequisite for the development of any intoxication is the ingress of ETS into the bloodstream and their spread through the water sectors of the organism. The volume of the ETS distribution depends on their physicochemical properties, with the main being the molecular mass and the water (fat) solubility. These characteristics determine the choice of methods of extracorporeal detoxification. The conditional boundary of low molecular weight substances is 500 Da (the permeability of cell membranes). These are all molecular elements (see Mendeleev's periodic table), urea, creatinine, glucose, and amino acids. Hemodialysis is a method of eliminating low molecular weight intoxication. There is only one endogenous low-molecular intoxication (the uremic one) that develops in acute or chronic renal failure. Substances of high molecular weight are polymers or proteins (circulating immune complexes, immunoglobulins, coagulation factors). The size of their molecules exceeds 50 000–60 000 Da. They are efficiently removed by plasmapheresis. Their accumulation is typical for many an immunopathological process, but these substances do not play a significant role in resuscitation. Finally, the largest group of compounds are substances of «average molecular weight» with a molecular size from 500 to 50 000 Da. The chemical composition of the average mass molecules (AMMs) is quite heterogeneous and combines heterogeneous substances. These include regulatory hormones, bioactive peptides, unfinished products of the bacterial cells destruction, protein catabolism and autolysis, myoglobin. The average mass molecules are the most important when performing extracorporeal detoxification in critical conditions. Ultra-highly permeable dialyzers and plasma separators with high diffusion clearance in the AMM are among topical methods for the elimination of the problem, which enable the efficient removal of these molecules in the dialysis regime without loss of endogenous water.

There are complementary approaches (clinical and laboratory ones) traditionally used for the diagnosis of endogenous intoxication. The clinical evaluation of intoxication is subjective and largely depends on the knowledge and experience of the physician, which complicates early diagnosis and development of unified approaches to treatment. The availability of laboratory studies depends on the equipment of a particular hospital, whereas the non-uniformity of the tests applied reduces their informative content in general when choosing a detoxification method. Based on the clinical picture, there are three degrees of severity of intoxication. The severity of organ dysfunction is considered as the criteria, such as hemodynamic disorders, central nervous system dysfunction, respiratory failure, decreased diuresis, and adipsia to the ongoing therapy. Unfortunately, these criteria are not specific and do not take into account the premorbid background, the

молекул в режиме диализа без потерь эндогенной воды.

Для диагностики эндогенной интоксикации традиционно используют дополняющие друг друга подходы — клинический и лабораторный. Клиническая оценка интоксикации субъективна и во многом зависит от знаний и опыта лечащего врача, что затрудняет раннюю диагностику и выработку единых подходов к лечению. Доступность лабораторных исследований зависит от оснащенности конкретного стационара, а неоднородность применяемых тестов снижает в целом их информативность при выборе метода детоксикации. На основании клинической картины выделяют три степени тяжести интоксикации. В качестве критериев принимается выраженность органной дисфункции: расстройства гемодинамики, нарушение функции центральной нервной системы, наличие дыхательной недостаточности, снижение диуреза, рефрактерность к проводимой терапии. К сожалению эти критерии не являются специфичными и не учитывают преморбидный фон, характер основного заболевания и функциональные резервы конкретного организма. По нашему мнению, более удачной является классификация хирургического эндотоксикоза, принятая в ЦВКГ им. А. А. Вишневого [2], градация тяжести проводится с учетом исходного состояния организма, характера очага (источника) интоксикации, лабораторных показателей — количества лейкоцитов, содержания МСМ, мочевины, продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ). Тем не менее, ее применение ограничено больными хирургического профиля, и оценка непосредственных результатов проводимой экстракорпоральной детоксикации по ней также затруднительна.

Широкое распространение получило лабораторное определение ЭТС оптическим методом. Он основан на измерении оптической плотности безбелкового супернатанта биологической жидкости при длинах волн 190–302 нм. В результате получается относительная величина, характеризующая концентрацию веществ низкой и средней молекулярной массы (ВНиСММ). Регистрация спектра в данной зоне ультрафиолетовой части позволяет произвести комплексную оценку более 200 молекул ЭТС, образующихся при нормальном и нарушенном метаболизме. Однако четкой корреляции между плазменным уровнем ВНиСММ и тяжестью эндогенной интоксикации нет. Концентрация любого вещества в плазме крови определяется скоростью его поступления в кровоток, характером распределения и темпом выведения. Например, эритроциты играют существенную роль в транспорте ЭТС, что подтверждается ухудшением электрофоретической подвижности эритроцитов при любой эндогенной интоксикации [3]. Для отражения соотношения

nature of the underlying disease and the functional reserves of a particular organism. In our opinion, the classification of surgical endotoxicosis used in the A. A. Vishnevsky Central Military Clinical Hospital, is more successful [2]: the severity grading is performed considering the initial state of the organism, the nature of the source of intoxication, laboratory indicators (the number of leukocytes, the content of AMM, urea, and products of lipid peroxidation (LPO)). Nevertheless, the use is limited to patients with surgical profile. Besides, it is difficult to evaluate the immediate results of extracorporeal detoxification.

The laboratory determination of ETS by the optical method has become widespread. It is based on the measurement of the optical density of the protein-free supernatant of a biological fluid at wavelengths 190–302 nm. As a result, a relative value is obtained that identifies the concentration of substances of low and average molecular weight (SLAMM). The registration of the spectrum in this area of the ultraviolet zone allows a complex evaluation of more than 200 ETC molecules formed during normal and disturbed metabolism. However, there is no clear correlation between the plasma level of SLAMM and the severity of endogenous intoxication. The concentration of any substance in the blood plasma is determined by the rate of its entry into the bloodstream, the nature of the distribution and the rate of excretion. For example, red blood cells play an important role in the ETS transport, which is confirmed by the deterioration of the electrophoretic mobility of erythrocytes in any endogenous intoxication [3]. The researchers in the Institute of General Reanimatology have suggested an integral index (the index of the syndrome of endogenous intoxication (ISEI)) to reflect the relationship between the accumulation and removal of SLAMM. When calculating the index the sorption capacity of the erythrocyte membrane, the accumulation and transport of SLAMM in plasma and their natural elimination in urine are taken into account. The authors have identified three variants of endogenous intoxication depending on the level of the ISEI: compensated, sub- and decompensated, which corresponded to the severity of abdominal and obstetric sepsis in the examined patients [4]. At high ISEI values, the authors recommend an early initiation of renal replacement therapy.

Extracorporeal detoxication in severe combined trauma. Intoxication is one of the leading pathogenetic mechanisms in traumatic disease at all stages of its development and has a combined nature. With the SCT the destruction of muscles is accompanied by the release and resorption of the products of cytolysis. Myoglobin is the most obvious and important biochemical indicator of traumatic rhabdomyolysis. Its concentration reliably correlates with the severity

между накоплением и выведением ВНиСММ сотрудниками НИИ общей реаниматологии был предложен интегральный показатель — индекс синдрома эндогенной интоксикации (ИСЭИ), при расчете которого учитывают сорбционную способность эритроцитарной мембраны, накопление и транспорт ВНиСММ в плазме и их естественную элиминацию с мочой. В зависимости от уровня ИСЭИ авторы выделяют три варианта эндогенной интоксикации — компенсированную, суб- и декомпенсированную, которые соответствовали тяжести абдоминального и акушерского сепсиса у обследованных больных [4]. При высоких значениях ИСЭИ авторы рекомендуют раннее начало заместительной почечной терапии.

Экстракорпоральная детоксикация при тяжелой сочетанной травме. Интоксикация является одним из ведущих патогенетических механизмов травматической болезни на всех этапах ее развития, нося комбинированный характер. При ТСТ разрушение мышечных массивов сопровождается высвобождением и резорбцией продуктов цитолиза. Миоглобин — наиболее очевидный и важный биохимический показатель травматического рабдомиолиза. Его концентрация надежно коррелирует с тяжестью органной дисфункции и выраженностью системного воспалительного ответа при ряде хирургических и гематологических заболеваний [5].

Рабдомиолиз представляет собой деструкцию поперечно-полосатой мускулатуры с резорбцией продуктов цитолиза в интерстициальное пространство и системный кровоток.

Этиологические факторы рабдомиолиза:

- Механическая травма
- Лекарства и токсиканты
- Чрезмерная физическая нагрузка
- Гипертермия
- Ишемия скелетной мускулатуры
- Длительное неподвижное состояние
- Инфекции (вирусные и бактериальные)
- Электролитные и эндокринные нарушения
- Генетические аномалии
- Заболевания соединительной ткани

Несмотря на многообразие причин и факторов, приводящих к некрозу скелетной мускулатуры, механизм этого состояния един и сводится к деструкции миоцита и попаданию клеточного содержимого в кровообращение. Миоглобин — один из самых важных и опасных среднелекулярных токсинов (ММ 18,8 кДа), образующихся при разрушении скелетных мышц. В норме миоглобин в следовых количествах определяется в плазме крови, откуда удаляется путем клубочковой фильтрации, но высокая концентрация миоглобина в моче в условиях кислой среды вызывает образование нерастворимых конгломератов, блокирующих пассаж фильтрата по канальцам.

ty of organ dysfunction and the severity of the systemic inflammatory response in a number of surgical and hematological diseases [5].

Rhabdomyolysis is a destruction of the striated muscle with resorption of cytolytic products in the interstitial space and systemic blood flow.

Etiological factors of rhabdomyolysis are as follows:

- Mechanical injury
- Drugs and toxicants
- Excessive physical activity
- Hyperthermia
- Skeletal muscle ischemia
- Prolonged motionless state
- Infections (viral and bacterial)
- Electrolyte and endocrine disorders
- Genetic abnormalities
- Connective tissue diseases

Despite the variety of causes and factors that result in necrosis of skeletal muscles, the mechanism of this condition is universal and is defined as the myocyte destruction and the entry of cellular contents into the circulation. Myoglobin is one of the most important and dangerous medium-molecular toxins (Mm 18.8 kDa) formed during the destruction of skeletal muscles. Normally myoglobin is determined in the blood plasma in trace amounts from where it is removed by glomerular filtration, but a high concentration of myoglobin in the urine under acidic conditions causes the formation of insoluble conglomerates that block the filtrate passage through the tubules. Intracanalicular hypertension causes the leakage of the filtrate into the renal interstitium, and interstitial edema develops. Ischemia of the tubular epithelium can lead to acute tubular necrosis.

Massive decay of myocytes results in the release of the potassium ion (the main intracellular electrolyte) into the bloodstream. Hyperkalemia in conditions of hypovolemia, acidosis and developing renal failure may be life-threatening as causes intracardiac blockade, so it requires immediate treatment.

Phosphorus is released from the damaged muscles and in kidney failure leads to the formation of tissue deposits from calcium-phosphorus complexes and to the development of hypocalcemia in the early period of rhabdomyolysis. Massive calcifications can be observed in the areas of myonecrosis, and in a number of cases heterotopic ossification is observed. Decreased serum calcium levels in hyperkalemia can cause heart rhythm disturbances, muscle spasms and convulsions. In the late post-compression period calcium leaves the depot leading to hypercalcemia.

Reperfusion of myolysis sites is accompanied by the nucleosides entry into the blood (the products of the catabolism of nucleic acids). As a result purines and uric acid accumulate. Their precipitation also contributes to tubular obstruction.

Внутриканальцевая гипертензия приводит к утечке фильтрата в почечный интерстиций, развивается интерстициальный отек. Ишемия тубулярного эпителия может привести к острому канальцевому некрозу.

Массивный распад миоцитов приводит к выходу в кровоток основного внутриклеточного электролита — иона калия. Гиперкалиемия в условиях гиповолемии, ацидоза и развивающейся почечной недостаточности может носить жизнеугрожающий характер, вызывая внутрисердечную блокаду, и требует незамедлительного лечения.

Фосфор высвобождается из поврежденных мышц и при почечной недостаточности приводит к образованию тканевых депозитов из кальций-фосфорных комплексов и развитию гипокальциемии в раннем периоде рабдомиолиза. В участках мионекроза могут наблюдаться массивные кальцинаты, а в ряде случаев выявляется гетеротопическая оссификация. Снижение уровня сывороточного кальция на фоне гиперкалиемии может вызвать нарушения сердечного ритма, мышечные спазмы и судороги. В позднем посткомпрессионном периоде кальций покидает депо, приводя к гиперкальциемии.

Реперфузия участков миолиза сопровождается поступлением в кровь нуклеозидов — продуктов катаболизма нуклеиновых кислот. В результате накапливаются пурины и мочевая кислота, преципитация которых также способствует канальцевой обструкции.

Резорбция продуктов клеточного распада закономерно приводит к развитию системного воспалительного ответа неинфекционного генеза. В дальнейшем, при условии повреждения анатомических барьеров, на третьей стадии травматической болезни развиваются инфекционные осложнения и сепсис. Это состояние вызывается и поддерживается повышенной продукцией медиаторов воспаления. Гипоксическое повреждение слизистой оболочки кишечника может привести к транслокации кишечной микрофлоры и развитию абдоминального сепсиса, а при проникновении бактерий в кровоток — возникновению других инфекционных осложнений.

Диагностика рабдомиолиза, осложненного миоглобинурической ОПН, строится прежде всего на анализе клинических симптомов, лабораторных данных и результатов лучевого исследования.

1) Клинические критерии: жалобы на мышечные боли, лихорадку, потемнение мочи и снижение темпа мочеотделения, в анамнезе заболевания и жизни — наличие триггерных или предрасполагающих факторов (травма, ишемия, прием лекарственных препаратов, сахарный диабет, атеросклероз, наследственные заболевания, операции в условиях искусственного кровообращения), в локальном статусе — отек и уплотнение в области предпола-

Resorption of products of cellular decay naturally results in the development of a systemic inflammatory response of non-infectious genesis. In the future, if anatomic barriers are damaged, infectious complications and sepsis develop in the third stage of the traumatic illness. This condition is caused and supported by the increased production of inflammatory mediators. Hypoxic damage to the intestinal mucosa can lead to translocation of the intestinal microflora and the development of abdominal sepsis, and other infectious complications if bacteria penetrate the bloodstream.

Diagnosis of rhabdomyolysis, which is complicated by myoglobinuric arthritis, is primarily based on the analysis of clinical symptoms, laboratory data and the results of radiation research.

1) Clinical criteria: complaints of muscle pain, fever, darkening of the urine and a decrease in the rate of urination, trigger factors or predisposing factors (trauma, ischemia, medication, diabetes, atherosclerosis, hereditary diseases, artificial circulation) in the patient's medical history, in the local status — edema and compaction in the area of suggested compression, disturbed pulsation of the main vessels.

2) Laboratory data: cytolytic laboratory syndrome (hypermyoglobinemia, increased CPK, LDH, AST, ALT, hyperkalemia, hyperphosphatemia), metabolic acidosis, plasma hyperosmolarity, increased concentrations of nitrogen metabolism products (creatinine, urea nitrogen, uric acid), myoglobinuria, positive NGAL (serum and urine) test.

3) Radiation examination: echographic signs of edema and dystrophy in muscle mass, loss of muscle structure and striation in the zone of probable damage, CT- or MRI-signs of destruction of soft tissues.

Suggested ways of treatment for rhabdomyolysis are conservative (infusion therapy, achievement of alkalosis, saluretics), surgical (surgical treatment), and early efferent therapy.

Extracorporeal detoxification is a very powerful and effective way of removing tissue decay products. However, it should be applied only after performing conservative measures and complete surgical sanitation of the lesion sites. The choice of a method and a regime of efferent treatment is based on the nature of the substances causing intoxication and the kinetic parameters reflecting the phase of injury/illness, the rate of resorption of toxins and the preservation of the natural mechanisms of elimination.

Plasmapheresis is a simple and available method of removing tissue degradation products in the 'vascular phase' of the toxins distribution. Depending on the equipment available in a clinical center both plasmafiltration and gravitational plasmapheresis can be used. Plasmofiltration can be performed without equipment both in the field and in the stages of medical evacuation. Since the molecular value of myoglobin corresponds to the spectrum of AMM, it can be

гаемого позиционного сдавления, нарушенная пульсация магистральных сосудов.

2) Лабораторные данные: цитолитический лабораторный синдром (гипермиоглобинемия, рост КФК, ЛДГ, АсАТ, АлАТ, гиперкалиемия, гиперфосфатемия), метаболический ацидоз, гиперосмолярность плазмы, повышение концентрации продуктов азотистого обмена (креатинина, азота мочевины, мочевой кислоты), миоглобинурия, позитивный NGAL-тест сыворотки и мочи.

3) Лучевое исследование: эхографические признаки отека и дистрофии в мышечных массивах, потеря структурности и истощенности мышц в зоне вероятного повреждения, РКТ- или МРТ-признаки деструкции мягких тканей.

Лечение при рабдомиолизе — консервативное (инфузионная терапия, достижение алкалоза, салуретики), оперативное (хирургическая обработка), раннее эфферентное.

Экстракорпоральная детоксикация это весьма мощный и эффективный способ удаления продуктов тканевого распада, однако прибегать к нему следует только после выполнения консервативных мероприятий и полноценной хирургической санации очагов деструкции. Выбор метода и режима эфферентного лечения проводится исходя из характера веществ, вызывающих интоксикацию, и кинетических параметров, отражающих фазу травмы/болезни, скорость резорбции токсинов и сохранность естественных механизмов элиминации.

Плазмаферез — простой и доступный метод удаления продуктов тканевого распада в «сосудистую фазу» распределения токсинов. В зависимости от доступности аппаратуры и оснащенности клинического центра может быть использована как плазмофильтрация, так и гравитационный плазмаферез. Плазмофильтрация может быть выполнена безаппаратным способом и в полевых условиях, и на этапах медицинской эвакуации. При этом, поскольку молекулярная величина миоглобина соответствует спектру МСМ, его удаление из организма возможно и с помощью фильтрационных методов детоксикации [6]. В педиатрии плазмаферез нашел применение как эффективный метод борьбы с острым внутрисосудистым гемолизом [7]. Гемофильтрация с высокими объемами замещения жидкости помимо конвекционного удаления продуктов цитолиза оказывает стабилизирующее действие на гемодинамику. Применение сверхвысокопроницаемых мембран (с высокой точкой отсечки по молекулярной массе) обеспечивает диффузионный клиренс по веществам средней массы, что повышает как эффективность, так и переносимость (безопасность) экстракорпорального воздействия.

Резорбция продуктов клеточного распада при тяжелой сочетанной травме (ТСТ) приводит к развитию системного воспалительного ответа

removed from the organism by filtration methods of detoxification [6]. In pediatrics plasmapheresis has been used as an effective method for controlling acute intravascular hemolysis [7]. Hemofiltration with high volumes of fluid replacement (in addition to the convection removal of cytotoxic products) has a stabilizing effect on hemodynamics. The use of ultra-high-permeability membranes (with a high cut-off point for molecular weight) provides diffusion clearance for medium-weight substances, thus increasing both the efficacy and the tolerability (safety) of extracorporeal exposure.

Unfortunately, resorption of cellular decay products in severe combined trauma (SCT) leads to the development of a systemic inflammatory response (SIR), which is initially non-infectious. The impaired barrier function of the intestinal mucosa can result in the translocation of intestinal microflora and the development of abdominal sepsis [8], and with bacteria penetrating the bloodstream, in other infectious complications. A.M. Ilchenko, an employee at the V. A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology, performed a study of the extracorporeal detoxification in victims with massive crushing of soft tissues in SCT [9]. 41 victims (78.8%) of 52 victims showed traumatic toxicosis in the early post-traumatic period and 11 victims (21.2%) developed septic shock. The decision to conduct hemofiltration and plasmapheresis in the first group was taken in the laboratory diagnosis of early signs of endogenous intoxication expressed in increased concentrations of myoglobin (more than 700.0 ng/ml), CPK more than 900 IU/l, AMM more than 0.8 opt. units. Plasmapheresis in the early stages of medical care (Days 1–3) allowed the affected patients to have a decrease in CPK by 19%, the myoglobin content by 25%, and the average molecules by 26%. Hemodiafiltration using ultra-high-permeability membranes (EMiC₂) in the early post-traumatic period promoted a more significant decrease in the CPK concentration (by 32%), a 44% decrease in the myoglobin content and a 37% increase in the average molecules. In addition, the victims who received plasmapheresis surgery showed a decrease in the total protein, which was not observed with HDF. The high efficacy of early application of HDF and plasmapheresis in victims with SCT with massive crushing of soft tissues enabled a significant reduction in the lethality (9.6%) and the development of infectious complications. The replacement dose in patients with septic shock should be selected taking into account the severity of the systemic inflammatory response, the level of intoxication, hemodynamic disorders and gas exchange disorders [10].

It is necessary to emphasize the need for timely (early) use of efferent methods in the treatment of the toxic resorptive state. Patients affected with SCT with massive crushing of soft tissues after stabi-

(СВО), который изначально носит неинфекционный характер. Нарушение барьерной функции слизистой оболочки кишечника может привести к транслокации кишечной микрофлоры и развитию абдоминального сепсиса [8], а при проникновении бактерий в кровоток — возникновению других инфекционных осложнений. Сотрудником НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского (Ильченко А. М.) была проведена работа, посвященная экстракорпоральной детоксикации у пострадавших с массивным размождением мягких тканей при ТСТ [9]. У 41 (78,8%) из 52 пострадавших выявлены проявления травматического токсикоза в раннем посттравматическом периоде и у 11 (21,2%) — развитие септического шока. Решение о проведении гемодифльтрации и плазмафереза в первой группе принималось при лабораторной диагностике ранних признаков эндогенной интоксикации, выражавшихся в повышенных концентрациях миоглобина — более 700,0 нг/мл, КФК — более 900 МЕ/л, МСМ — более 0,8 опт. ед. Проведение плазмафереза на ранних этапах оказания медицинской помощи (1–3 сутки) позволило достичь у пострадавших снижения КФК на 19%, содержания миоглобина — на 25%, средних молекул — на 26%. Гемодифльтрация с использованием сверхвысокопроницаемых мембран (ЕМiC₂) в раннем посттравматическом периоде способствовала более значимому снижению концентрации КФК (на 32%), уменьшению содержания миоглобина (на 44%) и средних молекул (на 37%). Кроме того, у пострадавших, получавших операции плазмафереза, отмечено уменьшение общего белка, чего не наблюдалось при ГДФ. Высокая эффективность раннего применения ГДФ и плазмафереза у пострадавших при ТСТ с массивным размождением мягких тканей позволило существенно снизить летальность (9,6%) и развитие инфекционных осложнений. Выбор дозы замещения у больных с септическим шоком должен осуществляться с учетом выраженности системного воспалительного ответа, уровня интоксикации, гемодинамических нарушений и нарушений газообмена [10].

Следует подчеркнуть необходимость своевременного (раннего) применения эфферентных методов при лечении токсико-резорбтивного состояния. Пострадавшим с ТСТ при массивном размождении мягких тканей после стабилизации гемодинамики в раннем посттравматическом периоде (1–3 сутки) показано проведение: гемодифльтрации — в условиях высокоспециализированного лечебного учреждения и плазмафереза — на этапах, приближенных к месту получения травмы, с целью коррекции последствий массивного цитолиза. Это позволяет снизить риск летальных осложнений в отдаленном периоде после травмы. У пострадавших с уже развившимися ин-

ализации гемодинамики в раннем пост-травматическом периоде (Дни 1–3) должны получать следующие treatments: гемодифльтрация (в высокоспециализированном медицинском учреждении) и плазмаферез (на этапах, близких к месту травмы, для коррекции последствий массивного цитолиза). Это позволяет снизить риск летальных осложнений в долгосрочном периоде после травмы. У пациентов с уже развившимися инфекционными осложнениями при СТО применение гемодифльтрации в кратчайшие сроки способствует стабилизации гемодинамики и уменьшению проявлений эндогенной интоксикации. Предложенный алгоритм имеет высокий уровень детоксикационной эффективности и позволяет значительно улучшить результаты лечения при СТО.

Disintoxication in the treatment of sepsis.

Physicochemical methods of disintoxication aimed to inactivate toxins directly in the body are still widely used in most clinics in Russia. Methods of physical and chemical modification of blood have been used in the treatment of sepsis for decades. The ultraviolet and laser irradiation of the blood has a bactericidal and immunomodulating effect, with the photomodification of the blood performed through a light guide installed in the venous bed. In the thesis research by O. M. Shevtsova [11] the effects of intravascular laser (IVL) and the ultraviolet irradiation of blood have been demonstrated. They are manifested in decreasing the viscosity of blood and improving the deformability of erythrocytes. There is also a positive effect of plasmapheresis on hemostasis: the levels of SFMCs and fibrinogen decreased, the spontaneous aggregation of platelets decreased combined with the increase in fibrin degradation products, which, in the opinion of the authors, is a sign of deblocking of the microcirculatory bed. A study was conducted on the efficacy of IVL in combination with hyperbaric oxygenation (HBO) at the Regional Campus of the Research Institute of General Reanimatology in Novokuznetsk. Clinical observations were performed in 80 surgical patients with purulent-septic complications. They were divided into two groups: in Group 1 the treatment was supplemented by IVL sessions using the helium-neon laser from the first postoperative day, in Group 2 IVL was supplemented with HBO one session per day for three days in a row. The control group included 18 patients who underwent the HBO. Central hemodynamics was studied by the method of computer tetrapolar rheography, metabolites of carbohydrate metabolism and products of lipid peroxidation were determined. In patients of the second group there was an increase in the cardiac stroke volume after the sessions of IVL reaching 65.6 ml by the second HBO session, compared with the initial value of 47.8 ml ($P<0.05$). There was no significant influence of the IVL on the level of AMM. After the IVL sessions the content of cerulo-

фекционными осложнениями ТСТ применение гемофильтрации позволяет в короткие сроки стабилизировать гемодинамику и снизить проявления эндогенной интоксикации. Предлагаемый алгоритм характеризуется высоким уровнем детоксикационной эффективности и позволяет существенно улучшить результаты лечения ТСТ.

Дезинтоксикация в лечении сепсиса. В большинстве клиник России широкое распространение до сих пор имеют физико-химические методы дезинтоксикации, направленные на инактивацию токсинов непосредственно в организме. Многие десятилетия при лечении сепсиса применялись методы физической и химической модификации крови. Бактерицидным и иммуномодулирующим эффектом обладает ультрафиолетовое и лазерное облучение крови, при этом фотомодификация крови производится через световод, установленный в венозном русле. В диссертационном исследовании Шевцовой О. М. [11] доказаны эффекты внутрисосудистого лазерного (ВЛОК) и ультрафиолетового облучения крови, проявляющиеся в уменьшении вязкости крови и улучшении деформируемости эритроцитов. Также показано положительное влияние плазмафереза на гемостаз — снижался уровень РФМК, фибриногена, уменьшалась спонтанная агрегация тромбоцитов в сочетании с ростом продуктов деградации фибрина, что, по мнению авторов, является признаком деблокирования микроциркуляторного русла. На базе Филиала НИИ общей реаниматологии в г. Новокузнецке проведено исследование эффективности ВЛОК в сочетании с гипербарической оксигенацией (ГБО). Клинические наблюдения проведены у 80 хирургических больных с гнойно-септическими осложнениями, которые были разделены на две группы: в 1 группе комплекс лечения дополнялся сеансами ВЛОК гелий-неоновым лазером с первых послеоперационных суток, во 2 группе ВЛОК дополнялось ГБО по одному сеансу в день три дня подряд. В контрольную группу вошло 18 больных, которым выполняли ГБО. Исследовалась центральная гемодинамика методом компьютерной тетраполярной реографии, определялись метаболиты углеводного обмена, продукты перекисного окисления липидов. У больных 2 группы отмечено увеличение ударного объема сердца после сеансов ВЛОК, достигающего ко второму сеансу ГБО 65,6 мл по сравнению с исходным значением 47,8 мл ($p < 0,05$). Достоверного влияния ВЛОК на уровень МСМ обнаружено не было. После сеансов ВЛОК нормализовалось содержание церулоплазмينا в плазме крови, а также пероксидазы и гликогена в нейтрофилах у больных с исходно низкими значениями, что отражает восстановление антиоксидантной активности крови. В 1 и 2 группах нормализовался лактат-приурватный

plasmin in the blood plasma, as well as peroxidase and glycogen in neutrophils in patients with initially low values was normalized, which reflects the restoration of the antioxidant activity of the blood. In groups 1 and 2 the lactate-prioval coefficient was normalized, which was the result of correcting hypoxia and energy deficiency. The inclusion of the IVL in the treatment in the postoperative period in patients with a low antioxidant activity and high levels of free radical reactions helped prevent the toxic effect of hyperbaric oxygen and reduce the lethality by 7%. Nevertheless, according to modern data of domestic and foreign researchers, the photomodification of blood does not have independent significance and does not affect the survival of patients with severe sepsis and septic shock.

Electrolysis of isotonic sodium chloride solution followed by a subsequent intravenous infusion was called indirect electrochemical disintoxication. Sodium hypochlorite formed during electrolysis is an unstable compound. It rapidly decomposes in the absence of oxidizing substances and releases «active oxygen», while hydroxylating xenobiotics and practically all organic substances (bilirubin, ammonia, urea, acetone, etc.) in the body. It is believed that indirect electrochemical oxidation simulates the function of the cytochrome P-450 biocatalyst. Sodium hypochlorite is a compound with a low molecular weight, so it diffuses freely in the extracellular sector and can damage the cell membranes. A number of significant drawbacks hinder the use of this method in the treatment of critical patients: unpredictability and instability of the composition of the resulting solution, non-selectivity of the action of active oxygen species, unavoidable damage to blood cells and membranes of other cells, oxidation of clotting factors and injectable drugs, and inactivation of biologically active substances. Thus, disintoxication is an uncontrolled and difficultly predictable process. The use of physicochemical methods in the treatment of critical patients can be justified only by the exhaustion of therapeutic options or the inaccessibility of other more effective methods, which, however, is not uncommon in Russian clinics. We should emphasize that to date physicochemical disintoxication is not a field of scientific interests of the Institute in view of the indicated shortcomings. Nevertheless, the technical simplicity and relative cheapness make these methods the only ones available for the vast majority of regional health facilities. This allows us to present the results of a study by a group of authors from Nizhny Novgorod [12]. It contains extensive material on the treatment of postoperative complications in patients with purulent inflammatory diseases of the abdominal cavity (cholangitis, pancreatic necrosis, peritonitis), which were given an ozonized isotonic sodium chloride solution and a sodium hypochlorite solution in combination with

коэффициент, что является результатом коррекции гипоксии и энергодефицита. Включение ВЛОК в комплекс лечения в послеоперационном периоде у больных с низкой антиоксидантной активностью и высоким уровнем свободно-радикальных реакций позволило предотвратить токсический эффект гипербарического кислорода и снизить летальность на 7%. Тем не менее, по современным данным отечественных и зарубежных исследователей, фотомодификации крови не имеет самостоятельного значения и не влияет на выживаемость больных тяжелым сепсисом и септическим шоком.

Электролиз изотонического раствора натрия хлорида с последующей внутривенной инфузией получил название непрямой электрохимической дезинтоксикации. Образующийся при электролизе гипохлорит натрия является неустойчивым соединением, в отсутствие окисляющих веществ быстро разлагается, выделяя «активный кислород», а в организме гидроксилирует ксенобиотики и практически все органические вещества — билирубин, аммиак, мочевины, ацетон и пр. Считается, что не прямое электрохимическое окисление имитирует функцию биокатализатора цитохрома P-450. Гипохлорит натрия представляет собой соединение с малой молекулярной массой, поэтому он свободно диффундирует во внеклеточном секторе и может повреждать клеточные мембраны. Ряд существенных недостатков сдерживают применение этого метода в лечении критических больных: непредсказуемость и нестабильность состава получаемого раствора, неизбирательность действия активных форм кислорода, неизбежное повреждение форменных элементов крови и мембран других клеток, окисление факторов свертывания и вводимых лекарственных средств, инаktivация биологически активных веществ. В связи с этим дезинтоксикация — малоконтролируемый и труднопредсказуемый процесс. В лечении критических больных применение физико-химических методов может быть оправдано лишь исчерпанием лечебных возможностей или недоступностью других более эффективных методов, что, впрочем, не редкость в российских клиниках. Подчеркнем, что на сегодняшний день физико-химическая дезинтоксикация не является областью научных интересов Института ввиду указанных недостатков. Тем не менее, техническая простота и относительная дешевизна делают эти методы единственно доступными для подавляющего большинства региональных ЛПУ. С этих позиций считаем возможным привести результаты работы, проведенной группой авторов из Нижнего Новгорода [12]. В ней изложен обширный материал по лечению послеоперационных осложнений у больных с гнойно-воспалительными заболеваниями брюшной поло-

the UVR of blood and discrete plasmapheresis. In the thesis the results of four randomized controlled trials were combined. In Study 1 128 patients with acute cholecystitis complicated with acute cholangitis were examined. All of them had cholecystectomy performed with the drainage of the choledochus duct through the stump of the bladder duct according to Halstead-Pikovsky. Traditional methods of treatment were supplemented by the intravenous administration of the ozonized isotonic sodium chloride solution with the ozone concentration in the solution of 2 mg/l for 5–7 days after the surgery, which reduced the level of endotoxemia. This was evidenced by a decrease in the level of total bilirubin relative to the baseline state by a factor of 2, LII by 70%; the plasma SLAMM by 31%; ISEI by 62.5%; AST by 30%, and ALT by 34.7%; an increase of 68% from the initial state of SLAMM in the urine. The drip introduction in choledochous duct of the 0.06% solution of sodium hypochlorite in a volume of 40 ml at a rate of 50 drops per minute for 4-5 days after the operation allowed the reduction of the titer of gram-negative microorganisms by four times, i.e. practically to normal values. The duration of the patients' stay in the RICU was reduced from 10.2 ± 0.074 to 4.7 ± 0.095 days, and the duration of inpatient treatment was shortened from 13.47 ± 0.16 to 8.57 ± 0.15 days.

The Study 2 involved 180 patients with diffuse peritonitis. It was shown that intravenous sodium hypochlorite in combination with ultraviolet irradiation of autoblood stimulates the T-cell link of immunity. This was confirmed by an increase in the absolute number of T-lymphocytes by Day 13 after the surgical treatment by 48.2%, the level of T-active lymphocytes by 66.6%, an increase in the T-suppressor content by four times against the constant number of T-helpers, and by a decrease in immunoregulatory of the index by 56.6%. In addition, the combination of the IECO and the blood UVR increased the number of B-lymphocytes by 22.2% and activated their functional activity in the form of an increase in the IgM content by 90.8%.

The Study 3 included 120 patients with destructive pancreatitis. They were treated with sodium hypochlorite, ozonized sodium chloride solution, the blood UVR and discrete plasmapheresis. The use of these methods in the preoperative period in patients with the infected pancreatic necrosis prevented worsening of the patients' condition on Day 1 after the operation. Compared with the control, hemodynamics remained stable during the surgery and after the transfer from the operating room; the concentrations of bilirubin, transaminases, urea, LII, ISEI, plasma SLAMM, erythrocytes and urine were preserved at the initial level, normal values of diuresis; there was no deterioration in the immunological status in comparison with the control group.

сти (холангит, панкреонекроз, перитонит), которым применяли озонированный изотонический раствор хлорида натрия и раствор гипохлорита натрия в сочетании с УФО крови и дискретным плазмаферезом. В диссертационной работе были объединены результаты 4-х рандомизированных контролируемых исследований. В исследовании № 1 обследовано 128 больных с острым холециститом, осложненных острым холангитом. Всем им была выполнена холецистэктомия с дренированием холедоха через культю пузырного протока по Холстеду-Пиковскому. Традиционные методы лечения дополнялись внутривенным введением озонированного изотонического раствора хлорида натрия с концентрацией озона в растворе 2 мг/л в течение 5–7 суток после операции, что снижало уровень эндотоксемии. Об этом свидетельствовали: уменьшение относительно исходного состояния уровня общего билирубина в 2 раза, ЛИИ — на 70%; ВНиСММ плазмы — на 31%; ИСЭИ — на 62,5%; АсАТ — на 30%, а АЛАТ — на 34,7%; повышение на 68% от исходного состояния ВНиСММ в моче. Капельное введение в холедох 0,06% раствора гипохлорита натрия в объеме 40 мл со скоростью 50 капель в минуту в течение 4–5 суток после операции позволило снизить титр грамотрицательных микроорганизмов в 4 раза, т.е. практически до нормальных значений. Сроки пребывания больных в ОРИТ были сокращены с $10,2 \pm 0,074$ до $4,7 \pm 0,095$ суток, а сроки стационарного лечения — с $13,47 \pm 0,16$ до $8,57 \pm 0,15$ суток.

В исследование № 2 включено 180 больных с диффузным перитонитом. Показано, что внутривенное введение гипохлорита натрия в сочетании с ультрафиолетовым облучением аутокрови стимулирует Т-клеточное звено иммунитета. Это подтверждалось увеличением абсолютного количества Т-лимфоцитов к 13 суткам после оперативного лечения на 48,2%, уровня Т-активных лимфоцитов — на 66,6%, повышением содержания Т-супрессоров в 4 раза на фоне неизменного числа Т-хелперов, снижением иммунорегуляторного индекса на 56,6%. Кроме того, сочетание НЭХО и УФО крови повышало количество В-лимфоцитов на 22,2% и активизировало их функциональную активность в виде роста содержания IgM на 90,8%.

В исследование № 3 вошли 120 больных деструктивным панкреатитом. В комплекс лечения в исследуемых группах включили гипохлорит натрия, озонированный раствор натрия хлорида, УФО крови и дискретный плазмаферез. Применение этих методов в предоперационном периоде при инфицированном панкреонекрозе предотвратило ухудшение состояния больных в 1 сутки после операции. По сравнению с контролем сохранялась стабильность гемодинамики во время операции и после перевода из операционной, со-

The Study 4 included 60 patients with diffuse peritonitis of various etiologies. It was shown that discrete plasmapheresis should be combined with the transfusion of autoerithrocytic mass previously treated in the hemocone by the ozonated isotonic sodium chloride solution. This results in the reduced numbers of LII by 3.4 times, the plasma SLAMM by 63%, the red blood cells SLAMM by 20% compared to the baseline level; the content of SLAMM in urine increases by 41%. With the standard technique of discrete plasmapheresis there is only a significant decrease in the level of the plasma SLAMM observed, while the levels of the SLAMM of erythrocytes and urine remain unchanged. The study of the excretory function of the kidneys showed that the level of urea is reduced by 23.6%, the creatinine of blood by 28.6% compared to those before the session, the magnitude of creatinine clearance is increased by 40.8% and diuresis is increased by 50%. When two sessions of plasmapheresis are used following the usual method, there is no dynamics of indices of the excretory function of the kidneys, in addition to the amount of diuresis.

Detoxification in sepsis and its complications.

Bacterial infection initiates inflammation through the activation of biochemical and cellular cascades causing the production of endogenous mediators and effector immune cells. The role of this response is to maintain homeostasis and to limit the spread and growth of microorganisms at the focus of infection. At the present the model of endotoxin stimulation of cells is considered to be the most studied in the pathogenesis of bacterial sepsis [13]. Endotoxin directly and indirectly affects endothelial cells and activates polymorphonuclear neutrophils. On the surface of the endothelium the production of free oxygen radicals is enhanced, which contributes to the development of intravascular coagulation in the microcirculatory channel. Endotoxin is involved in the formation of microvascular thromboses (that increase ischemia of organs and tissues), and, in turn, causes the development of organ disturbances. Disseminated thrombosis of microvessels is formed, which results in the development of circulatory hypoxia. The conditions of hemocoagulation and fibrinolysis in 100 patients with widespread peritonitis were studied in detail in the thesis by E. Khandazhapov, where the signs of DIC were detected in all patients [14]. Contact activation through endotoxemia leads to the production of bradykinin (a powerful vasodilator, which also increases the permeability of the endothelium and thereby increases the extravasation of the fluid). In this case the gel matrix of the interstitial space «swells» disrupting the diffusion of metabolites and oxygen; this effect has been proved experimentally and clinically [15]. Endotoxemia and hyperconcentration of inflammation mediators («mediator storm») cause disorders of central hemodynamics due

хранилась на исходном уровне концентрация билирубина, трансаминаз, мочевины, ЛИИ, ИСЭИ, ВНиСММ плазмы, эритроцитов и мочи, нормальная величиной диуреза; отсутствовало ухудшение показателей иммунологического статуса, как это имело место в контрольной группе.

В исследование № 4 вошло 60 больных диффузным перитонитом различной этиологии. Показано, что дискретный плазмаферез целесообразно дополнять переливанием аутоэритроцитарной массы, предварительно обработанной в гемаконе озонированным изотоническим раствором натрия хлорида. В результате уменьшаются: ЛИИ в 3,4 раза, ВНиСММ плазмы на 63%, ВНиСММ эритроцитов на 20% по сравнению с исходным уровнем и повышается содержание ВНиСММ в моче на 41%. При обычной методике дискретного плазмафереза наблюдается лишь достоверное уменьшение уровня ВНиСММ в плазме, показатели же уровня ВНиСММ эритроцитов и мочи остаются неизменными. Изучение выделительной функции почек показало, что уровень мочевины снижается на 23,6%, креатинин крови — на 28,6% по сравнению с таковыми до сеанса, величина клиренса креатинина увеличивается на 40,8% и диурез увеличивается на 50%. При применении же двух сеансов плазмафереза по обычной методике, динамики показателей выделительной функции почек, кроме величины диуреза, не наблюдается.

Детоксикация при сепсисе и его осложнениях. Бактериальная инфекция инициирует воспаление через активацию биохимического и клеточного каскадов, вызывая продукцию эндогенных медиаторов и эффекторных иммунных клеток. Роль этого ответа заключается в поддержании гомеостаза и ограничении распространения и роста микроорганизмов в очаге инфекции. Наиболее изученной в настоящее время в патогенезе бактериального сепсиса считается модель эндотоксиновой стимуляции клеток [13]. Эндотоксин прямо и опосредованно воздействует на эндотелиальные клетки и активирует полиморфноядерные нейтрофилы. На поверхности эндотелия усиливается продукция свободных кислородных радикалов, что способствует развитию внутрисосудистой коагуляции в микроциркуляторном русле. Эндотоксин участвует в формировании микроваскулярных тромбозов, усиливающих ишемию органов и тканей, и вызывает, в свою очередь, развитие органных нарушений. Формируется диссеминированный тромбоз микрососудов, что приводит к развитию циркуляторной гипоксии. Состояние гемокоагуляции и фибринолиза у 100 больных распространенным перитонитом предметно изучено в диссертационной работе Хандажапова Э. Д., где признаки ДВС были выявлены у всех больных [14]. Контактная активация через эндотоксинемию ведет к продукции брадикинина — мощного

to direct myocardial depression and vasoplegia [6]. The main component of the mediator cascade are cytokines (peptides with multiple paracrine and distance effects synthesized by macrophages). $\text{TNF-}\alpha$, $\text{IL-1}\beta$, IL-6 and IL-8 are the key mediators of the inflammatory cascade. These are the primary mediators of a systemic inflammatory response. Their increased levels indicate a pronounced antigenic stimulation of immune cells [16]. The increase in the ratio of $\text{IL-1}\beta/\text{TNF-}\alpha$ to 10 cu and higher, a decrease in the activity of C3 and C4 fractions of the complement, and a low IgG level indicate immunodepression and are prognostic factors of lethality.

I. I. Yakovleva, working with the V. A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology, has done a thesis on the optimization of renal replacement therapy in patients with sepsis and septic shock by using extended HDF [17]. 66 patients with severe sepsis were treated, 38 of those were in need of inotropic support. All patients, irrespective of the ARF, were treated with renal replacement therapy. Patients had high concentrations of the circulating $\text{TNF-}\alpha$, lactate, cortisol and thyroxine. It was found that during the HDP a significant amount of $\text{TNF-}\alpha$ is removed by filtration (8.92 mg/day) and partial adsorption on the haemofilter membrane (10,977 ng/min), as well as cortisol and thyroxine without a significant decrease in the concentration of hormones in the blood plasma. The role of blood elements in the transport of hormones was proved by the separate determination of the plasma concentration of hormones before and after the hemofiltration and eluting them from the erythrocyte sediment. It was shown that the intake of a significant amount of exogenous lactate in the replacement solution aggravates hyperlactatemia, which requires additional administration of sodium hydrogencarbonate. When studying the kinetics of urea and creatinine, it was found that the HDP provides an adequate control of azotemia regardless of the level of metabolism and the supply of nitrogen carriers with food. In 72% of patients with septic shock and the preserved contractile ability of the myocardium under the influence of HDF a significant improvement in the indices of systemic hemodynamics and oxygen transport was obtained. In 58% of patients with acute parenchymal lung injury gas exchange was improved with an increase in the oxygenation index, a decrease in the intrapulmonary shunt, alveolar-arterial difference, and oxygen pressure in the alveoli. The use of the constant HDF in complex therapy enabled the reduction of mortality to 43.9%.

The obtained experimental and clinical data on the high efficacy of large replacement volumes in septic shock was used as a prerequisite for the next study performed by R. E. Pavlov in the V. A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology [18]. Re-

вазодилатора, который также увеличивает проницаемость эндотелия и тем самым повышает экстравазацию жидкости. При этом гель-матрикс интерстициального пространства «набухает», нарушая диффузию метаболитов и кислорода; этот эффект доказан экспериментально и клинически [15]. Эндотоксинемия и гиперконцентрация медиаторов воспаления («медиаторная буря») вызывают расстройства центральной гемодинамики за счет прямой депрессии миокарда и вазоплегии [6]. Основным компонентом медиаторного каскада являются цитокины, представляющие собой пептиды с множественными паракринными и дистанционными эффектами, синтезируемые макрофагами. Ключевые медиаторы воспалительного каскада — TNF- α , интерлейкин-1 β (IL-1 β), интерлейкин-6 (IL-6), интерлейкин-8 (IL-8). Это первичные медиаторы системного воспалительного ответа, повышение уровня которых говорит о выраженной антигенной стимуляции иммунных клеток [16]. Рост отношения IL-1 β /TNF- α до 10 у.е. и выше, снижение активности C3- и C4-фракций комплемента, низкий уровень IgG свидетельствуют об иммунодепрессии и являются прогностическими факторами летальности.

Сотрудником НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского И. И. Яковлевой выполнено диссертационное исследование, посвященное оптимизации заместительной почечной терапии у больных сепсисом и септическим шоком путем применения продленной ГДФ [17]. Проведено лечение 66 больных с тяжелым сепсисом, в инотропной поддержке нуждалось 38 человек. Всем больным независимо от наличия ОПН проводили заместительную почечную терапию. У больных регистрировалась высокая концентрация циркулирующего TNF- α , лактата, кортизола и тироксина. Установлено, что во время ГДФ удаляется существенное количество TNF- α посредством фильтрации (8,92 мкг/сут) и частичной адсорбции на мембране гемофильтра (10,977 нг/мин), а также кортизол и тироксин без существенного снижения концентрации гормонов в плазме крови. Раздельным определением плазменной концентрации гормонов до и после гемофильтра и элюированием их с осадка эритроцитов доказана роль форменных элементов крови в транспорте гормонов. Доказано, что поступление значительного количества экзогенного лактата в составе замещающего раствора усугубляет гиперлактатемию, что требует дополнительного введения гидрокарбоната натрия. При исследовании кинетики мочевины и креатинина установлено, что ГДФ обеспечивает адекватный контроль азотемии независимо от уровня метаболизма и поступления носителей азота с питанием. У 72% больных с септическим шоком и сохранной контрактильной способностью миокар-

сультс of the treatment of 60 hemodynamically unstable patients with severe sepsis are presented. Patients were treated with the HVHF with a dose of substitution of 90 ml/kg/h. According to the bioimpedance spectroscopy data, initial water-sectoral disturbances were recorded in all patients in the form of an increase in the total fluid content due to intracellular space and a simultaneous decrease in the volume of circulating blood. The cause of the uncontrolled trans-sectoral fluid movement was an increase in vascular permeability, as well as a disturbance of osmotic and oncotic balance [19]. As a result the content of extracellular water decreased from 15.7% to 4.5%, and the VBC increased by 19% from the initial value. In the comparison group, water-sectoral disturbances persisted longer, and infusion therapy caused an increase in the FV with persistent hypovolemia. The HVHF made it possible to significantly change the gas exchange after 6 hours: a significant increase in oxygen delivery was observed (from 419 $\pm$ 49 to 560 $\pm$ 78 ml/min/m²), however, with an increase in its consumption (from 172 $\pm$ 31 to 196.0 $\pm$ 22 ml/min/m²), which indicates the restoration of microcirculation and perfusion of internal organs, including kidneys, as indicated by a significant increase in the urine output by minute. According to foreign authors, the condition of renal function in critical states is of fundamental importance: with the preservation of diuresis, despite azotemia, there is an almost two-fold increase in survival rate compared to patients in the anuric phase of acute renal failure (ARF). The renal blood flow, hence the water-discharge function of the kidneys, clearly reflect the state of visceral microcirculation as a whole. An original study by S. E. Khoroshilov, a leading scientific researcher of the V. A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology, showed that the effect of nephroprotection on mortality in ARF of circulatory genesis (the treated sample was 176 patients divided into three groups) [4]. In the comparison group ($n=46$) the ARF was diagnosed based on oliguria and the growth of nitrogenous slags. The dialysis treatment started according to traditional indications. Nephroprotective therapy was given to 75 patients of Group II with the purpose to restore glomerular filtration and eliminate hypoxia of the tubular epithelium. Organ perfusion was potentiated with osmotically active substances (mannitol, 20% glucose solution, hypertonic NaCl solution). Patients of Group III (55 people) had the early diagnosis of ARF performed for natriuresis and excreted fractions of sodium, urea and creatinine. They had a strong positive correlation between the glomerular filtration rate and the concentration of urine sodium ($k=0.79$ for $P<0.05$); therefore, renal replacement therapy was initiated when medication had been inefficient during 24 hours. That strategy pursued two complementary goals: the replacement (prosthetics) of the lost kidney function and, at the same time, modeling

да под влиянием ГДФ получено существенное улучшение показателей системной гемодинамики и транспорта кислорода. У 58% больных с острым повреждением легких отмечено улучшение газообмена с ростом индекса оксигенации, уменьшением внутрилегочного шунта, альвеолярно-артериальной разницы и давления кислорода в альвеолах. Применение в комплексной терапии постоянной ГДФ позволило снизить летальность до 43,9%.

Полученные экспериментальные и клинические данные о высокой эффективности больших объемов замещения при септическом шоке послужили предпосылкой для следующего исследования, выполненного в НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского Павловым Р. Е. [18]. Приведены результаты лечения 60 гемодинамически нестабильных больных с тяжелым сепсисом. Больным выполняли ВОГФ с дозой замещения 90 мл/кг/ч. По данным биоимпедансной спектроскопии, исходные водно-секторальные нарушения регистрировались у всех больных в виде увеличения содержания общей воды за счет внутриклеточного пространства и одновременным уменьшением объема циркулирующей крови. Причиной неконтролируемого транссекторального перемещения жидкости явилось увеличение сосудистой проницаемости, а также нарушение осмотического и онкотического равновесия [19], в результате которой снижалось содержание внеклеточной воды с 15,7 до 4,5%, а ОЦК вырос на 19% от исходного значения. В группе сравнения водно-секторальные нарушения сохранялись дольше, а инфузионная терапия приводила к росту ОЖ при сохраняющейся гиповолемии. Проведение ВОГФ позволило уже через 6 часов существенно изменить газообмен — отмечено значимое увеличение доставки кислорода (с 419 ± 49 до 560 ± 78 мл/мин/м²), сопровождавшееся, однако, и увеличением его потребления (с 172 ± 31 до $196,0 \pm 22$ мл/мин/м²), что свидетельствует о восстановлении микроциркуляции и перфузии внутренних органов, в том числе почек, о чем говорил достоверный рост минутного диуреза. По данным зарубежных авторов, состояние почечной функции при критических состояниях имеет принципиальное значение: сохранность диуреза, несмотря на азотемию, сопровождается ростом выживаемости почти в два раза по сравнению с больными в анурической фазе острой почечной недостаточности (ОПН). Почечный кровоток, а значит, и водовыделительная функция почек наглядно отражают состояние висцеральной микроциркуляции в целом. В оригинальном исследовании ведущего научного сотрудника НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского С. Е. Хорошилова доказано влияние нефропротекции на летальность при ОПН циркуляторного генеза на опыте лечения 176 больных, которые были разделены на 3 группы [4]. В группе сравнения ($n=46$) диаг-

of the excretory function of the kidneys in order to preserve the functional reserve. The latter can be regarded as a means of preventing acute renal damage: the frequency of anuric form of ARF in Group III patients was significantly lower and amounted to 20.1%. In patients with neoliguric form of arthritis, a lethal outcome was observed in 38.9% of cases, and in the development of anuric arthritis in 59.9% of cases ($P<0.05$). The overall mortality rate for early initiation of renal replacement therapy was 41.8%, which is 1.8 times lower than in Group I ($P<0.05$).

Detoxification in abdominal (gram-negative) sepsis. The main inducer of the systemic inflammatory response in gram-negative sepsis is endotoxin (lipopolysaccharide of the outer wall of gram-negative bacteria released when the bacterial cell is destroyed). It includes an obligate part (lipid A), a central oligosaccharide (cortex) and an optional hydrophilic O-antigen of a quite variable length, due to which the molecular mass of endotoxin ranges from 10 to 1,000 kDa. Because of the wide range of molecular size it is not possible to say beforehand how effective the convective removal of endotoxin may be with plasmapheresis or hemofiltration. The number of bacterial bodies in the intestine is an order of magnitude greater than the number of cells in the human body. It justifies the reputation of this digestive organ as an «undrained abscess» and a source of multi-organ failure [11]. Violation of the barrier-mechanical function of the mucous membrane results in the translocation of endogenous microflora and endotoxin, which can trigger a septic process even when the elements of the cell wall of an unviable microflora enter the bloodstream. Functional properties of the peritoneal cover as a component of hemato-peritoneal transport are determined by the properties of various branches of the microcirculatory bed. The criterion for the permeability of histohematological barriers is the ratio of the concentration of the substance in the tissue to its concentration in the blood serum. In the dissertation thesis study by E. V. Grigoriev, (employed by the Regional Campus of the V. A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology), the results of treatment of 146 patients with abdominal sepsis were analyzed. The study was focused on hemato-peritoneal transport (the content of acute inflammatory phase proteins (lactoferrin, albumin, α -2-macroglobulin, plasminogen/plasmin)). The «serum-peritoneal exudate» permeability coefficients were calculated, as well as the AMM in serum, erythrocytes, urine and peritoneal exudate [20]. First the author established that the damage to the hemato-peritoneal transport of proteins in the acute phase of inflammation is one of the key factors in the development of abdominal sepsis. Local application of Perforane (the emulsion with gas transmission properties) proved effective in patients with advanced purulent peritonitis in the stage of multiple

ноз ОПН ставился на основании олигурии и роста азотистых шлаков, а диализное лечение начинали по традиционным показаниям. У 75 больных II группы проводили нефропротективную терапию, целью которой явилось восстановление клубочковой фильтрации и устранение гипоксии канальцевого эпителия. Органную перфузию потенцировали осмотически активными веществами (маннитол, 20%-й раствор глюкозы, гипертонический раствор NaCl). У больных III группы, куда вошли 55 человек, проводили раннюю диагностику ОПН по натрийурезу и экскретируемым фракциям натрия, мочевины и креатинина. У них была установлена сильная положительная корреляционная связь между скоростью клубочковой фильтрации и концентрацией натрия мочи ($k=0,79$ при $p<0,05$), поэтому заместительную почечную терапию начинали при неэффективности медикаментозного лечения в течение 24 часов, что преследовало две взаимодополняющие цели — замещение (протезирование) утраченной функции почек и, одновременно, моделирование выделительной функции почек с целью сохранения функционального резерва. Последнее можно расценивать как средство профилактики острого почечного повреждения: частота анурической формы ОПН у больных III группы была достоверно ниже и составила 20,1%. У больных с неолитической формой ОПН летальный исход наблюдался в 38,9% случаев, а при развитии анурической ОПН — 59,9% случаев ($p<0,05$). Общая летальность при раннем начале заместительной почечной терапии составила 41,8%, что в 1,8 раза ниже показателя в I группе ($p<0,05$).

Детоксикация при абдоминальном (грамотрицательном) сепсисе. Основным индуктором системного воспалительного ответа при граммотрицательном сепсисе является эндотоксин — липополисахарид наружной стенки грамотрицательных бактерий, который выделяется при разрушении бактериальной клетки. В его состав входит облигатная часть — липид А, центральный олигосахарид (кор) и факультативный гидрофильный О-антиген весьма вариабельной длины, за счет чего молекулярная масса эндотоксина колеблется от 10 до 1000 кДа. Широкий диапазон размера молекул не позволяет сказать заранее, насколько эффективно будет конвекционное удаление эндотоксина при плазмаферезе или гемофильтрации. Количество бактериальных тел в кишечнике на порядок превышает число клеток человеческого организма и оправдывает репутацию этого органа пищеварения как «недренированного абсцесса» и источника полиорганной недостаточности [11]. Нарушение барьерно-механической функции слизистой оболочки приводит к транслокации эндогенной микрофлоры и эндотоксина, что может запустить септический процесс даже при попадании в кровоток элементов клеточной стенки не-

organ failure. As an addition to enteric detoxification (with intestinal decompression, enteral lavage and enterosorption), intraperitoneal perfusion of Perftorane increases the sanitizing effect of surgery and reduces the need for repeated sanitization of the abdominal cavity by 44.4%. Localization of the primary focus of bacterial infection in the urinary tract contributes to an early involvement of the kidneys in the pathological process, due to which the development of multi-organ failure in urosepsis is characterized by a colossal mortality (up to 80–90%). The study [21] was focused on the treatment of patients with purulent-inflammatory urological diseases. The early use of HDF before the development of anuric stage in the ARF prevented the development of irreversible polyorganic lesions in 87.0% patients with severe urosepsis, reduced the number of hemodialysis per patient to 1–2 sessions (in the control group 5–12 sessions), reduced the mortality rate in comparison with of the control group by 25.8% ($P<0.05$). With the early dialysis /HDF (when signs of acute renal failure have not yet developed), «extrarenal indications» for detoxification are implied. This concept is not quite accurate but it may found in many Russian and foreign sources of recent years. Indeed, a preemptive removal of mediators of a systemic inflammatory response can prevent or inhibit the development of multiple organ failure, which is in good agreement with the «cytokine» theory of sepsis. In recent years, Russian resuscitators have been capable to selectively bind endotoxin circulating in the bloodstream. Most positive result was achieved when the cascade of mediator reactions was terminated early — at the stage of endotoxemia, when the process had not yet gone out of control. Our own studies revealed clinical benefits from the early use of selective lipopolysaccharide sorbents in patients with endotoxemia and septic shock [22]. Early diagnosis of sepsis included the mandatory determination of procalcitonin in all patients, which made it possible to clarify the bacterial origin of the systemic inflammatory response. LAL test is commonly performed to identify endotoxemia. The level of endotoxemia above 2.0 EU/ml with a clinical picture of a systemic inflammatory response in the absence of unsanitary foci of infection is considered as a recommendation for a hemosorption. In patients without a detailed picture of the multiple organ failure (MOF), lipopolysaccharide sorption results in immediate clinical and laboratory effects (the improvement of central (based on the data of transpulmonary thermodilution) and peripheral hemodynamics, reduction of endotoxin load, reduction of the LII and fever). The dose of cardiotoxic support is significantly reduced, in some cases the content of extravascular water in the lungs decreases, which improves arterial oxygenation [23]. The data obtained by monitoring the vollemic status by the thermodilution method correlates with the re-

жизнеспособной микрофлоры. Функциональные свойства брюшинного покрова как компонента гематоперитонеального транспорта определяются свойствами различных отделов микроциркуляторного русла. Критерием проницаемости гистогематических барьеров служат соотношения концентрации данного вещества в ткани и его концентрации в сыворотке крови. В диссертационном исследовании сотрудника филиала НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского Григорьева Е. В. проанализированы результаты лечения 146 больных абдоминальным сепсисом, у которых изучалось состояние гематоперитонеального транспорта по содержанию белков острой фазы воспаления (лактоферрин, альбумин, α -2-макроглобулин, плазминоген/плазмин) с расчетом коэффициентов проницаемости «сыворотка крови — перитонеальный экссудат», а также по МСМ в сыворотке крови, эритроцитах, моче и перитонеальном экссудате [20]. Автором впервые установлено, что повреждение гематоперитонеального транспорта белков острой фазы воспаления является одним из ведущих факторов в развитии абдоминального сепсиса. Местное применение перфторана — эмульсии с газотранспортными свойствами — оказалось эффективным у больных с распространенным гнойным перитонитом в стадии полиорганной недостаточности. Как дополнение к энтеральной детоксикации, включающей декомпрессию кишечника, энтеральный лаваж и энтеросорбцию, внутрибрюшинная перфузия перфторана повышает санирующий эффект оперативного вмешательства и позволяет снизить необходимость в повторных санациях брюшной полости на 44,4%. Локализация первичного очага бактериальной инфекции в мочевыводящих путях способствует раннему вовлечению в патологический процесс почек, за счет чего развитие полиорганной недостаточности при уросепсисе характеризуется колоссальной летальностью — до 80-90%. Исследование [21] посвящено лечению больных гнойно-воспалительными урологическими заболеваниями. Раннее применение ГДФ до развития анурической стадии ОПН позволило предупредить развитие необратимых полиорганных поражений у 87,0% больных тяжелым уросепсисом, уменьшить количество гемодиализов на одного больного до 1–2 сеансов (в контрольной группе — 5–12 сеансов), снизить летальность по сравнению с контрольной группой на 25,8% ($p < 0,05$). При раннем выполнении диализа/ГДФ, когда еще не развились признаки ОПН, говорят о «внепочечных показаниях» к детоксикации, это не совсем точное понятие широко встречается в отечественных и зарубежных источниках последних лет. Действительно, упреждающее удаление медиаторов системного воспалительного ответа может предотвратить или сдержать развитие полиорганной

sults of non-invasive measurements of water sectors in our early studies. A number of patients failed to achieve a clinically significant effect due to the late sorption, when endotoxemia goes to the background, while the triggered mediator cascade becomes most important. The increasing intoxication and the progression of MOF in these patients served as an indication for HVHF. Unfortunately, the high cost of lipopolysaccharide sorbents and the lack of the possibility for objective laboratory control of endotoxemia still make selective hemosorption a very complicated task for the vast majority of Russian health facilities. Activation of the mediator cascade during sepsis damages the endothelium and causes significant microcirculatory disorders that precede hemodynamic disorders: an increase and then a decrease in cardiac output, a decrease in peripheral vascular resistance, an increase in endothelial permeability, pulmonary hypertension, redistribution of organ blood flow, and a decrease in myocardial contractility. The result of pathophysiological effects realized at the microcirculatory level is that in a significant cohort of patients the infection is complicated by the development of sepsis (accompanied by MOF according to SEPSIS-3 classification) and septic shock, which both are considered as the main causes of death in Intensive Care Units (ICU). Treatment of abdominal sepsis involves surgical sanitation of the infectious focus and antimicrobial therapy, but intensive treatment should be supplemented with extracorporeal detoxification methods to restore tissue perfusion. The study of microcirculation in critically ill patients has long been of interest to researchers. A method for video microscopy of sublingual microvessels has been developed, which enables tracking the dynamics of microcirculatory disorders near the patient's bed, including in response to the therapeutic effect. The connection of revealed circulatory disturbances in sublingual microvessels with blood flow through the mesenteric vessels was proved, and these disorders correlate with the severity of the state of patients with sepsis. Even more accurate information is provided by the method of spectral-polarization analysis of images, which allows visualization of capillary perfusion. A number of studies confirm the possibility of evaluating the organ blood flow based on data obtained by studying the microcirculation of peripheral tissues using laser Doppler flowmetry. For example, A. A. Kosovskikh and Yu. A. Churlyayev (the Regional Campus of the V. A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology) analyzed changes in the functional state of the capillary bed of the skin with diffuse purulent peritonitis complicated by abdominal sepsis, with a quantitative assessment of the level of perfusion [24]. The authors showed that disorders of the microcirculation of the skin correlate with changes in the mean value of the microcirculation parameter of the small intestine wall. The thesis

недостаточности, что удачно согласуется с «цитокиновой» теорией сепсиса. В последние годы у российских реаниматологов появилась возможность избирательно связывать эндотоксин, циркулирующий в кровеносном русле. Положительного результата можно добиться, если оборвать каскад медиаторных реакций в самом начале, на этапе эндотоксинемии, когда процесс еще не принял неуправляемый характер. В научно-исследовательской работе Хорошилова С. Е. и Никулина А. В. обобщен собственный опыт применения селективных сорбентов липополисахарида у больных с эндотоксинемией и септическим шоком [22]. Ранняя диагностика сепсиса предусматривала обязательное определение прокальцитонина у всех больных, что позволяло уточнить бактериальное происхождение системного воспалительного ответа. Для выявления эндотоксинемии проводился LAL-тест. Показанием для проведения гемосорбции мы считаем уровень эндотоксинемии выше 2,0 EU/ml с клинической картиной системного воспалительного ответа при отсутствии несанированных очагов инфекции. У больных без развернутой картины ПОН сорбция липополисахарида приводит к непосредственным клиническим и лабораторным эффектам — улучшению центральной (данные транспульмональной термодилуции) и периферической гемодинамики, уменьшению эндотоксиновой нагрузки, снижению ЛИИ и лихорадки. Значимо сокращается доза кардиотонической поддержки, в ряде случаев снижается содержание внесосудистой воды в легких, за счет чего улучшается артериальная оксигенация [23]. Данные, полученные при мониторингировании волемического статуса термодилуционным методом, соотносятся с результатами неинвазивного измерения водных секторов в наших ранних исследованиях. У ряда больных не удалось достичь клинически значимого эффекта ввиду позднего выполнения сорбции, когда эндотоксинемия уходит на второй план, а ведущее значение приобретает запущенный медиаторный каскад. Рост интоксикации и прогрессирование ПОН у этих больных служили показанием для ВОГФ. К сожалению, высокая стоимость сорбентов липополисахарида и отсутствие возможности объективного лабораторного контроля эндотоксинемии пока делают очень сложной селективную гемосорбцию для подавляющего большинства отечественных ЛПУ.

Активация медиаторного каскада при сепсисе приводит к повреждению эндотелия и значимым нарушениям микроциркуляции, которые предшествуют гемодинамическим расстройствам: увеличению, а затем и снижению сердечного выброса, снижению периферического сосудистого сопротивления, повышению проницаемости эндотелия, легочной гипертензии, перераспреде-

by D. L. Shukevich on «Extended replacement renal therapy for abdominal sepsis» was based on the analysis of the dynamics of endogenous intoxication, hypoxia and multiple organ failure (both with the generally accepted intensive treatment and with its complementation by hemofiltration). Objective criteria for the early initiation of prolonged renal replacement therapy with abdominal sepsis were for the first time substantiated, developed and implemented in practice to fulfil at the maximum level the organoprotective effect of the therapy: the prevention of the development and progression of multiple organ failure [6].

The data obtained in the thesis by E. S. Bazhina, an employee of the V. A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology, confirmed the pronounced disorders of tissue perfusion with abdominal sepsis [25]. They are characterized by a decrease in the linear and volume velocities of the blood flow dependent on the severity of patients. This, together with the analysis of the spectral characteristics of the Doppler, confirms the development of arteriolo-venular shunting in septic shock. It was shown that one of the mechanisms of the positive effect of efferent treatment is the improvement of tissue perfusion, which can be used both as a target of therapeutic effect, and as a control of the treatment efficacy. In order to control the effectiveness of treatment, it was suggested to evaluate tissue perfusion by ultrasound dopplerography. It is an easy method to use at the patient's bed, with quick results that do not require expensive consumables. The degree of separation between macro- and microcirculation determines the possibility of tissue perfusion restoration using efferent treatment methods, such as selective hemosorption of endotoxin or «non-selective» hemodiafiltration.

Renal replacement therapy in patients with cardiovascular diseases. In addition to injury and infection, SIR can be induced by artificial circulation (IC): the contact elements, the coagulating blood system and the complement contact the surface of foreign materials and oxygen in the oxygenator. The postoperative MOF remains the most common cause of patients dying after surgical interventions, which prompted G. P. Plotnikov to study this problem in detail [26]. The analysis of extensive clinical material (1.129 case histories) was performed retrospectively. The prospective study involved 220 patients operated under IC conditions for coronary artery disease and acquired heart defects. The author established non-laboratory events and factors with a high prognostic significance (52–71%) leading to the development of MOF in the postoperative period, namely: multifocal vascular lesion, the IC duration > 150 min, the operation duration > 300 min, the severity of condition upon admission to resuscitation on the APACHE II scale > 18 points; blood loss > 10 ml/kg

нию органного кровотока и снижению сократительной способности миокарда. Патофизиологические эффекты, реализуемые на микроциркуляторном уровне, ведут к тому, что у значительной части больных сепсис осложняется развитием септического шока и полиорганной недостаточности, которая является основной причиной гибели этих больных. Лечение абдоминального сепсиса предусматривает хирургическую санацию инфекционного очага и антимикробную терапию, однако интенсивное лечение должно дополняться методами экстракорпоральной детоксикации с целью восстановления тканевой перфузии. Изучение микроциркуляции у критически тяжелых больных давно привлекает внимание исследователей. Разработан метод видеомикроскопии подъязычных микрососудов, позволяющий у постели больного отслеживать динамику микроциркуляторных нарушений, в том числе в ответ на лечебное воздействие. Доказана связь выявляемых нарушений кровообращения в сублингвальных микрососудах с кровотоком по брыжеечным сосудам, причем эти нарушения коррелируют с тяжестью состояния больных с сепсисом. Еще более точную информацию предоставляет метод спектрально-поляризационного анализа изображений, позволяющий визуализировать капиллярную перфузию. Ряд исследований подтверждают возможность оценки органного кровотока на основе данных, полученных при изучении микроциркуляции периферических тканей методом лазерной доплеровской флоуметрии. Так, в работе сотрудников филиала НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского А. А. Косовских и Ю. А. Чурляева проведен анализ изменений функционального состояния капиллярного русла кожи при разлитом гнойном перитоните, осложненным абдоминальным сепсисом, с количественной оценкой уровня перфузии [24]. Авторами было показано, что нарушения микроциркуляции кожи коррелируют с изменениями среднего значения параметра микроциркуляции стенки тонкой кишки. В диссертации Шукевича Д. Л. «Продленная заместительная почечная терапия при абдоминальном сепсисе» на основании анализа динамики эндогенной интоксикации, гипоксии и полиорганной недостаточности как на фоне общепринятого интенсивного лечения, так и с его дополнением гемофильтрацией, впервые теоретически обоснованы, разработаны и практически реализованы объективные критерии раннего начала продленной заместительной почечной терапии при абдоминальном сепсисе, применение которых позволяет максимально реализовать ее органопротективный эффект — предупреждение развития и прогрессирования полиорганной недостаточности [6].

Данные, полученные в диссертационном исследовании сотрудника НИИ общей реаниматологии

and hemotransfusion >2 doses of donor erythrocyte mass and plasma. These events and factors registered enable the start of preventive organ replacement therapy without waiting for laboratory markers of dysfunction in organs and systems to manifest. The hydrodynamic status determined by the method of transpulmonary thermodilution (an increase in EVLWI>8.0, PVPI>3.5 with GEDVI<700 ml/m²) is a pathogenetic justification for the early onset of permanent venous-venous hemofiltration, which makes it possible to level out the manifestations of acute lung damage, renal failure, metabolic disorders and prevent the transformation of organ dysfunction into the failure in more than 70% of cases. Incidentally, substitutive renal therapy can be performed directly during the IC, which in a number of cases can prevent the development of postoperative ARF or the progression of CKD in patients with pre-existing chronic kidney disease [27].

High mortality in patients with myocardial infarction is associated with the development of cardiogenic shock. The prolonged and significant hypoperfusion with cardiogenic shock followed by the restored peripheral circulation causes the release of inflammatory mediators into the systemic circulation and the development of MOF. In patients with cardiogenic shock emergency angioplasty is a life-saving operation. To prevent MOF an early (within 12 hours after revascularization) use of extended hemofiltration is an option; it may significantly reduce the dose of cardiotoxic support, reduce the manifestations of acute lung damage and the clinical manifestations of a systemic inflammatory response [28]. This is a promising field of using extracorporeal detoxification, which requires further study.

Replacement treatment of acute liver failure.

The high prevalence of viral hepatitis, the hepatotoxic effect of many medications and the extensive surgical interventions on the liver are the main factors in the development of acute hepatic failure (AHF). The problem of treating a fulminant course is particularly urgent as the life of patients is limited to a few days. As a rule, AHF is not a monoorganic disease. It joins in as a component of multiple organ failure and significantly worsens the prognosis. Being the main «metabolic reactor» of the body, the liver has not only a large functional reserve, but also good regenerative capabilities. However, the liver regeneration through hypertrophy and hyperplasia of hepatocytes is relatively slow. Lethal outcomes may be prevented by temporary prosthetics of the liver detoxification function in the duration while its function is being restored. The detoxification methods described above prove to be ineffective due to the fact that in AHF both hydrophilic and hydrophobic ETSs accumulate in the course of the treatment. The latter are connected with plasma proteins and cause the depletion of the binding capacity of albumin. Increasing encephalopathy

логии им. В. А. Неговского Е. С. Бажиной, подтверждают наличие выраженных расстройств тканевой перфузии при абдоминальном сепсисе [25]. Они характеризуются снижением показателей линейной и объемной скоростей кровотока соответственно тяжести состояния больных, что в совокупности с анализом спектральных характеристик доплерограмм подтверждает положение о развитии артериоло-венулярного шунтирования при септическом шоке. Показано, что одним из механизмов положительного воздействия эфферентного лечения является улучшение тканевой перфузии, которую можно использовать как в качестве мишени лечебного воздействия, так и в качестве контроля эффективности лечения. С целью контроля эффективности лечения предложена оценка тканевой перфузии путем ультразвуковой доплерографии — простой в применении, проводимый у постели больного метод с быстрым получением результатов, не требующий дорогостоящих расходных материалов. Степень разобщения между макро- и микроциркуляцией определяет возможность восстановления тканевой перфузии при использовании эфферентных методов лечения, таких как селективная гемосорбция эндотоксина или «неселективная» гемодиализация.

Заместительная почечная терапия у больных с сердечно-сосудистыми заболеваниями. Помимо травмы и инфекции, провоцировать СВО может искусственное кровообращение (ИК), при котором происходит контакт форменных элементов, свертывающей системы крови и комплемента с поверхностью чужеродных материалов и кислородом в оксигенаторе. Послеоперационная ПОН остается наиболее частой причиной смерти больных после хирургических вмешательств, что побудило Г. П. Плотникова детально изучить эту проблему [26]. Ретроспективно проведен анализ обширного клинического материала (1129 историй болезни). В проспективное исследование вошло 220 больных, оперированных в условиях ИК по поводу ИБС и приобретенных пороков сердца. Автором установлены внелабораторные события и факторы, с высокой прогностической значимостью (52–71%) приводящие к развитию ПОН в послеоперационном периоде, а именно: мультифокальное сосудистое поражение, длительность ИК >150 мин, продолжительность операции >300 мин, тяжесть состояния при поступлении в реанимацию по шкале APACHE II >18 баллов; кровопотеря >10 мл/кг и гемотрансфузия >2 доз донорской эритроцитарной массы и плазмы. Регистрация этих событий и факторов позволяет начинать превентивную органозаместительную терапию, не ожидая появления лабораторных маркеров дисфункций по органам и системам. Гидродинамический статус, определяемый методом транспульмональной термодилуции (повышение EVLWI >8,0,

is determined by the accumulation of neurotoxins (ammonia, methyl mercaptans), the synthesis of false neurotransmitters from aromatic amino acids and enhanced GABAergic transmission of nerve impulses in the brain; the disrupted liver metabolism of nitric oxide results in vasodilation and slowing down of the glomerular filtration rate, which together determines a clinical picture. Albumin dialysis developed and implemented in clinical practice in the 1990s of the last century, gives a solution to the problem of removing both hydrophilic and hydrophobic toxins due to a combination of sorption removal of toxins and diffusion mass transfer.

In the thesis by A.V. Nikulin the results of the treatment of 52 patients and those affected with AHF were analyzed [29]. The concentrations of bilirubin and creatinine in the blood plasma of patients and in the solution of donor albumin were studied. The transport ability of albumin was also calculated. When calculating the kinetic model of albumin dialysis, the maximum clearance for unconjugated bilirubin at low blood flow rates and albumin flow was revealed. With a significant predominance of the conjugated fraction of bilirubin, the maximum removal of ETSs is mediated by high flows of blood, albumin and dialysis solution. During albumin dialysis an increase in the binding reserve and effective concentration of serum albumin was observed on average by 27%, which indicates an improvement in its transport properties. Direct clinical effects of detoxification were shown as follows: a decrease in encephalopathy, stabilization of hemodynamics, an increase in diuresis. The best results were found in patients with a slow increase in the postdialysis level of bilirubin. At the same time the loss of the detoxification capacity of the liver was prevalent, while the protein-synthetic and disintoxication functions were relatively preserved. Mortality in these patients was 41%, which was significantly higher compared to the comparison group where there was no extracorporeal treatment. Temporary elimination of intoxication as a result of albumin dialysis stabilizes the function of the remaining hepatic tissue (a «bridge» to regeneration or transplantation). The persistence of the treatment results depends on the possibility of restoring the liver function, as well as the safety of functions of other organs and systems. The persistence of the laboratory effect of DT (a slow rate of recovery of the pre-dialysis level of bilirubin) may indicate a more favourable outcome of the disease. Rapid recovery of the initial level of hyperbilirubinemia was observed in the case of hepatodepression (the loss of all liver functions in MOF). In these cases, the effect of albumin dialysis was insufficient and unstable, while the 28-day mortality was 80%.

Detoxification in pancreatic necrosis. Endogenous intoxication is the main cause of death in pancreatic necrosis (a severe disease that continues

PVPI>3,5 при GEDVI≤700 мл/м²), является патогенетическим обоснованием раннего начала постоянной вено-венозной гемофильтрации, что позволяет нивелировать проявления острого повреждения легких, почечной недостаточности, метаболические расстройства и предотвратить трансформацию органных дисфункций в недостаточность более чем в 70% случаев. Кстати, заместительная почечная терапия может выполняться непосредственно во время ИК, что в ряде случаев позволяет предотвратить развитие послеоперационной ОПН или прогрессирование ХПН у больных с предсуществующей хронической болезнью почек [27].

Высокая летальность у больных инфарктом миокарда связана с развитием кардиогенного шока. Длительная и значимая гипоперфузия при кардиогенном шоке с последующим восстановлением периферического кровообращения приводит к выбросу в системный кровоток медиаторов воспаления и развитию ПОН. При кардиогенном шоке выполнение экстренной ангиопластики является жизнепасающей операцией. Для предотвращения ПОН возможно раннее (в течение 12 ч после реваскуляризации) применение продленной гемофильтрации, которая позволяет значимо снизить дозу кардиотонической поддержки, уменьшить проявления острого повреждения легких и клинические проявления системного воспалительного ответа [28]. Это перспективная область применения экстракорпоральной детоксикации, требующая дальнейшего изучения.

Заместительное лечение острой печеночной недостаточности. Высокая распространенность вирусных гепатитов, гепатотоксическое действие многих лекарственных средств, выполнение расширенных оперативных вмешательств на печени определяют являются основными факторами развития острой печеночной недостаточности (ОПечН). Проблема лечения ОПечН молниеносного течения особенно актуальна, так как жизнь пациентов ограничена несколькими днями. Как правило, ОПечН не является моноорганным заболеванием, ее присоединение как компонента полиорганной недостаточности значительно ухудшает прогноз. Как основной «метаболический реактор» организма, печень обладает не только большим функциональным резервом, но и хорошими регенераторными возможностями, однако регенерация печени за счет гипертрофии и гиперплазии гепатоцитов происходит относительно медленно. Предотвратить летальный исход позволяет временное протезирование детоксикационной функции печени на тот период, пока не восстановятся ее функциональные возможности. Описанные выше методы детоксикации оказываются малоэффективными в связи с тем, что при ОПечН накапливаются не

to take the lives of the population), despite the improvements in surgical techniques and modern approaches to intensive care.

Enzyme toxemia (specific for pancreatic necrosis) is one of the major aspects of endogenous intoxication. It causes the development of severe organ damage and disruption of vital functions of the body in the first week from a clinical manifestation. The failure of biological barriers at an early stage of the disease development results in activated pancreatic enzymes entering the systemic circulation. Lungs are the first target organ for the factors of pancreatic aggression. Enzymes of the pancreas that enter the bloodstream through the chest lymphatic duct primarily damage the pulmonary microcirculation system, therefore acute respiratory distress syndrome (ARDS) complicates the course of pancreonecrosis in 30–35% of cases and significantly aggravates the course of the disease. The damaging potential of enzyme toxemia may be reduced by the method of plasmapheresis. In the work [30] it was shown that plasmapheresis is an effective method of eliminating pancreatic enzymes from systemic blood flow in the enzymatic phase of pancreatonecrosis. The method applied with an average volume of plasma substitution of 47.5% allows the reduction of the level of pancreatic α -amylase by 38.2%, the level of lipase by 36.4%. The frequency of development and the severity of ARDS grow with the increase in the period from the onset of the disease to plasmapheresis. Plasmapheresis in the enzymatic phase of the disease started within 48 hours from the onset of pancreatic necrosis, can prevent clinically significant damage to lungs. The use of plasmapheresis in intensive therapy started from Day 3 after the manifestation of the disease, enables the reduction of the frequency of ARDS by 23.5%. In general, the reduction of enzyme toxemia reduces a 14-day mortality by 11.7% and the duration of patients' stay in the department of resuscitation by 2 days.

Conclusion

When writing this review we aimed to demonstrate the scientific developments of the V. A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology in solving the problem of endogenous intoxication. In our opinion, there are no ineffective methods of treatment. There will be far fewer clinical failures if the therapeutic efforts in ICU are employed «in a right time», technologically correct manner strictly tied to medical indications. We are constantly aware of new pathophysiological mechanisms of endogenous intoxication. Based on the acquired knowledge and modern medical technology, we are revising traditional approaches to detoxification and are developing new areas of research. All above certainly warrants the continuation of a scientific searching.

только гидрофильные, но и гидрофобные ЭТС. Последние находятся в связи с белками плазмы и приводят к истощению резерва связывающей способности альбумина. Накопление нейротоксинов — аммиака, метил-меркаптанов, синтез ложных нейротрансмиттеров из ароматических аминокислот и усиленная ГАМК-ергическая передача нервных импульсов в головном мозге определяют нарастающую энцефалопатию, а нарушение печеночного метаболизма оксида азота приводит к вазодилатации и замедлению скорости клубочковой фильтрации, что в совокупности и определяет клиническую картину ОПечН. Альбуминовый диализ, разработанный и внедренный в клиническую практику в 90-х годах прошлого столетия, позволяет решить проблему удаления как гидрофильных, так и гидрофобных токсинов благодаря сочетанию сорбционного удаления токсинов и диффузионного массопереноса. В диссертационной работе А. В. Никулина проанализированы результаты лечения 52 больных и пострадавших с ОПечН [29]. Изучалась концентрация билирубина, креатинина в плазме крови больных и растворе донорского альбумина, также рассчитывали показатели транспортной способности альбумина. При расчете кинетической модели альбуминового диализа выявлен максимальный клиренс по неконъюгированному билирубину при малых скоростях крови и потока альбумина. При значительном преобладании конъюгированной фракции билирубина альбуминовый диализ максимальное удаление ЭТС идет с высокими потоками крови, альбумина и диализирующего раствора. Во время альбуминового диализа отмечен рост резерва связывания и эффективной концентрации сывороточного альбумина в среднем на 27%, что говорит об улучшении его транспортных свойств. Показаны непосредственные клинические эффекты детоксикации — уменьшение энцефалопатии, стабилизация гемодинамики, рост диуреза. Наилучшие результаты лечения оказались у больных с медленным ростом постдиализного уровня билирубина. При этом ведущий характер имело выпадение детоксикационной способности печени, а белковосинтетическая и дезинтоксикационная функции оказались относительно сохраненными. Летальность у этих больных составила 41%, что достоверно ниже по сравнению с группой, в которой экстракорпоральное лечение не проводилось. Временное устранение интоксикации в результате проведения альбуминового диализа приводит к стабилизации функции оставшейся печеночной ткани («мост» к регенерации или трансплантации). Стойкость результатов лечения зависит от возможности восстановления функции печени, а также сохранности функций других органов и систем. Стойкость лаборатор-

ного эффекта АлД — медленный темп восстановления преддиализного уровня билирубина — позволяет судить о более благоприятном исходе заболевания. Быстрое восстановление исходного уровня гипербилирубинемии наблюдалось в случае гепатодепрессии — выпадения всех функций печени в составе полиорганной недостаточности. В том случае эффект альбуминового диализа оказывался недостаточным и нестойким, а 28-дневная летальность составила 80%.

Детоксикация при панкреонекрозе. Эндогенная интоксикация является основной причиной летальности при панкреонекрозе — тяжелейшем заболевании, продолжающем уносить жизнь трудоспособного населения, несмотря на совершенствование хирургической техники и современные подходы интенсивного лечения.

Одним из ведущих компонентов эндогенной интоксикации является специфичная для панкреонекроза ферментная токсемия, обуславливающая развитие тяжелого органного повреждения и нарушение витальных функций организма в первую неделю от клинической манифестации. Результатом несостоятельности биологических барьеров на ранней стадии развития заболевания является попадание в системный кровоток активированных панкреатических энзимов. Первым органом-мишенью для факторов панкреатической агрессии становятся легкие. Ферменты поджелудочной железы, поступающие в кровь через грудной лимфатический проток, повреждают прежде всего систему легочной микроциркуляции, поэтому острый респираторный дистресс-синдром (ОРДС) осложняет течение панкреонекроза в 30–35% случаев и существенно отягощает течение заболевания. Снижение повреждающего потенциала ферментной токсемии достижимо методом плазмафереза. В работе [30] показано, что плазмаферез является эффективным методом элиминации ферментов поджелудочной железы из системного кровотока в ферментативной фазе панкреонекроза. Его применение с средним объемом плазмозамещения 47,5% позволяет снизить уровень панкреатической α -амилазы на 38,2%, липазы — на 36,4%. При этом частота развития и тяжесть ОРДС возрастает по мере увеличения срока от начала заболевания до проведения плазмафереза. Плазмаферез в ферментативной фазе заболевания, начатый в срок 48 ч от начала панкреонекроза, позволяет предотвратить клинически значимое повреждение легких. Применение плазмафереза в составе интенсивной терапии, начатой с третьих суток от манифестации заболевания, позволяет снизить частоту ОРДС на 23,5%. В целом, купирование ферментной токсемии приводит к снижению 14-ти дневной летальности на 11,7%, сроков пребывания больных в отделении реаниматологии — на 2 суток.

Заключение

При написании данного обзора мы стремились к обобщенному описанию научных разработок НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского в направлении решения проблемы эндогенной интоксикации. По нашему убеждению, неэффективных методов лечения не бывает. Клинических неудач станет значительно меньше, если ле-

чебное воздействие будет применять своевременно, методически правильно и строго по показаниям. Постоянно осознаются новые патофизиологические механизмы эндогенной интоксикации. На основе полученных знаний и современных медицинских технологий идет пересмотр традиционных подходов к детоксикации и разработка новых направлений нашей деятельности. Научный поиск безусловно будет продолжен и дальше.

Литература

1. Мороз В.В. Реаниматология – новый этап в медицине. *Вестник РАМН*. 1997; 10: 6-10.
2. Карандин В.И., Рожков А.Г., Царев М.И., Нагаев Р.М., Тихонов П.А. Оценка тяжести хирургического эндотоксикоза. *Общая реаниматология*. 2009; 5 (5): 49-53. DOI: 10.15360/1813-9779-2009-5-49
3. Головецкий И.Я., Мороз В.В., Бирюкова Л.С., Козинец Г.И., Попова О.В. Электрофоретическая подвижность эритроцитов у больных с тяжелыми формами интоксикации. *Общая реаниматология*. 2007; 3 (5-6): 75-79. DOI: 10.15360/1813-9779-2007-6-75-79
4. Шукевич Д.Л., Переделкин Д.К., Григорьев Е.В., Разумов А.С., Чурляев Ю.А., Шукевич Л.Е. Продолжительная заместительная почечная терапия при тяжелом акушерском сепсисе. *Общая реаниматология*. 2010; 6 (2): 21-24. DOI: 10.15360/1813-9779-2010-2-21
5. Лянгузов А.В., Колотило Л.В., Загоскина Т.П. Рабдомиолиз у больных гемобластозами в процессе интенсивной химиотерапии. *Общая реаниматология*. 2009; 5 (4): 60-65. DOI: 10.15360/1813-9779-2009-4-60
6. Божьев А.А., Постников А.А., Теребов С.Д., Хорошилов С.Е. Трансфузионная помощь на догоспитальном этапе и при чрезвычайных ситуациях. М.: Московский государственный университет печати; 2008: 110.
7. Андриянова О.И., Манеров Ф.К., Чурляев Ю.А., Хамин И.Г. Причины и лечение острой почечной недостаточности у детей. *Общая реаниматология*. 2007; 3 (4): 70-75. DOI: 10.15360/1813-9779-2007-4-70-75
8. Marshall J.C., Christou N.V., Meakins J.L. The gastrointestinal tract. The «undrained abscess» of multiple organ failure. *Ann. Surg.* 1993; 218 (2): 111-119. DOI: 10.1097/0000658-199308000-00001. PMID: 8342990
9. Хорошилов С.Е., Карпун Н.А., Ильченко А.М., Никулин А.В., Смирнова С.Г., Павлов Р.Е., Колесник А.В. Высокообъемная гемодиализация у пострадавшей с массивным размождением мягких тканей при тяжелой сочетанной травме. *Рос. мед. журнал*. 2010; 6: 51-53.
10. Хорошилов С.Е., Карпун Н.А., Ильченко А.М., Никулин А.В., Смирнова С.Г., Павлов Р.Е. Экстракорпоральная детоксикация у пострадавших с тяжелой сочетанной травмой. *Общая реаниматология*. 2009; 5 (5): 16-19. DOI: 10.15360/1813-9779-2009-5-16
11. Шевцова О.М., Шаповалова Н.В., Свиридова Т.Н., Струк Ю.В. Активная детоксикация в лечении абдоминального сепсиса. *Общая реаниматология*. 2009; 5 (1): 37-42. DOI: 10.15360/1813-9779-2009-1-37
12. Векслер Н.Ю., Бояринов Г.А., Макаров Н.А., Частов В.П., Мухин А.С., Петрова Л.А., Герасимова Е.Б. Комплексная детоксикация у больных с гнойно-воспалительными заболеваниями органов брюшной полости. *Общая реаниматология*. 2006; 2 (4/1): 71-74.
13. Ronco C., Piccini P., Rosner M. (eds.). Endotoxemia and endotoxin shock: disease, diagnosis, and therapy. Basel: Karger Publishers; 2010; 129.
14. Золотокрылина Е.С., Мороз В.В., Гридчик И.Е., Хандажапов Э.Д. Динамика показателей гемокоагуляции и фибринолиза у больных с распространенным перитонитом. *Анестезиология и реаниматология*. 2001; 6: 34-39. PMID: 11855059
15. Рожков А.Г., Карандин В.И., Царев М.И., Нагаев Р.М., Махшанцев А.Ю. Депонирование жидкости и токсинов при тяжелых хирургических эндотоксикозах. *Общая реаниматология*. 2010; 6 (1): 33-38. DOI: 10.15360/1813-9779-2010-1-33
16. Устьянцева И.М., Хохлова О.И., Петухова О.В., Жевлакова Ю.А., Кравцова А.С., Агаджанян К.В. Некоторые аспекты формирования системного воспалительного ответа у больных в критическом состоянии. *Общая реаниматология*. 2010; 6 (1): 56-59. DOI: 10.15360/1813-9779-2010-1-56
17. Яковлева И.И., Тимохов В.С., Лялик Г.В., Пестряков Е.В., Мороз В.В., Муравьев О.Б., Сергеев А.Ю. Высокообъемная гемодиализация в лечении сепсиса и полиорганной недостаточности: два способа элиминации TNF- α . *Анестезиология и реаниматология*. 2001; 2: 46-48. PMID: 11494901
18. Павлов Р.Е., Хорошилов С.Е., Смирнова С.Г., Ильченко А.М., Жолинский А.В. Экстракорпоральная коррекция водно-секторальных нарушений при сепсисе, осложненном острой почечной недостаточностью. *Рос. мед.-биол. вестн. им. акад. И.П. Павлова*. 2007; 4: 7-12.

References

1. Moroz V.V. Reanimatology: a new stage in medicine. *Vestnik RAMN*. 1997; 10: 6-10. [In Russ.]
2. Karandin V.I., Rozhkov A.G., Tsarev M.I., Nagayev R.M., Tikhonov P.A. Evaluation of the severity of surgical endotoxemia. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2009; 5 (5): 49-53. DOI: 10.15360/1813-9779-2009-5-49. [In Russ., In Engl.]
3. Golovetsky I.Ya., Moroz V.V., Biryukova L.S., Kozinets G.I., Popova O.V. Electrophoretic mobility of red blood cells in patients with severe forms of intoxication. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2007; 3 (6): 75-79. DOI: 10.15360/1813-9779-2007-6-75-79. [In Russ., In Engl.]
4. Shukevich D.L., Peredelkin D.K., Grigoryev Y.V., Razumov A.S., Churlyayev Y.A., Shukevich L.E. Continuous renal replacement therapy for severe obstetric sepsis. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2010; 6 (2): 21-24. DOI: 10.15360/1813-9779-2010-2-21. [In Russ., In Engl.]
5. Lyanguzov A.V., Kolotilov L.V., Zagoskina T.P. Rhabdomyolysis in patients with hemoblastoses during intensive chemotherapy. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2009; 5 (4): 60-65. DOI: 10.15360/1813-9779-2009-4-60. [In Russ., In Engl.]
6. Bozhyev A.A., Postnikov A.A., Terebov S.D., Khoroshilov S.E. Transfusion care at prehospital and emergency situations. Moscow: Moskovsky Gosudarstvennyi Universitet Pechati; 2008: 110. [In Russ.]
7. Andriyanova O.I., Manerov F.K., Churlyayev Y.A., Khamin I.G. Causes and treatment of acute renal failure in children. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2007; 3 (4): 70-75. DOI: 10.15360/1813-9779-2007-4-70-75. [In Russ., In Engl.]
8. Marshall J.C., Christou N.V., Meakins J.L. The gastrointestinal tract. The «undrained abscess» of multiple organ failure. *Ann. Surg.* 1993; 218 (2): 111-119. DOI: 10.1097/0000658-199308000-00001. PMID: 8342990
9. Khoroshilov S.E., Karpun N.A., Ilchenko A.M., Nikulin A.V., Smirnova S.G., Pavlov R.E., Kolesnik A.V. High volume hemodiafiltration in a patient with massive crushing of soft tissues in severe combined trauma. *Rossiyskiy Meditsinskiy Zhurnal*. 2010; 6: 51-53. [In Russ.]
10. Khoroshilov S.Y., Karpun N.A., Ilchenko A.M., Nikulin A.V., Smirnova S.G., Pavlov R.Y. Extracorporeal detoxification in victims with severe concomitant injury. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2009; 5 (5): 16-19. DOI: 10.15360/1813-9779-2009-5-16. [In Russ., In Engl.]
11. Shevtsova O.M., Shapovalova N.V., Sviridova T.N., Struk Yu.V. Active detoxification in the treatment of abdominal sepsis. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2009; 5 (1): 37-42. DOI: 10.15360/1813-9779-2009-1-37. [In Russ., In Engl.]
12. Veksler N.Yu., Boyarinov G.A., Makarov N.A., Chastov V.P., Mukhin A.S., Petrova L.A., Gerasimova E.B. Comprehensive detoxification in patients with pyoinflammatory diseases of abdominal organs. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2006; 2 (4/1): 71-74. [In Russ., In Engl.]
13. Ronco C., Piccini P., Rosner M. (eds.). Endotoxemia and endotoxin shock: disease, diagnosis, and therapy. Basel: Karger Publishers; 2010; 129.
14. Zolotokrylina E.S., Moroz V.V., Gridchik I.E., Khandazhapov E.D. Dynamics of indicators of blood coagulation and fibrinolysis in patients with diffuse peritonitis. *Anesteziologiya i Reanimatologiya*. 2001; 6: 34-39. PMID: 11855059. [In Russ.]
15. Rozhkov A.G., Karandin V.I., Tsarev M.I., Nagayev R.M., Makhsantsev A.Y. Deposition of fluid and toxins in severe surgical endotoxemia. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2010; 6 (1): 33-38. DOI: 10.15360/1813-9779-2010-1-33. [In Russ., In Engl.]
16. Ustyantseva I.M., Khokhlova O.I., Petukhova O.V., Zhevlaikova Y.A., Kravtsova A.S., Agadzhanian K.V. Some aspects of formation of a systemic inflammatory response in critically ill patients. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2010; 6 (1): 56-59. DOI: 10.15360/1813-9779-2010-1-56. [In Russ., In Engl.]
17. Yakovleva I.I., Timokhov V.S., Lyalikova G.V., Pestryakov E.V., Moroz V.V., Muravyev O.B., Sergeyev A.Yu. High-volume hemodiafiltration in

Reviews

19. Павлов Р.Е., Яковлева И.И. Водно-секторальные нарушения: патогенез, диагностика, экстракорпоральная коррекция. *Анестезиология и реаниматология*. 2007; 4: 81-85. PMID: 17929496
20. Григорьев Е.В., Чурляев Ю.А. Дифференцированная интенсивная терапия распространенного перитонита и абдоминального сепсиса. *Общая реаниматология*. 2005; 1 (3): 36-40. DOI: 10.15360/1813-9779-2005-3-36-40
21. Коган М.И., Ушакова Н.Д. Принципы применения экстракорпоральных методов лечения у больных осложненными инфекциями верхних мочевыводящих путей. *Дальневосточный мед. журнал*. 2002; 2: 9-10.
22. Хорошилов С.Е., Никулин А.В. Сорбционная терапия септического шока. Отчет о НИР. М.: НИИОР РАМН; 2011: 17.
23. Хорошилов С.Е., Карпун Н.А., Половников С.Г., Никулин А.В., Кузовлев А.Н. Селективная гемосорбция эндотоксина в лечении абдоминального сепсиса. *Общая реаниматология*. 2009; 5 (6): 83-87. DOI: 10.15360/1813-9779-2009-6-83
24. Косовских А.А., Чурляев Ю.А., Кан С.Л., Лызлов А.Н., Кирсанов Т.В., Вартамян А.Р. Центральная гемодинамика и микроциркуляция при критических состояниях. *Общая реаниматология*. 2013; 9 (1): 18-22. DOI: 10.15360/1813-9779-2013-1-18
25. Бажина Е.С., Хорошилов С.Е., Никулин А.В. Влияние экстракорпоральной детоксикации на тканевую перфузию при септическом шоке. *Анестезиология и реаниматология*. 2015; 60 (5): 65-67. PMID: 26852583
26. Барбараш Л.С., Плотников Г.П., Шукевич Д.Л., Хаес Б.Л., Шукевич Л.Е., Чурляев Ю.А., Григорьев Е.В. Обоснование ранней заместительной почечной терапии при полиорганной недостаточности. *Общая реаниматология*. 2010; 6 (6): 29-33. DOI: 10.15360/1813-9779-2010-6-29
27. Табакьян Е.А., Партигулов С.А., Савушкина Т.Н., Лепилин М.Г., Акчурин Р.С. Гемофильтрация и гемодиализ в профилактике и лечении острой почечной недостаточности после операций на сердце с искусственным кровообращением. *Общая реаниматология*. 2012; 8 (1): 36-40. DOI: 10.15360/1813-9779-2012-1-36
28. Барбараш Л.С., Попков А.Н., Херасков В.Ю., Плотников Г.П., Шукевич Д.Л., Григорьев Е.В. Эффективность заместительной почечной терапии при кардиогенном шоке, осложненном полиорганной недостаточностью. *Общая реаниматология*. 2011; 7 (5): 32-35. DOI: 10.15360/1813-9779-2011-5-32
29. Никулин А.В., Хорошилов С.Е. Кинетическое моделирование альбуминового диализа при острой печеночной недостаточности. *Эфферентная терапия*. 2011; 17 (1): 9-13.
30. Хорошилов С.Е., Марухов А.В., Никулин А.В. Применение плазмафереза в ферментативной фазе тяжелого острого панкреатита: новый взгляд на испытанный метод. *Медицина (Алматы)*. 2017; 4 (178): 287-292.
- the treatment of sepsis and multiple organ failure: 2 methods of the elimination of TNF-alpha. *Anesteziologiya i Reanimatologiya*. 2001; 2: 46-48. PMID: 11494901. [In Russ.]
18. Pavlov R.E., Khoroshilov S.E., Smirnova S.G., Ilchenko A.M., Zholinsky A.V. Extracorporeal correction of aqueous-sectoral disorders in sepsis associated with renal insufficiency. *Rossiyskiy Mediko-Biologicheskyy Vestnik Imeni Akademika I.P.Pavlova*. 2007; 4: 7-12. [In Russ.]
19. Pavlov R.E., Yakovleva I.I. Pathogenesis, diagnosis, and extracorporeal correction of water-electrolytic imbalance in critically ill patients. *Anesteziologiya i Reanimatologiya*. 2007; 4: 81-85. PMID: 17929496. [In Russ.]
20. Grigoryev Y.V., Churlyayev Y.A. Differential intensive therapy for generalized peritonitis and abdominal sepsis. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2005; 1 (3): 36-40. DOI: 10.15360/1813-9779-2005-3-36-40. [In Russ., In Engl.]
21. Kogan M.I., Ushakova N.D. Principles of using extracorporeal methods of treatment in patients with complicated infections of the upper urinary tract. *Dalnevostochnyi Meditsinskiy Zhurnal*. 2002; 2: 9-10. [In Russ.]
22. Khoroshilov S.E., Nikulin A.V. Sorption therapy of septic shock. Report on research activity. Moscow: NIOR RAMN; 2011: 17. [In Russ.]
23. Khoroshilov S.Y., Karpun N.A., Polovnikov S.G., Nikulin A.V., Kuzovlev A.N. Selective hemosorption of endotoxin in the treatment of abdominal sepsis. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2009; 5 (6): 83-87. DOI: 10.15360/1813-9779-2009-6-83. [In Russ., In Engl.]
24. Kosovskikh A.A., Churlyayev Y.A., Kan S.L., Lyzlov A.N., Kirsanov T.V., Vartanyan A.R. Central hemodynamics and microcirculation in critical conditions. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2013; 9 (1): 18-22. DOI: 10.15360/1813-9779-2013-1-18. [In Russ., In Engl.]
25. Bazhina E.S., Khoroshilov S.E., Nikulin A.V. Influence of extracorporeal detoxification methods on tissue perfusion in septic shock. *Anesteziologiya i Reanimatologiya*. 2015; 60 (5): 65-67. PMID: 26852583. [In Russ.]
26. Barbarash L.S., Plotnikov G.P., Shukevich D.L., Haes B.L., Shukevich L.E., Churlyayev Y.A., Grigoryev Y.V. Rationale for early renal replacement therapy for multiple organ dysfunction. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2010; 6 (6): 29-33. DOI: 10.15360/1813-9779-2010-6-29. [In Russ., In Engl.]
27. Tabakyan E.A., Partigulov S.A., Savushkina T.N., Lepilin M.G., Akchurin R.S. Hemofiltration and hemodialysis in the prevention and treatment of acute renal failure after cardiac surgery under extracorporeal circulation. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2012; 8 (1): 36-40. DOI: 10.15360/1813-9779-2012-1-36. [In Russ., In Engl.]
28. Barbarash L.S., Popkov A.N., Kheraskov V.Y., Plotnikov G.P., Shukevich D.L., Grigoryev E.V. Efficiency of renal replacement therapy for cardiogenic shock complicated by multiorgan dysfunction. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2011; 7 (5): 32-35. DOI: 10.15360/1813-9779-2011-5-32. [In Russ., In Engl.]
29. Nikulin A.V., Khoroshilov S.E. Kinetic modeling of albumin dialysis in acute liver failure. *Efferentnaya Terapiya*. 2011; 17 (1): 9-13. [In Russ.]
30. Khoroshilov S.E., Marukhov A.V., Nikulin A.V. Applying of plasma depletion in enzymatic phase of acute pancreatitis: new focus on proven method. *Meditsina (Almaty)*. 2017; 4 (178): 287-292. [In Russ.]

Поступила 05.07.17

Received 05.07.17

Методы определения бактериального эндотоксина в медицине критических состояний (обзор)

М. Н. Копицына¹, А. С. Морозов¹, И. В. Бессонов¹, В. М. Писарев^{2,3}

¹ АО Перспективные медицинские технологии,
Россия, 119234, г. Москва, Ленинские горы, д. 1/75Г

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

³ Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии Роспотребнадзора,
Россия, г. Москва, ул. Новогиреевская, д. 4

Methods for Detection of Bacterial Endotoxin in Critical Care Medicine

Maria N. Kopitsyna¹, Alexey S. Morozov¹, Ivan V. Bessonov¹, Vladimir M. Pisarev^{2,3}

¹ Joint-Stock Company Perspektivnye meditsinskie tekhnologii,
1/75G Leninskiye gory, Moscow 119234, Russia

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

³ Central Research Institute of Epidemiology, Rospotrebnadzor,
⁴ Novogireevskaya Str., Moscow 111123, Russia

В обзоре рассмотрены методы определения бактериальных эндотоксинов в водных растворах и биологических жидкостях. Основное внимание уделено определению содержания эндотоксинов как клинически значимых биомаркеров сепсиса, вызванного грамотрицательными бактериями. Обсуждены достоинства и недостатки каждого метода и приведены сравнительные характеристики используемых в настоящее время в клинической практике тест-систем.

Ключевые слова: бактериальный эндотоксин; липополисахарид; грамотрицательные бактерии; сепсис; ЛАЛ-тест; анализ активности эндотоксина; метод активированных частиц

Dedicated to reviewing the methods for detecting bacterial endotoxin in aqueous solutions and biological fluids, this review is focused on determining the content of endotoxin as a clinically relevant biomarker of sepsis caused by Gram-negative bacteria. The advantages and disadvantages of each method are described, and the characteristics of test systems currently used in clinical practice are listed and compared.

Keywords: Bacterial endotoxin; lipopolysaccharide; Gram-negative bacteria; sepsis; LAL-test, endotoxin activity assay, method of activated particles

DOI:10.15360/1813-9779-2017-5-109-120

Список сокращений

БЭ — бактериальный эндотоксин
ЛПС — липополисахарид
ЛАЛ-тест — Limulus Amebocyte Lysate тест
ЕАА — анализ активности эндотоксина (Endotoxin Activity Assay)
МАЧ — метод активированных частиц
ЕЭ — единицы эндотоксина

List of abbreviations

BE — bacterial endotoxin
LPS — lipopolysaccharide
LAL-test — Limulus Amebocyte Lysate test
EAA — Endotoxin Activity Assay
MAP — method of activated particles
EU — endotoxin unit

Введение

Впервые термин бактериальный эндотоксин (БЭ) был введен еще в XIX веке для описания компонентов грамотрицательных бактерий, ответ-

Introduction

The term «bacterial endotoxin» (BE) was introduced for the first time in the 19th century to describe the components of Gram-negative bacteria responsible for the emergence of the pathophysiological re-

Адрес для корреспонденции:

Владимир Писарев
E-mail: vpisarev@gmail.com

Correspondence to:

Vladimir Pisarev
E-mail: vpisarev@gmail.com

ственных за возникновение патофизиологических реакций при грамотрицательных инфекциях. Благодаря развитию инструментальных методов анализа в середине XX века химическая структура и биологические свойства БЭ были определены более точно [1]. Присутствующий во внешней мембране всех грамотрицательных бактерий БЭ при попадании в кровеносную систему человека способен вызвать сильный воспалительный ответ, в тяжелых случаях приводящий к развитию септического шока с высокой вероятностью летального исхода. Своевременность количественного или полуколичественного определения БЭ в крови и других физиологических жидкостях организма в настоящее время относятся к ключевым факторам ранней диагностики сепсиса и условием назначения более «точного» лечения, включая персонализированное применение экстракорпоральных методов лечения сепсиса [2].

Структура бактериального эндотоксина.

БЭ представляет собой молекулы липополисахарида (ЛПС), экспрессированные на наружной клеточной стенке грамотрицательных бактерий. Общая химическая структура молекул ЛПС большинства бактерий сходная: они содержат полярный гетерополисахаридный (О-антиген), внутренний олигосахаридный и липидный (липид А) фрагменты [3, 4] (рис. 1).

О-антиген — наименее консервативная часть молекулы ЛПС; он представляет собой полярный гетерополисахаридный фрагмент, степень разветвленности и присутствие тех или иных моносахаридов в котором зависит от вида бактерий [5, 6]. Центральный олигосахаридный фрагмент состоит из внешней и внутренней части. Внешняя часть, также как и фрагмент О-антигена, не является консервативной и представляет собой остатки

actions in Gram-negative infections. Due to the progress in development of instrumental methods of analysis in the middle of the 20th century, the chemical structure and biological characteristics of BE have been clarified [1]. BE is expressed in the outer membrane of all Gram-negative bacteria. The BE molecules are capable to induce a potent inflammatory response after entering the human bloodstream, in severe cases leading to the development of septic shock with a high probability of a lethal outcome. A timely quantitative or semi-quantitative determination of BE in the blood and other body fluids is currently one of the key factors for early diagnosis of sepsis and a basis for prescription of a more appropriate treatment, including personalized approaches to extracorporeal treatment of sepsis [2].

Structure of bacterial endotoxin. BE represents lipopolysaccharide (LPS) molecules of the outer cell wall of Gram-negative bacteria. The general chemical structure of LPS molecules of most bacteria is similar: they contain polar heteropolysaccharide (O-polysaccharide chain), internal oligosaccharide, and lipid (lipid A) fragments [3, 4] (Fig. 1)

The O-polysaccharide chain is the least conservative part of the LPS molecule; it constitutes a polar heteropolysaccharide fragment, the degree of branching and presence of certain monosaccharides in which depends on the type of bacteria [5, 6]. Central oligosaccharide fragment consists of external and internal parts. The external part, as well as a fragment of the polysaccharide are not conservative and represented by residues of six-membered sugars, which numbers may vary from 8 to 12 [5].

The inner part of the oligosaccharide fragment contains heptoses and at least one residue of 3-deoxy-D-manno-oct-2-ulosonic acid. Lipid A is the

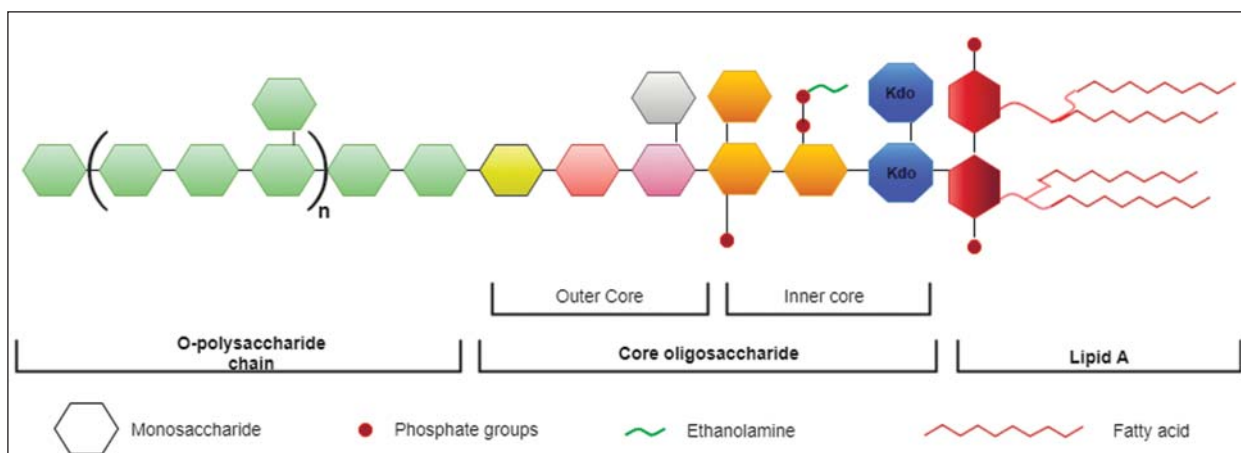


Рис. 1. Общая химическая структура ЛПС.

Fig. 1. Chemical structure of LPS.

Примечание. O-polysaccharide chain — О-антиген; для рис. 1, 2: Core oligosaccharide — внутренний олигосахаридный фрагмент; Lipid A — липид А. Outer Core — внешняя часть; Inner core — внутренняя часть; Monosaccharide — моносахарид; Phosphate groups — фосфатные группы; Ethanolamine — этаноламин; Fatty acid — жирные кислоты.

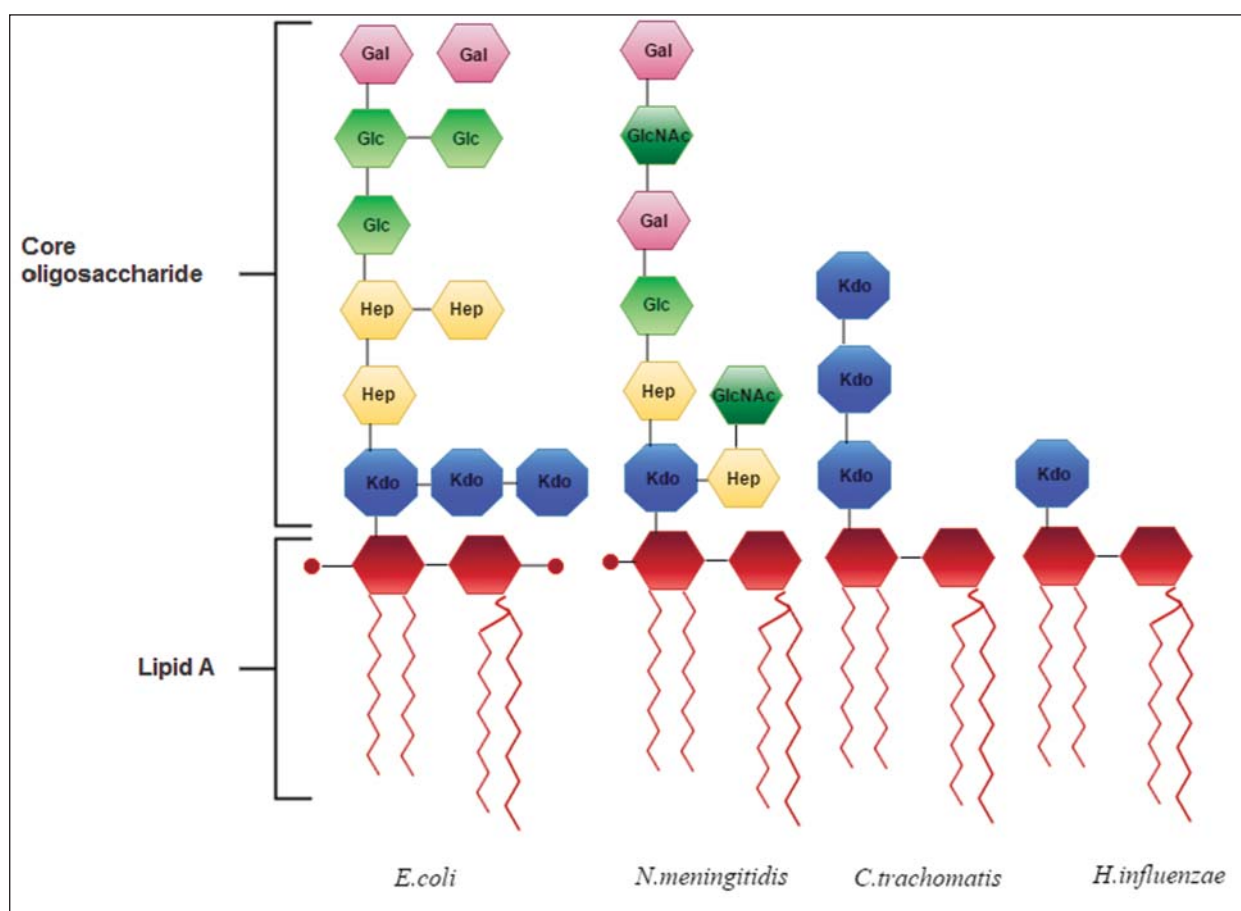


Рис. 2. Примеры строения внутреннего олигосахаридного фрагмента для различных грамотрицательных бактерий.
Fig. 2. Core oligosaccharide structure of different gramnegative bacteria.

шестичленных сахаров, количество которых может варьировать от 8 до 12 [5].

Во внутренней части олигосахаридного фрагмента содержатся гептозы и не менее одного остатка 3-дезоксид-D-манно-окт-2-улозоновой кислоты (рис. 2). Липид А — наиболее консервативная часть молекулы ЛПС, представляющая собой уникальный фосфорилированный гликолипид [7].

Токсичность бактериального эндотоксина. БЭ высвобождается при разрушении стенок бактерий, после чего может проникать в различные жидкие среды организма (кровь, спинномозговую жидкость, мокроту и др.). Попадание в кровь БЭ особенно опасно, и при этом стоит отметить, что у разных видов животных чувствительность по отношению к БЭ неодинакова [8]. Циркуляция эндотоксина в крови приводит к различным патофизиологическим эффектам, ухудшающим состояние и в значительной мере определяющим тяжесть клинического состояния пациента. Считается, что в развитие тканевой гипоксии, приводящей к полиорганной недостаточности при сепсисе и септическом шоке, вносят существенный вклад молекулы ЛПС, способные нарушать эндотелий сосудов (ЭС) как непосредственно, так и

most conservative part of the LPS molecule representing the unique phosphorylated glycolipid [7].

Toxicity of bacterial endotoxin. BE is released on destruction of bacterial walls, and then it can penetrate into various body fluids (blood, cerebrospinal fluid, bronchial mucus, and urine). The BE penetration into the blood is significantly dangerous, and it should be noted that the sensitivity to BE varies in different animal species [8]. The circulation of endotoxin in blood leads to various pathophysiological effects, worsening the condition and largely determining the severity of patients' clinical condition. It is believed that LPS molecules capable of impairing the vascular endothelium (VE) significantly contribute, both directly and indirectly, to the development of tissue hypoxia leading to multiple organ failure in sepsis and septic shock by activating neutrophils aggregating on the VE surface. Therefore, the detection of BE in the circulation seems obligatory for personalization of treatment of life-threatening conditions in sepsis [9, 10].

Test methods for detection of bacterial endotoxin. There are four main ways to detect bacterial endotoxin to date:

опосредованно, активируя нейтрофилы, агрегирующие на поверхности ЭС. Поэтому определение БЭ в циркуляции необходимо для персонализации лечения жизнеугрожающих состояний при сепсисе [9, 10].

Методы определения бактериального эндотоксина. На данный момент существует четыре основных способа определения бактериального эндотоксина:

1) Определение пирогенности на кроликах — установление всех пирогенов, включая эндотоксины [11];

2) ЛАЛ тест (Limulus Amebocyte Lysate Test) — тест, позволяющий определять бактериальные эндотоксины (не пирогены как таковые) [12] и его различные аналоги, в частности, PyroGene™ [13], EndoLisa® и EndoZyme® [14, 15];

3) ЕАА (Endotoxin activity assay) — позволяет проводить анализ активности эндотоксина в крови пациента [16];

4) МАЧ-Endotox (метод активированных частиц) [17] — позволяет полу-количественно определять как эндотоксины отдельных видов бактерий, так и их суммарное содержание.

Определение пирогенности на кроликах.

Долгое время о наличии эндотоксинов в крови судили по пирогенности в тесте на кроликах. Пирогенность раствора определяли путем введения его в кровь животного и наблюдения за изменением температуры тела [18]. Повышение температуры выше допустимой нормы указывало на наличие во вводимом растворе, содержащем компоненты крови больного, пирогенных примесей — предположительно, БЭ. Впервые этот тест был официально рекомендован Фармакопеей США в 1942 г. Главный недостаток — невозможность количественной оценки содержания БЭ [19].

ЛАЛ-тест. ЛАЛ-тест или Limulus Amebocyte Lysate (LAL) — качественный и количественный метод определения уровня эндотоксина, основанный на реакции *in vitro* между БЭ и ЛАЛ-реактивом. Тест впервые предложен в 1968 г. [20]. Определение содержания БЭ с помощью ЛАЛ-теста возможно в различных жидких средах, включая кровь и плазму. Впервые этот метод был включен в Фармакопею США в 1985 г. как предназначенный для определения бактериальных эндотоксинов [21]. Следует отметить, что эндотоксины различных видов бактерий отличаются по своей активности в ЛАЛ-тесте по сравнению с определением пирогенности на кроликах [22].

Существует несколько модификаций ЛАЛ-теста. Среди них гель-тромб тест, хромогенный тест (кинетический и по конечной точке), а также турбодиметрический ЛАЛ-тест (кинетический и по конечной точке).

Идея метода заключается в том, что фермент фактор С, содержащийся в лизате амебоцитов ме-

1) the pyrogenicity test in rabbits helps determine all the pyrogens, including endotoxins [11];

2) LAL test (Limulus Amebocyte Lysate Test) is a test that allows to detect bacterial endotoxins (not pyrogens, as such) [12] and its various analogues, in particular, PyroGene™ [13], EndoLisa® and EndoZyme® [14, 15];

3) EAA (Endotoxin activity assay) allows to analyze the activity of endotoxin in patient's blood [16];

4) MAP-Endotox (method of activated particles) [17] allows to carry out a semi-quantification test for both endotoxins of individual bacterial species and their total content.

Pyrogenicity test in rabbits. The presence of endotoxins in the blood has been assessed based on the pyrogenicity test in rabbits for a long time. The pyrogenicity of a solution was determined by injecting it into the bloodstream of an animal and monitoring the body temperature [18]. The temperature rise above the reference limits indicated the presence of pyrogenic impurities, presumably, BE in the injected solution containing components of patient's blood. For the first time, this test was officially recommended by the United States Pharmacopoeia in 1942. The principal disadvantage of the test is the inability to accurately quantify the content of BE [19].

LAL test. LAL-test or Limulus Amebocyte Lysate test (LAL) is a qualitative and quantitative method for the determination of endotoxin levels, based on *in vitro* reaction between BE and the LAL reagent. The test was introduced for the first time in 1968 [20]. The detection of BE using the LAL-test is possible in various body fluids including blood and plasma. For the first time, this method was included in the United States Pharmacopoeia in 1985 as a test for bacterial endotoxins [21]. It should be noted that endotoxins of different kinds of bacteria differ in their activity in the LAL-test as compared to the pyrogenicity test in rabbits [22].

There are several modifications of the LAL-test. They include the gel-clot test, the chromogenic test (kinetic and endpoint procedure), as well as turbidimetric LAL-test (kinetic and endpoint procedure).

The concept of the method is that the enzyme factor C contained in the limulus amebocyte lysate (*Limulus polyphemus*) (LAL-reagent), reacts only with BE, thus triggering a cascade of enzymatic reactions leading to activation of a coagulating enzyme, which eventually turns coagulogen into coagulin, that leads to the formation of gel (gel-clot and turbidimetric version of the method). Chromogenic modification of the method uses, instead of coagulogen, a chromogenic substrate hydrolyzed by the enzyme system activated in the presence of BE with the formation of a stained product (4-nitroaniline) [23].

The gel-clot test is a semi-quantitative LAL-test version. This method is based on the formation

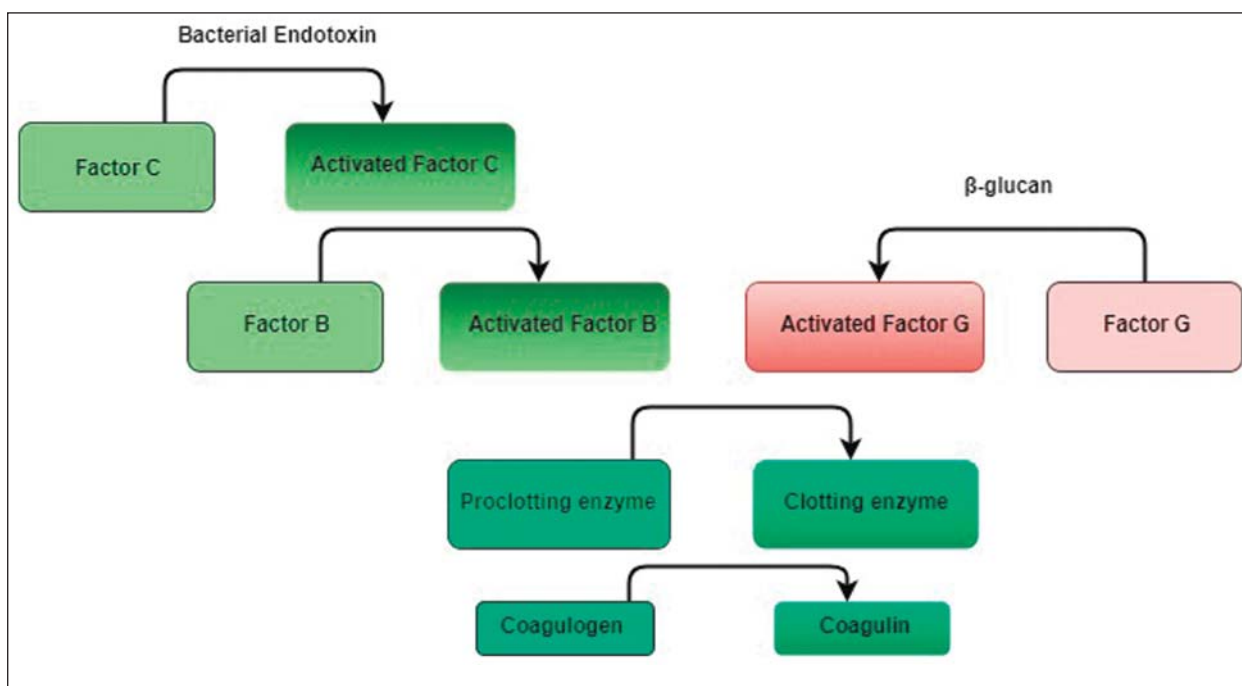


Рис. 3 Схематическое представление гель-образования в процессе ЛАЛ реакции.

Fig. 3. Schematic representation of the LAL gelation reaction.

Примечание. Bacterial Endotoxin — бактериальный эндотоксин; glucan — глюкан; Factor C (B, G) — фактор C (B, G); Activated Factor — активная форма фактора; Proclotting enzyme — профермент; Clotting enzyme — свертывающий фермент; Coagulogen — коагулоген; Coagulin — коагулин.

чехвостов *Limulus polyphemus* (ЛАЛ-реагент), реагирует практически только с БЭ, что запускает каскад ферментативных реакций, приводящий к активации свертывающего фермента, который в итоге превращает коагулоген в коагулин, что приводит к образованию геля (гель-тромб и турбодиметрический вариант метода). В случае хромогенной модификации метода вместо коагулогена используется хромогенный субстрат, который гидролизует активированной в присутствии БЭ ферментной системой с образованием окрашенного продукта — 4-нитроанилина [23].

Гель-тромб тест — полуколичественный вариант ЛАЛ-теста. Данный метод основан на образовании твердого геля после добавления к исследуемому образцу (водному раствору или плазме крови) ЛАЛ-реактива (рис. 3). Предел обнаружения эндотоксина при таком методе составляет от 0,01 до 0,03 ЕЭ/мл (1 ЕЭ обычно соответствует 100 пг БЭ). Критерием, используемым в данном методе гелеобразования, является сохранение целостности образовавшегося в результате реакции плотного геля на дне пробирки при ее переворачивании (положительный результат). Отрицательным является результат, соответствующий отсутствию плотного геля или его мгновенному разрушению при переворачивании пробирки, что означает отсутствие бактериального эндотоксина на уровне предела чувствительности конкретного реактива. Этот метод

of solid gel after adding the LAL-reagent to the studied sample (water solution or blood plasma). The endotoxin detection limit of this method ranges from 0.01 to 0.03 EU/ml (1 EU usually corresponds to 100 pg of BE). Criterion used in this method of gelation is the preservation of the integrity of a dense gel resulting from the reaction on the bottom of the test tube when it is turned upside down (positive result). The result is considered negative, in the absence of the dense gel or its immediate destruction after turning the tube, which means that there is no bacterial endotoxin at the sensitivity limit of a specific reagent. This method is relatively inexpensive and does not require specialized equipment for its implementation. Its disadvantages include low reproducibility and low accuracy of detection of bacterial endotoxin.

The chromogenic LAL-test is based on the formation of a stained product during hydrolysis of the substrate, which only happens when the enzyme system is activated in the presence of bacterial endotoxin. In the presence of LPS, test solutions turn yellow; at that, the color intensity is proportional to the content of BE, that allows to build a calibration curve and use this method for the assay of BE. The peak sensitivity of the method is 0.005 EU/ml. To carry out the chromogenic test, equipment, allowing to determine the absorbancy of solutions is required in addition to main consumables, for example, a standard spectrophotometer or optical reader for tablets

сравнительно недорогой и не требует специального оборудования для его реализации. К недостаткам можно отнести невысокую воспроизводимость результатов и низкую точность определения бактериального эндотоксина.

Хромогенный ЛАЛ-тест основан на образовании окрашенного продукта при гидролизе субстрата, который происходит лишь при активации ферментной системы в присутствии бактериального эндотоксина. При наличии ЛПС исследуемые растворы окрашиваются в желтый цвет, причем интенсивность цвета пропорциональна содержанию БЭ, что позволяет построить градуировочную кривую и использовать данный метод для количественного анализа содержания БЭ. Максимальная чувствительность метода составляет 0,005 ЕЭ/мл. Для выполнения хромогенного теста помимо основных расходных материалов необходимо оборудование, позволяющее определять оптическую плотность растворов, например, можно использовать стандартный спектрофотометр или оптический ридер для планшетов. Неоспоримым достоинством хромогенного ЛАЛ-теста является возможность точного определения, содержания БЭ и значительно более высокая воспроизводимость метода.

Турбидиметрический ЛАЛ-тест основан на том, что при взаимодействии реактива с БЭ происходит помутнение раствора, т.е. изменяется его оптическая плотность, причем скорость изменения данного параметра напрямую зависит от количественного содержания БЭ. Как правило, критерием оценки является достижение заранее определенного порогового значения оптической плотности. Среди всех вариаций ЛАЛ-теста данный метод является наиболее чувствительным (максимальная чувствительность 0,001 ЕЭ/мл). Выполнение анализа требует наличия термостатирующего инкубатора с фотометром, позволяющего проводить непрерывное измерение оптической плотности реакционной смеси при инкубации в условиях заданной температуры.

При анализе биологических жидкостей методом ЛАЛ-теста важно понимать, что в них могут содержаться компоненты, мешающие проведению реакции с субстратом. Так, циркулирующий белок LBP, мембрано-ассоциирующиеся молекулы гранулоцитов и моноцитов (CD11/CD18, CD14 и др.), а также поверхностные структуры тромбоцитов обладают способностью связывать и нейтрализовать ЛПС [24, 25], что снижает точность определения количества БЭ в жидких образцах. Кроме того, в крови содержатся сериновые протеазы, гидролизующие пептидные связи ферментов, участвующих в каскаде реакций; большое содержание протеаз в биообразцах (например, в результате выхода протеаз из разрушенных клеток при травмах, других критических состояниях) делает определение ЛПС

may be used. The undeniable advantage of the chromogenic LAL-test is the ability to determine the content of BE accurately and a significantly higher reproducibility of the method.

The turbidimetric LAL-test is based on the fact that turbidity of the solution occurs during interaction of the reagent with BE, i.e. its absorbancy changes; at that, the rate of this change depends on the quantity of BE. As a rule, achievement of a predetermined threshold of the absorbancy is the assessment criterion. Among all variations of the LAL-test, this method is the most sensitive one (the peak sensitivity is 0.001 EU/ml). The analysis requires a thermostatic incubator with a photometer, allowing to perform continuous measurements of the absorbance of the reaction mixture during incubation at a given temperature.

When analyzing biological fluids by means of the LAL-test it is important to understand that they might contain components preventing a reaction with the substrate. For instance, circulating LBP protein, membrane-associated molecules of granulocytes and monocytes (CD11/CD18, CD14, etc.), as well as superficial structures of platelets have the ability to bind and neutralize LPS [24, 25] thus decreasing the accuracy of the BE counting in liquid samples. In addition, the blood contains serine proteases hydrolyzing peptide bonds of enzymes involved in the cascade of reactions; a greater content of proteases in biosamples (for example, as a result of release of proteases from destroyed cells after traumas and other critical conditions) makes the LPS detection difficult [26]. On the other hand, proteases can activate enzymes contained in the *Limulus* coagulation system which is similar to that of mammals, resulting in false positive test results [27]. In addition to the proteins, (1,3)- β -D-glucans, the components of fungal cell walls, are present; like LPS, they can activate the enzyme cascade. In order to reduce the probability of false results in blood and serum tests, a specially designed Glucashield™ buffer compatible with the reagent for the LAL-test should be used. While using it, enzymes, producing the LAL-reaction cascade are insensitive to (1,3)- β -D-glucans that allows a more precise measurement of endotoxin in the sample. In general, pretreatment is required to abrogate a negative impact of various blood proteins that prevent the reliable and reproducible results of the LAL-test when testing for bacterial endotoxins [28].

Therefore, the advantages of the LAL-test include a sufficiently high sensitivity, simplicity and relatively short testing time. The method is characterized by a relatively low cost, reproducibility, and simplicity. Disadvantages of the method includes: (a) lacking the specificity in the analysis of the content of BE in multicomponent solutions such as blood and plasma, and (b) requirement of special equip-

проблематичным [26]. С другой стороны, протеазы могут активировать ферменты, составляющие систему свертывания крови мечехвостов, сходную с таковой у млекопитающих, что приводит к получению ложноположительных результатов анализа [27]. В дополнение к белкам, в крови в небольших количествах содержатся (1,3)- β -D-глюканы, компоненты стенок грибковых клеток, которые, также как и ЛПС, могут активировать ферментный каскад. Для того, чтобы снизить вероятность получения ложных результатов при исследовании крови и сыворотки, необходимо применять специально разработанный для этого буфер Glucashield™, совместимый с реагентом для ЛАЛ-теста. При его использовании ферменты, продуцирующие каскад ЛАЛ-реакции, оказываются нечувствительны к (1,3)- β -D-глюканам, что позволяет произвести более точное измерение эндотоксина в образце. В общем и целом, необходима предварительная обработка, дезактивирующая негативное воздействие различных белков крови, мешающих получению достоверных и воспроизводимых результатов анализа бактериальных эндотоксинов методом ЛАЛ-теста [28].

Таким образом, к преимуществам ЛАЛ-теста относятся достаточно высокая чувствительность, простота и относительно небольшое время проведения анализа. Метод характеризуется сравнительно невысокой стоимостью, воспроизводимостью, удобством применения. Недостатками метода являются: (а) недостаточная специфичность при анализе содержания БЭ в таких многокомпонентных растворах, как кровь и плазма, и (б) необходимость наличия специального оборудования, что затрудняет его использование в качестве экспресс-метода в условиях стационара. В целом, метод более всего подходит для определения БЭ в водных растворах; его применение с целью диагностики грамотрицательного сепсиса является недостаточно специфичным.

PyroGene™. Другой метод анализа бактериального эндотоксина в водных средах основан на использовании набора PyroGene™, разработанного компанией Lonza [29]. Суть метода в том, что вместо нативной формы фактора С гемостаза мечехвостов используют рекомбинантные молекулы фактора С (rFC), активирующиеся при связывании с БЭ, что приводит к эмиссии флуоресцентного сигнала. Метод является аналогом популярного ЛАЛ-теста, однако более специфичным в отношении выявления именно БЭ. Использование именно rFC позволяет исключить ложноположительные результаты, периодически возникающие в ЛАЛ-тесте в связи с наличием в биологических жидкостях перекрестно-реагирующих в тесте β -глюканов. Чувствительность метода PyroGene составляет 0,005 ЕЭ/мл. К недостаткам можно отнести более высокую стоимость,

which makes it difficult to use the test in an express hospital setting. In general, the method is the most appropriate one for determining BE in aqueous solutions; its use for diagnosis of Gram-negative sepsis is not sufficiently specific.

PyroGene™. Another method of analysis of bacterial endotoxin in aqueous media is based on the PyroGene™ kit manufactured by Lonza [29]. The essence of the method is that recombinant molecules of factor C (rFC) activated at binding to BE are used instead of the native form of factor C of Limulus hemostasis, thus leading to the emission of a fluorescent signal. This method is analogous to the popular LAL-test, but it is more specific in identifying BE. The use of rFC permits to exclude false positive results recurring in the LAL-test due to β -glucans in biological fluids cross-reacting in the test. The sensitivity of the PyroGene method is 0.005 EU/ml. Disadvantages include a higher cost, and the only one manufacturer and supplier licensed in Russian Federation.

EndoZyme® and EndoLisa®. The EndoZyme® method is used for the in vitro assay of BE in biological, pharmaceutical and other samples; it is also based on the interaction of BE with rFC [15], resulting in a fluorescent signal which is detected instrumentally. The peak sensitivity of the method is 0.005 EU/ml.

The EndoLisa® method is a variation of the EndoZyme® method; the main difference is in preliminary accumulation of BE using recombinant protein of a bacteriophage fixed to a polymer substrate. Detection is carried out using the enzyme system that contains rFC.

Both methods allow to avoid false-positive results due to reactions with β -glucans in the LAL test, and also allow to work with concentrated salt solutions. It is important to note that the EndoLisa® method shows a good correlation with other methods (LAL-test) in determining BE; in July, 2016, the European Pharmacopoeia allowed to use it in clinical practice for the quantitative analysis of bacterial endotoxin [31].

Endotoxin Activity Assay — EAA. In 1998, the first method for assessment of the endotoxin activity (Endotoxin Activity Assay, EAA) directly in whole blood was developed for diagnosing Gram-negative infections [32]. It has become the first and currently the only quantitative assay of BE in the blood approved by the United States Food and Drug Administration (FDA) [33, 34]. The EAA test is based on the fact that the blood endotoxin binds to anti-endotoxin antibodies (monoclonal murine IgM), then the resulting complex of the antigen (LPS) and antibodies (contains a fragment affine to complement components) interacts with the complement factor, and the entire complex is captured by receptors of the complement expressed on the surface of neutrophils in a whole blood sample. In the presence of Zymosan A (a glucan causing a pronounced reaction of innate

а также проблему приобретения на территории РФ в связи с наличием единственного производителя и поставщика.

EndoZyme® и EndoLisa®. Метод EndoZyme® используется для количественного определения БЭ *in vitro* в биологических, фармацевтических и других образцах, он также основывается на взаимодействии БЭ с rFC [15], что приводит к возникновению флуоресцентного сигнала, который детектируется инструментально. Максимальная чувствительность метода составляет 0,005 ЕЭ/мл.

Метод EndoLisa® является вариацией метода EndoZyme®, основное различие заключается в предварительном концентрировании БЭ при помощи рекомбинантного белка бактериофага, закрепленного на полимерной подложке. Детектирование осуществляется при помощи ферментной системы, содержащей rFC.

Оба этих метода позволяют избежать ложноположительных результатов, которые бывают из-за реакций с β -глюканами в ЛАЛ-тесте, а также позволяют работать с концентрированными солевыми растворами. Важно отметить, что метод EndoLisa® показывает хорошую корреляцию с другими методами (ЛАЛ-тест) при определении БЭ и с июля 2016 года разрешен Европейской фармакопеей к использованию для анализа содержания бактериальных эндотоксинов в клинической практике [31].

Endotoxin Activity Assay — EAA. В 1998 году с целью диагностики грамотрицательной бактериальной инфекции был разработан метод определения активности эндотоксина (Endotoxin Activity Assay, EAA) непосредственно в цельной крови [32]. Он является первым и на данный момент единственным количественным анализом БЭ в крови, утвержденным в США Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (FDA) [33, 34]. EAA тест основан на том, что находящийся в крови эндотоксин связывается с антиэндотоксиновыми антителами (моноклональный IgM мыши), после чего образовавшийся комплекс антигена (ЛПС) и антитела (содержит фрагмент, афинный к компонентам комплемента) взаимодействует с фактором комплемента, и весь комплекс захватывается рецепторами комплемента, экспрессирующимися на поверхности нейтрофилов в образце цельной крови. В присутствии зимозана А (глюкан, вызывающий выраженную реакцию клеток врожденного иммунитета) происходит «респираторный взрыв» нейтрофилов, и выделяется большое количество высокореактивных молекул-окислителей, которые детектируются методом люминол-зависимой хемилюминесценции. Количественное определение содержания БЭ основано на том, что интенсивность люминесценции пропорциональна количеству эндотоксина, присутствующего в

immunity cells) а «respiratory burst» of neutrophils occurs, and a large amount of highly reactive oxidant molecules is released, which are detected by the luminol-dependent chemiluminescence. The BE assay is based on the fact that the intensity of luminescence is proportional to the amount of endotoxin present in the blood sample. The EBA method helps identify pathogens based on the presence of their product (BE) directly in the blood without time-consuming sample preparation. Only 10 μ l of blood is required for the analysis; the test takes only 30 minutes [33].

The applicability of the method is limited to whole blood, because it requires the presence of neutrophils. In addition, specialized expensive equipment is required allowing to carry out necessary processing of the blood, as well as devices for reading the chemiluminescence signal. The fact that the analysis should be performed directly in a specified clinic may be an important limitation of the method, because only a quick test after blood sampling gives informative, adequate information. Another significant problem of practical application of the test in clinic is an ambiguous relationship between the LPS content and the EAA test result. A number of works present data on the inconsistency of results obtained by the «classic» way for endotoxin detection: the LAL-test and the EAA [35–37]. The researchers note that the level of the endotoxin activity measured by the EAA method may be elevated not only due to Gram-negative sepsis, but also Gram-positive, which is also confirmed by the lack of a direct relationship between the presence of endotoxin and the EAA result [36–38]. At that, introduction of interleukin-8 into the bloodstream leads to increased activity of endotoxin determined by the EAA [35]. The molecular concept of the method itself does not exactly correspond to the definition of BE, as indicated by the authors of the work [39]. Therefore, EAA results are currently used rather as a biomarker of sepsis than as a method of direct detection of BE in patient's blood [38, 40, 41].

Method of activated particles (MAP) Endotox. The method of activated particles was developed for the detection of BE in blood to diagnose Gram-negative bacterial infections; at that, this kit identifies BEs of from different bacteria, which allows to determine the causative type of bacteria. The analysis is carried out by adding the preliminary prepared biological liquid to polystyrene microspheres with surface-immobilized monoclonal antibodies IqG₃ and IqG_{2a} [42]. In the presence of BE, the antigen-antibody complex is formed, and the result of the reaction is monitored visually by the degree of particle activation, i.e. by the presence of large flakes and grains, as well as the turbidity of the solution. The sensitivity of the method is 0.04 EU/ml for LPS of *E. coli* and *S. typhi*.

Сравнение методов определения ЛПС. LPS detection methods.

Method	Sensitivity, EU/ml	LPS detection in aqueous solutions	LPS detection in blood	Quantitative LPS detection
Pyrogen Test on Rabbits	—	++	—	—
LAL-test				
gel-clot LAL-test	0,03	+++	+	+
chromogenic LAL-test	0,005	+++	++	+++
turbidimetric LAL-test	0,001	+++	++	+++
Endo-tests				
EndoLisa®	0,05	+++	—	+++
EndoZyme®	0,005	+++	—	+++
Other tests				
PyroGene™	0,005	+++	—	+++
EAA test	0,2	—	+++ ¹	+++
MAP test	0,04	no data	+++	++

Note. ¹ — Determination of LPS content by this method is debatable.

Примечание. Method — метод; sensitivity — чувствительность; EU/ml — ЕЭ/мл; LPS detection in aqueous solutions — определение ЛПС в водных растворах; LPS detection in blood — определение ЛПС в крови; quantitative LPS detection — количественное определение ЛПС. Pyrogen test on — rabbits- пирогенность (на кроликах); LAL-test — ЛАЛ-тест; gel-clot -гель-тромб тест; chromogenic LAL-test — хромогенный ЛАЛ-тест; turbidimetric LAL-test — турбодиметрический ЛАЛ-тест; Endo-tests — Endo-тесты; EAA test — ЕАА тест; MAP test — МАЧ тест; Other tests — другие тесты; no data — нет данных. ¹ — является дискуссионной возможностью определения содержания ЛПС данным методом.

образце крови. ЕАА метод позволяет определять патогенны по наличию их продукта — БЭ непосредственно в крови без трудоемкой пробоподготовки. Для проведения анализа достаточно 10 мл крови, тест занимает всего 30 минут [33].

Применимость метода ограничивается цельной кровью, так как необходимо наличие нейтрофилов. Кроме того, для его выполнения необходимо специализированное дорогостоящее оборудование, позволяющее проводить необходимую обработку крови, а также приборы для считывания хемилюминесцентного сигнала. Существенным ограничением метода может являться и необходимость проведения анализа непосредственно в данной клинике, поскольку только быстрое определение после взятия образцов крови у пациента дает информативные, адекватные сведения. Другой значимой проблемой практического применения теста в клинике является неоднозначная связь между содержанием ЛПС и результатом ЕАА теста. В ряде работ приводятся данные о несоответствии результатов, полученных «классическим» способом детектирования эндотоксинов — ЛАЛ-тестом и ЕАА [35–37]. Исследователи отмечают, что уровень активность эндотоксина, измеренный методом ЕАА, может быть повышен не только при грамотрицательном сепсисе, но и при грамположительном, что дополнительно подтверждает отсутствие прямой связи между наличием эндотоксина и результатом ЕАА [36–38]. При этом введение в кровь интерлейкина-8 приводит к увеличению активности эндотоксина, определяемой по методу ЕАА [35]. Сама молекулярная концепция метода не вполне соответствует определению БЭ, на что указывают авторы работы [39]. Поэтому результаты ЕАА в настоящее время

Comparison of the methods. The main advantages and disadvantages of the methods for BE detection in different media are presented in Table 1. Chromogenic and turbidimetric LAL-test (and its analogues) are the most useful tests for BE determination in aqueous solutions which allow to carry the analysis quickly enough with appropriate quality without time-consuming sample preparation; they also demonstrate a better sensitivity. The LAL-test may be also used to determine the BE in the blood and other biological fluids, but there are problems with sample preparation and reproducibility due to glucans and other molecules impeding the detection whose blood levels vary considerably. EAA and MAP-Endotox are optimal to meet the challenges of clinical diagnosis. Although the EAA remains a promising candidate biomarker indicating the presence of a bacterial infection including sepsis, it cannot directly determine the concentration of LPS of Gram-negative bacteria. MAP-Endotox is a semi-quantitative method with advantages of simplicity and quickness in detecting the BE. Therefore, there is currently no universal test eligible to meet the challenges of detecting BE. The BE detection in the blood as a diagnostic criterion of septic complications of critical states is still ambiguous.

This work was financially supported by the Ministry of Education and Science of the Russian Federation (Grant agreement No. 14.577.21.0165 as of 28.10.2015 within the framework of the Federal Target Program «Research and Development in the Fields of High Priority in Development of the Scientific-Technological Complex of Russia in 2014–2020»).

используют скорее в качестве биомаркера сепсиса, чем как метод прямого определения БЭ в крови пациентов [38, 40, 41].

Метод активированных части (МАЧ) Endotox. Метод активируемых частиц был разработан для определения содержания БЭ в крови для диагностики грамотрицательных бактериальных инфекций; при этом в набор входят диагностикумы для определения БЭ разных бактерий, что позволяет выявить возбудителя. Анализ проводят путем прибавления предварительно подготовленной биологической жидкости к микросферам полистирола, на поверхности которых иммобилизованы моноклональные антитела IqG₃ и IqG_{2a} [42]. При наличии БЭ образуется комплекс «антитело-антиген», и результат реакции контролируется визуально по степени активирования частиц, т.е. по наличию крупных хлопьев и зерен, а также по помутнению раствора. Чувствительность метода составляет 0,04 ЕЭ/мл для ЛПС *E.coli* и *S.typhi*.

Сравнение методов. Основные достоинства и недостатки методов определения БЭ в разных средах представлены в таблице. Для определения БЭ в водных растворах наиболее удобен хромогенный и турбодиметрический ЛАЛ-тест, а также, его аналоги, которые позволяют проводить анализ достаточно быстро, количественно и без трудоемкой пробоподготовки, а также, обладают луч-

шей чувствительностью. Для определения БЭ в крови и других биологических жидкостях также можно применять ЛАЛ-тест, однако возникают трудности с пробоподготовкой и воспроизводимостью результатов из-за мешающих определению глюканов и других молекул, содержание которых в крови пациентов значительно варьирует. Для решения задач клинической диагностики оптимальными являются тесты ЕАА и МАЧ-Endotox. Первый из них, хотя и является перспективным биомаркером наличия бактериальной инфекции, включая сепсис, не позволяет напрямую определять содержание ЛПС грамотрицательных бактерий. МАЧ-Endotox является полуквантитетным методом, но он имеет свои преимущества ввиду простоты и скорости определения БЭ. Таким образом, на данный момент нет универсального теста, пригодного для решения задач детектирования БЭ. Особенно неоднозначно пока определение содержания БЭ в крови как диагностического критерия септических осложнений критических состояний.

Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки РФ (Соглашение о предоставлении субсидии № 14.577.21.0165 от 28.10.2015 г. в рамках ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014–2020 гг.»).

Литература

1. Vaara M., Nikaido H. Outer membrane organization. In: Rietschel E.T. (ed.). Handbook of endotoxin. Amsterdam: Elsevier; 1984: 1–45.
2. Bone R.C. Gram-negative sepsis: a dilemma of modern medicine. *Clin. Microbiol. Rev.* 1993; 6 (1): 57–68. DOI: 10.1128/cmr.6.1.57. PMID: 8457980
3. Raetz C.R.H. Biochemistry of endotoxins. *Annu. Rev. Biochem.* 1990; 59: 129–170. DOI: 10.1146/annurev.bi.59.070190.001021. PMID: 1695830
4. Wilkinson S.G. Bacterial lipopolysaccharides—themes and variations. *Prog. Lipid. Res.* 1996; 35 (3): 283–343. DOI: 10.1016/S0163-7827(96)00004-5. PMID: 9082453
5. Magalhães P.O., Lopes A.M., Mazzola P.G., Rangel-Yagui C., Penna T.C., Pessoa A.Jr. Methods of endotoxin removal from biological preparations: a review. *J. Pharm. Pharm. Sci.* 2007; 10 (3): 388–404. PMID: 17727802
6. Caroff M., Karibian D. Structure of bacterial lipopolysaccharides. *Carbohydr. Res.* 2003; 338 (23): 2431–2447. DOI: 10.1016/j.carres.2003.07.010. PMID: 14670707
7. Raetz C.R.H. Escherichia coli and Salmonella. In: Niedhardt F.C., Curtiss I.I.R., Ingraham J.L., Lin E.C.C., Low K.B.Jr., Magasanik B., Reznikoff W.S., Riley M., Schaechter M., Umberger H.E. (eds.). Cellular and molecular biology. Washington, D.C.: American Society for Microbiology; 1996: 1035–1063.
8. Копицына М.Н., Морозов А.С., Бессонов И.В., Писарев В.М., Лобак ова Е.С., Бухарин О.В. Лиганды для селективного удаления бактериальных эндотоксинов грамотрицательных бактерий. *Журн. микробиол.* 2017; 3: 115–126.
9. Морозов А.С., Бессонов И.В., Нурждина А.В., Писарев В.М. Сорбенты для экстракорпорального удаления токсических веществ и молекул с нежелательной биологической активностью (обзор). *Общая реаниматология.* 2016; 12 (6): 82–107. DOI: 10.15360/1813-9779-2016-6-82-107
10. Anisimova N.Yu. Immunological pathogenesis of sepsis and use of hemosorption for treatment of cancer patients with sepsis. N.Y.: Nova Science Publishers Inc.; 2014: 57–114.
11. Williams K.L. (ed.). Endotoxins: pyrogens, LAL testing, and depyrogenation. 2nd ed. N.Y.: Marcel Dekker Inc.; 2001.

References

1. Vaara M., Nikaido H. Outer membrane organization. In: Rietschel E.T. (ed.). Handbook of endotoxin. Amsterdam: Elsevier; 1984: 1–45.
2. Bone R.C. Gram-negative sepsis: a dilemma of modern medicine. *Clin. Microbiol. Rev.* 1993; 6 (1): 57–68. DOI: 10.1128/cmr.6.1.57. PMID: 8457980
3. Raetz C.R.H. Biochemistry of endotoxins. *Annu. Rev. Biochem.* 1990; 59: 129–170. DOI: 10.1146/annurev.bi.59.070190.001021. PMID: 1695830
4. Wilkinson S.G. Bacterial lipopolysaccharides—themes and variations. *Prog. Lipid. Res.* 1996; 35 (3): 283–343. DOI: 10.1016/S0163-7827(96)00004-5. PMID: 9082453
5. Magalhães P.O., Lopes A.M., Mazzola P.G., Rangel-Yagui C., Penna T.C., Pessoa A.Jr. Methods of endotoxin removal from biological preparations: a review. *J. Pharm. Pharm. Sci.* 2007; 10 (3): 388–404. PMID: 17727802
6. Caroff M., Karibian D. Structure of bacterial lipopolysaccharides. *Carbohydr. Res.* 2003; 338 (23): 2431–2447. DOI: 10.1016/j.carres.2003.07.010. PMID: 14670707
7. Raetz C.R.H. Escherichia coli and Salmonella. In: Niedhardt F.C., Curtiss I.I.R., Ingraham J.L., Lin E.C.C., Low K.B.Jr., Magasanik B., Reznikoff W.S., Riley M., Schaechter M., Umberger H.E. (eds.). Cellular and molecular biology. Washington, D.C.: American Society for Microbiology; 1996: 1035–1063.
8. Kopytsyna M.N., Morozov A.S., Bessonov I.V., Pisarev V.M., Lobakova E.S., Bukharin O.V. Ligands for selective removal of bacterial endotoxins from gram-negative bacteria. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii.* 2017; 3: 115–126. [In Russ.]
9. Morozov A.S., Bessonov I.V., Nuzhdina A.V., Pisarev V.M. Sorbents for extracorporeal removal of toxic substances and molecules with adverse biological activity (review). *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology.* 2016; 12 (6): 82–107. DOI: 10.15360/1813-9779-2016-6-82-107. [In Russ., In Engl.]
10. Anisimova N.Yu. Immunological pathogenesis of sepsis and use of hemosorption for treatment of cancer patients with sepsis. N.Y.: Nova Science Publishers Inc.; 2014: 57–114.
11. Williams K.L. (ed.). Endotoxins: pyrogens, LAL testing, and depyrogenation. 2nd ed. N.Y.: Marcel Dekker Inc.; 2001.

12. Cooper J.F., Levin J., Wagner H.N.J. Quantitative comparison of *in-vitro* and *in-vivo* methods for the detection of endotoxin. *J. Lab. Clin. Med.* 1971; 78 (1): 138–148. PMID: 4936365
13. http://bio.lonzac.com/uploads/tx_mwaxmarketingmaterial/Lonza_ManualsProductInstructions_PyroGene_Product_Insert_0005.pdf
14. Grallert H., Leopoldsdorfer S., Schuett M., Kurze P., Buchberger B. EndoLISA®: a novel and reliable method for endotoxin detection. *Nature methods. Application notes.* 2011; 3-5.
15. <http://www.hyglos.de/en/products-services/products/endotoxin-detection.html> <http://www.hyglos.de/en/products-services/products/endotoxin-detection.html>
16. Foster D.M., Derzko A.N., Keffer J.H. Can sepsis be better defined? Contribution of a novel assay for endotoxin. *Clin. Microbiol. Newslet.* 2004; 26 (3): 17-21. DOI: 10.1016/S0196-4399(04)90010-4
17. Ниязматов А.А., Григорянц Р.Г., Самсонова Н.Н., Климович Л.Г., Фокина Н.С., Осипов К.К. Выявление эндотоксина грамотрицательных бактерий с помощью диагностических наборов «МАЧ-endotox spp.» в компонентах донорской крови и его сравнение с уровнем интерлейкинов. *Бюл. НИ ЦСХ им. А.Н. Бакулева РАМН. Сердечно-сосудистые заболевания.* 2011; 12 (6): 79-83.
18. Mashkovsky M.D., Babayan E.A., Oboimakova A.N., Bulaev V.M., Severtsev V.A., Lyubimov B.I., Sokolov S.D., Tentsova A.I. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье. Вып. 2. М.: Медицина; 1990: 387.
19. Park C.Y., Jung S.H., Bak J.P., Lee S.S., Rhee D.K. Comparison of the rabbit pyrogen test and Limulus amoebocyte lysate (LAL) assay for endotoxin in hepatitis B vaccines and the effect of aluminum hydroxide. *Biologicals.* 2005; 33 (3): 145-151. DOI: 10.1016/j.biologicals.2005.04.002. PMID: 16055344
20. Levin J., Bang F.B. Clottable protein in Limulus, its localization and kinetics of its coagulation by endotoxin. *Thromb Diath. Haemorrh.* 1968; 19 (1): 186-197. PMID: 5690028
21. Piervincenzi R.T. USP XXIV. United States Pharmacopeia Convention. Rockville MD: United States Pharmacopeia; 2000: 157.
22. Hurley J.C. Endotoxemia: methods of detection and clinical correlates. *Clin. Microbiol. Rev.* 1995; 8 (2): 268–292. PMID: 7621402
23. Ситников А.Г. ЛАЛ–тест. Современные подходы к определению пирогенности. М.: Москва; 1997: 96.
24. Guideline on validation of the Limulus Amebocyte Lysate test as an End-Product Endotoxin test for human and animal parenteral drugs, biological products, and medical devices. Rockville MD: US Food and Drug Administration; 1987: 54.
25. Interim guidance for human, veterinary drug products, and biologicals: kinetic lal techniques. Rockville MD: US Food and Drug Administration; 1991: 10.
26. Warren H.S., Novitsky T.J., Ketchum P.A., Roslansky P.F., Kania S., Siber G.R. Neutralization of bacterial lipopolysaccharides by human plasma. *J. Clin. Microbiol.* 1985; 22 (4): 590-595. PMID: 3908471
27. Ketchum P.A., Novitsky T.J. Assay of endotoxin by Limulus Amebocyte Lysate. Septic shock methods and protocols. Methods in molecular medicine. Vol. 36. NY: Humana Press; 2000: 3-12.
28. Fields M. Testing blood samples for endotoxin. *LAL Update.* 2006; 23 (2): 1-3.
29. <http://www.lonzac.com/products-services/pharma-biotech/endotoxin-detection/endotoxin-detection-assays/recombinant-factor-c-assay/pyrogene-overview.aspx>
30. <http://www.hyglos.de/en/products-services/products/endotoxin-detection/endozymer.htm>
31. <http://www.hyglos.de/en/products-services/products/endotoxin-detection/endolisar.html>
32. Marshall J.C., Walker P.M., Foster D.M., Harris D.M., Ribeiro M., Paice J., Romaschin A.D., Derzko A.N. Measurement of endotoxin activity in critically ill patients using whole blood neutrophil dependent chemiluminescence. *Crit. Care.* 2002; 6 (4): 342-348. DOI: 10.1186/cc1522. PMID: 12225611
33. Romaschin A.D., Harris D.M., Ribeiro M., Paice J., Foster D.M., Walker P.M., Marshall J.C. A rapid assay of endotoxin in whole blood using autologous neutrophil dependent chemiluminescence. *J. Immunol. Methods.* 1998; 212 (2): 169-185. DOI: 10.1016/S0022-1759(98)00003-9. PMID: 9672205
34. Romaschin A.D., Klein D.J., Marshall J.C. Bench-to-bedside review: clinical experience with the endotoxin activity assay. *Crit. Care.* 2012; 16 (6): 248-257. DOI: 10.1186/cc11495. PMID: 23206992
35. Matsumoto N., Takahashi G., Kojika M., Suzuki Ya., Inoue Yo., Inada K., Endo Sh. Interleukin-8 induces an elevation in the endotoxin activity assay (EAA) level: does the EAA truly measure the endotoxin level? *J. Infect. Chemother.* 2013; 19 (5): 825–832. DOI: 10.1007/s10156-013-0567-z. PMID: 23460381
36. Ishihata K., Kakihana Ya., Yasuda T., Imabayashi T., Nakamura N. Newly developed endotoxin measurement method (the Endotoxin Ac-
12. Cooper J.F., Levin J., Wagner H.N.J. Quantitative comparison of *in-vitro* and *in-vivo* methods for the detection of endotoxin. *J. Lab. Clin. Med.* 1971; 78 (1): 138–148. PMID: 4936365
13. http://bio.lonzac.com/uploads/tx_mwaxmarketingmaterial/Lonza_ManualsProductInstructions_PyroGene_Product_Insert_0005.pdf
14. Grallert H., Leopoldsdorfer S., Schuett M., Kurze P., Buchberger B. EndoLISA®: a novel and reliable method for endotoxin detection. *Nature methods. Application notes.* 2011; 3-5.
15. <http://www.hyglos.de/en/products-services/products/endotoxin-detection.html> <http://www.hyglos.de/en/products-services/products/endotoxin-detection.html>
16. Foster D.M., Derzko A.N., Keffer J.H. Can sepsis be better defined? Contribution of a novel assay for endotoxin. *Clin. Microbiol. Newslet.* 2004; 26 (3): 17-21. DOI: 10.1016/S0196-4399(04)90010-4
17. Niyazmatov A.A., Grigoryants R.G., Samsonova N.N., Klimovich L.G., Fokina N.S., Osilov K.K. Detection of endotoxin of Gram-negative bacteria using diagnostic kits «MACH-endotox spp.» in components of the donor blood and its comparison with the level of interleukins. *Byulleten NTs SSKh Imeni A.N.Bakuleva RAMN. Serdechno-Sosudistye Zabolevaniya.* 2011; 12 (6): 79-83. [In Russ.]
18. Mashkovsky M.D., Babayan E.A., Oboimakova A.N., Bulaev V.M., Severtsev V.A., Lyubimov B.I., Sokolov S.D., Tentsova A.I. General methods of analysis. Medicinal plant raw materials. Issue 2. Moscow: Meditsina Publishers; 1990: 387. [In Russ.]
19. Park C.Y., Jung S.H., Bak J.P., Lee S.S., Rhee D.K. Comparison of the rabbit pyrogen test and Limulus amoebocyte lysate (LAL) assay for endotoxin in hepatitis B vaccines and the effect of aluminum hydroxide. *Biologicals.* 2005; 33 (3): 145-151. DOI: 10.1016/j.biologicals.2005.04.002. PMID: 16055344
20. Levin J., Bang F.B. Clottable protein in Limulus, its localization and kinetics of its coagulation by endotoxin. *Thromb Diath. Haemorrh.* 1968; 19 (1): 186-197. PMID: 5690028
21. Piervincenzi R.T. USP XXIV. United States Pharmacopeia Convention. Rockville MD: United States Pharmacopeia; 2000: 157.
22. Hurley J.C. Endotoxemia: methods of detection and clinical correlates. *Clin. Microbiol. Rev.* 1995; 8 (2): 268–292. PMID: 7621402
23. Sitenkov A.G. LAL-test. Modern approaches to pyrogenicity detection. Moscow: Moscow Publishers; 1997: 96. [In Russ.]
24. Guideline on validation of the Limulus Amebocyte Lysate test as an End-Product Endotoxin test for human and animal parenteral drugs, biological products, and medical devices. Rockville MD: US Food and Drug Administration; 1987: 54.
25. Interim guidance for human, veterinary drug products, and biologicals: kinetic lal techniques. Rockville MD: US Food and Drug Administration; 1991: 10.
26. Warren H.S., Novitsky T.J., Ketchum P.A., Roslansky P.F., Kania S., Siber G.R. Neutralization of bacterial lipopolysaccharides by human plasma. *J. Clin. Microbiol.* 1985; 22 (4): 590-595. PMID: 3908471
27. Ketchum P.A., Novitsky T.J. Assay of endotoxin by Limulus Amebocyte Lysate. Septic shock methods and protocols. Methods in molecular medicine. Vol. 36. NY: Humana Press; 2000: 3-12.
28. Fields M. Testing blood samples for endotoxin. *LAL Update.* 2006; 23 (2): 1-3.
29. <http://www.lonzac.com/products-services/pharma-biotech/endotoxin-detection/endotoxin-detection-assays/recombinant-factor-c-assay/pyrogene-overview.aspx>
30. <http://www.hyglos.de/en/products-services/products/endotoxin-detection/endozymer.htm>
31. <http://www.hyglos.de/en/products-services/products/endotoxin-detection/endolisar.html>
32. Marshall J.C., Walker P.M., Foster D.M., Harris D.M., Ribeiro M., Paice J., Romaschin A.D., Derzko A.N. Measurement of endotoxin activity in critically ill patients using whole blood neutrophil dependent chemiluminescence. *Crit. Care.* 2002; 6 (4): 342-348. DOI: 10.1186/cc1522. PMID: 12225611
33. Romaschin A.D., Harris D.M., Ribeiro M., Paice J., Foster D.M., Walker P.M., Marshall J.C. A rapid assay of endotoxin in whole blood using autologous neutrophil dependent chemiluminescence. *J. Immunol. Methods.* 1998; 212 (2): 169-185. DOI: 10.1016/S0022-1759(98)00003-9. PMID: 9672205
34. Romaschin A.D., Klein D.J., Marshall J.C. Bench-to-bedside review: clinical experience with the endotoxin activity assay. *Crit. Care.* 2012; 16 (6): 248-257. DOI: 10.1186/cc11495. PMID: 23206992
35. Matsumoto N., Takahashi G., Kojika M., Suzuki Ya., Inoue Yo., Inada K., Endo Sh. Interleukin-8 induces an elevation in the endotoxin activity assay (EAA) level: does the EAA truly measure the endotoxin level? *J. Infect. Chemother.* 2013; 19 (5): 825–832. DOI: 10.1007/s10156-013-0567-z. PMID: 23460381
36. Ishihata K., Kakihana Ya., Yasuda T., Imabayashi T., Nakamura N. Newly developed endotoxin measurement method (the Endotoxin Ac-

Reviews

- tivity Assay) may reflect the severity of sepsis. *Open J. Pathol.* 2013; 3: 1-6. DOI: 10.4236/ojpathology.2013.31001
37. Sato M., Matsuyama R., Kadokura T., Mori R., Kumamoto T., Nojiri K., Taniguchi K., Takeda K., Kubota K., Tanaka K., Endo I. Severity and prognostic assessment of the endotoxin activity assay in biliary tract infection. *J. Hepatobiliary Pancreat. Sci.* 2014; 21 (2): 120–127. DOI: 10.1002/jhbp.10. PMID: 23798326
38. Yaguchi A., Yuzawa J., Klein D.J., Takeda M., Harada T. Combining intermediate levels of the Endotoxin Activity Assay (EAA) with other biomarkers in the assessment of patients with sepsis: results of an observational study. *Crit. Care.* 2012; 16 (3): R88. DOI: 10.1186/cc11350. PMID: 22607642
39. Cross A. Endotoxin: back to the future. *Crit. Care Med.* 2016; 44 (2): 450–451. DOI: 10.1097/CCM.0000000000001440. PMID: 26771793
40. Jaramillo-Bustamante J.C., Marín-Agudelo A., Fernández-Laverde M., Bareño-Silva J. Epidemiology of sepsis in pediatrics: first Colombian multicenter pilot survey. *Crit. Care.* 2010; 14 (Suppl 2): P1. DOI: 10.1186/cc9104
41. Yaroustovsky M., Plyushch M., Popov D., Samsonova N., Abramyan M., Popok Z., Krotenko N. Prognostic value of endotoxin activity assay in patients with severe sepsis after cardiac surgery. *J. Inflamm.* 2013; 10 (1): 8. DOI: 10.1186/1476-9255-10-8. PMID: 23510603
42. Ярустовский М.Б., Самсонова Н.Н., Роговская Е.А., Климович Л.Г., Плющ М.Г., Абрамян М.В., Кротенко Н.П., Ниязатов А.А. Экспресс-диагностика уровня эндотоксемии в послеоперационном периоде у кардиохирургических больных. *Анестезиология и реаниматология.* 2013; 3: 25–29. PMID: 24340992
- tivity Assay) may reflect the severity of sepsis. *Open J. Pathol.* 2013; 3: 1-6. DOI: 10.4236/ojpathology.2013.31001
37. Sato M., Matsuyama R., Kadokura T., Mori R., Kumamoto T., Nojiri K., Taniguchi K., Takeda K., Kubota K., Tanaka K., Endo I. Severity and prognostic assessment of the endotoxin activity assay in biliary tract infection. *J. Hepatobiliary Pancreat. Sci.* 2014; 21 (2): 120–127. DOI: 10.1002/jhbp.10. PMID: 23798326
38. Yaguchi A., Yuzawa J., Klein D.J., Takeda M., Harada T. Combining intermediate levels of the Endotoxin Activity Assay (EAA) with other biomarkers in the assessment of patients with sepsis: results of an observational study. *Crit. Care.* 2012; 16 (3): R88. DOI: 10.1186/cc11350. PMID: 22607642
39. Cross A. Endotoxin: back to the future. *Crit. Care Med.* 2016; 44 (2): 450–451. DOI: 10.1097/CCM.0000000000001440. PMID: 26771793
40. Jaramillo-Bustamante J.C., Marín-Agudelo A., Fernández-Laverde M., Bareño-Silva J. Epidemiology of sepsis in pediatrics: first Colombian multicenter pilot survey. *Crit. Care.* 2010; 14 (Suppl 2): P1. DOI: 10.1186/cc9104
41. Yaroustovsky M., Plyushch M., Popov D., Samsonova N., Abramyan M., Popok Z., Krotenko N. Prognostic value of endotoxin activity assay in patients with severe sepsis after cardiac surgery. *J. Inflamm.* 2013; 10 (1): 8. DOI: 10.1186/1476-9255-10-8. PMID: 23510603
42. Ярустовский М.Б., Самсонова Н.Н., Роговская Е.А., Климович Л.Г., Плющ М.Г., Абрамян М.В., Кротенко Н.П., Ниязатов А.А. Экспресс-диагностика уровня эндотоксемии в послеоперационном периоде у кардиохирургических больных. *Анестезиология и реаниматология.* 2013; 3: 25–29. PMID: 24340992

Поступила 19.06.17

Received 19.06.17

ОБЩАЯ РЕАНИМАТОЛОГИЯ

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

Тематика журнала: патогенез, клиника, диагностика, лечение, профилактика и патологическая анатомия критических, терминальных и постреанимационных состояний; оказание догоспитальной помощи при критических состояниях; обучение населения и медицинского персонала приемам оказания неотложной помощи при критических состояниях; оптимизация работы ОРИТ; юридические и этические вопросы в области анестезиологии-реаниматологии.

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

ПОДПИСКА

В любом почтовом отделении связи по каталогу «Книга-Сервис»

• индекс 46338 — для индивидуальных подписчиков

Сепсис-ассоциированная энцефалопатия (обзор)

Н. В. Белобородова, И. В. Острова

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

Sepsis-Associated Encephalopathy (Review)

Natalia B. Beloborodova, Irina V. Ostrova

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

Результаты международных исследований указывают на ежегодный рост частоты и актуальности сепсиса в реанимационных отделениях. Одним из наиболее ранних признаков, а также частым осложнением сепсиса является дисфункция мозга или так называемая сепсис-ассоциированная энцефалопатия (SAE). До 70% больных с сепсисом имеют симптомы энцефалопатии [1, 2]. Особое беспокойство вызывает факт прямой связи SAE с повышенной летальностью, а среди выживших после сепсиса более половины имеют длительные когнитивные расстройства, нарушения памяти и концентрации внимания [3–5]. Диагностика дисфункции мозга при сепсисе часто затруднена из-за отсутствия специфических биомаркеров, а также в связи с частым применением седативных препаратов у критических больных. Клинические проявления SAE разнообразны, могут варьировать от простого недомогания и недостатка концентрации внимания до глубокой комы. В литературе обсуждаются предполагаемые механизмы формирования и развития септической энцефалопатии, такие как окислительный стресс, воспаление, митохондриальная и эндотелиальная дисфункция, увеличение проницаемости гематоэнцефалического барьера, нарушения макро- и микроциркуляции, изменение нейротрансмиссии, активация микроглии. Отсутствие четких данных и единого мнения о происхождении и механизмах SAE в настоящее время не позволяет прогнозировать ее развитие и проводить специальную терапию. В обзоре обсуждаются современные представления о причинах развития септической энцефалопатии, методах диагностики, рассмотрены основные клинические проявления, ключевые медиаторы, патофизиологические механизмы. Предложена гипотеза о роли ароматических микробных метаболитов (АММ) фенольной и индольной природы — продуктов бактериальной биodeградации тирозина и триптофана — в развитии дисфункции мозга, намечены направления поисковых исследований, открывающие перспективы в диагностике и новые подходы в лечении SAE.

Ключевые слова: сепсис; мозг; делирий; энцефалопатия; биомаркеры

International studies demonstrate an annual increase in the frequency and impact of sepsis in intensive care units (ICU). Cerebral dysfunction, or so-called sepsis-associated encephalopathy (SAE), is one of the earliest signs of sepsis, as well as its common complication. Up to 70% of patients with sepsis have symptoms of encephalopathy [1, 2]. A direct link between the SAE and an increased mortality rate is a major concern; more than a half of sepsis survivors experience continuous memory and concentration impairment [3–5]. Diagnosis of the cerebral dysfunction in sepsis is often difficult because of lack of specific biomarkers and frequent prescription of sedatives to critically ill patients. Clinical manifestations of SAE are diverse, may vary from simple malaise and lack of concentration to deep coma. The literature discusses probable mechanisms of formation and development of septic encephalopathy, such as oxidative stress, inflammation, mitochondrial and endothelial dysfunction, increased permeability of the blood-brain barrier, impairment of macro- and microcirculation, changes in neurotransmission, activation of microglia. The lack of clear data and consensus about the etiology and mechanisms of SAE at present does not permit predicting its development and prescribing a specific therapy. The review discusses current understanding of the causes of septic encephalopathy, methods of diagnosis, the main clinical manifestations, key mediators, and pathophysiological mechanisms. A hypothesis is proposed that poses a contribution of aromatic microbial metabolites (AMM) of phenol and indole nature (products of bacterial biodegradation of tyrosine and tryptophan) to the development of brain dysfunction. The fields of exploratory studies, which might open perspectives in the diagnosis, as well as new approaches in the treatment of SAE are outlined.

Keywords: sepsis; brain; delirium; encephalopathy; biomarkers

DOI:10.15360/1813-9779-2017-5-121-139

Адрес для корреспонденции:

Наталья Белобородова
E-mail: nvbeloborodova@yandex.ru

Correspondence to:

Natalia Beloborodova
E-mail: nvbeloborodova@yandex.ru

Введение

В XXI веке в реанимационных отделениях, оснащенных многокомпонентным мониторингом, в условиях использования мощных противомикробных препаратов и высокотехнологичных органозамещающих технологий, ведущей причиной летальности больных остается сепсис [6–8]. Одним из наиболее частых и грозных осложнений при сепсисе является сепсис-ассоциированная энцефалопатия (SAE), также именуемая септической энцефалопатией, сепсис-индуцированной энцефалопатией и сепсис-ассоциированным делирием [9, 10]. SAE — это диффузное или мультифокальное нарушение функций головного мозга, развивающееся у больных с инфекцией, сопровождающееся системным воспалительным ответом, но без клинических и/или лабораторных доказательств прямого инфицирования мозга [11]. Клиническое значение нарушения сознания как раннее проявление септического состояния трудно переоценить. Не случайно, согласно последнему международному консенсусу определения сепсиса и септического шока (Sepsis-3), этот симптом введен в состав новой клинической шкалы qSOFA в числе одного из трех важнейших критериев сепсиса, наряду с артериальной гипотензией и тахипноей [12]. Несмотря на отсутствие точных общепринятых клинических или биологических маркеров повреждения мозга, дисфункция мозга, связанная с сепсисом, признана как основная причина делирия или других изменений ментального статуса у больных в критическом состоянии [2]. Ключевая роль мозга при сепсисе обусловлена тем, что с одной стороны, он является мишенью для воздействия бактериальных и воспалительных факторов, а с другой стороны регулирует иммунную систему [13].

К сожалению, проблеме SAE уделяется недостаточно внимания. Между тем, по разным данным, до 70% больных с сепсисом имеют симптомы энцефалопатии [1]. При этом выявляемость SAE во многом зависит от методов оценки функции мозга. Например, использование электроэнцефалографии (ЭЭГ) значительно повышает диагностирование этого состояния [14].

Смертность среди септических больных прямо связана с выраженностью SAE [1, 15], поэтому очень важно как можно раньше выявить признаки поражения мозга. У больных в критическом состоянии разного генеза наиболее ранним проявлением SAE является нарушение сознания [15], что должно служить основанием для поиска источника инфекции и начала соответствующей терапии. В настоящее время не существует четких лабораторных критериев для SAE. Это могут быть изменения электроэнцефалограммы и соматосенсорных вызванных потенциалов, увеличе-

Introduction

In the 21st century, sepsis remains the leading cause of mortality in intensive care units (ICU) equipped with multi-component monitoring, despite the use of potent antimicrobial agents and hi-tech organ-replacement technologies [6–8]. Sepsis-associated encephalopathy (SAE), also known as septic encephalopathy, sepsis-induced encephalopathy and sepsis-associated delirium is one of the most frequent and severe complications of sepsis [9, 10]. SAE is diffuse or multifocal brain dysfunction developing in patients with infection associated with a systemic inflammatory response, but without clinical and/or laboratory evidence of a direct brain infection [11]. The clinical significance of the loss of consciousness as an early manifestation of septic condition cannot be overestimated. It is not a mere coincidence that according to the latest international consensus on the definition of sepsis and septic shock (Sepsis-3), this symptom is introduced into a new clinical scale qSOFA as one of three most important criteria for sepsis, along with arterial hypotension and tachypnea [12]. Despite the lack of precise, widely accepted clinical or biological markers of brain damage, the sepsis-associated brain dysfunction is recognized as the major cause of delirium or other changes in the mental status in critically ill patients [2]. The key role of the brain in sepsis is due to the fact that, on the one hand, it is a target for the effects of bacterial and inflammatory factors and, on the other hand, regulates the immune system [13].

Unfortunately, insufficient attention is paid to the SAE problem. Meanwhile, according to various estimates, up to 70% of patients with sepsis have symptoms of encephalopathy [1]. At that, detection SAE depends largely on methods for assessing brain functions. For example, the use of electroencephalography (EEG) significantly improves the diagnosis of this condition [14].

The mortality rate in septic patients is directly related to the severity of SAE [1, 15], so it is very important to identify early signs of brain lesions. In patients with critical illness of various etiology, impairment of consciousness is the earliest manifestation of SAE [15], which should serve the basis to search for the source of infection and the initiation of an appropriate therapy. There are currently no clear laboratory criteria for SAE. They may include abnormalities in the electroencephalogram and somatosensory evoked potentials, increased serum concentrations of some biomarkers (in particular, NSE, S-100 β protein), structural disorders detected using neuroimaging methods. But none of these methods is specific. SAE remains a «diagnosis by exclusion» and can be diagnosed only when other causes (infectious, metabolic and toxic) are ruled out [2].

Despite the fact, SAE is considered a reversible state, cognitive disorders, such as impaired memory,

ние сывороточной концентрации некоторых биомаркеров (в частности, NSE, белок S-100 β), структурные нарушения, выявляемые с помощью методов нейровизуализации. Но ни один из этих методов не является специфичным. SAE остается диагнозом исключения и может быть диагностирован только после того, как другие причины (инфекционные, метаболические и токсические) будут исключены [2].

Несмотря на то, что это SAE считается обратимым состоянием, у больных, перенесших сепсис, длительно (более года) сохраняются когнитивные расстройства, такие как нарушения памяти, внимания и концентрации [3, 5]. Этот факт дает серьезное основание считать SAE важной социальной проблемой.

Таким образом, проблема исследования SAE представляется чрезвычайно актуальной. Однако диагностика, механизмы возникновения, а также подходы к лечению этого состояния до сих пор остаются неясными.

Диагностика септической энцефалопатии.

Основной проблемой в настоящее время остается невозможность правильно идентифицировать признаки SAE. Связано это с тем, что большинство пациентов отделений интенсивной терапии находятся в состоянии медикаментозной седации, что не позволяет обнаружить у них нарушения функций головного мозга [1]. У таких больных сложно произвести оценку когнитивной дисфункции на основании клинических, электрофизиологических и биохимических данных. Тем не менее, для диагностики SAE в клинике используют следующие шкалы: The Confusion Assessment Method for the Intensive Care Medicine (CAM-ICU), Adaption to the Intensive Care Environment, Intensive Care Delirium Screening Checklist (ICDSC), шкалы ком, такие как FOUR (Full Outline of UnResponsiveness) или GCS (Glasgo Coma Scale) [10, 15, 16]. Однако все эти шкалы оцениваются как недостаточно чувствительные для выявления SAE [2, 10].

Для получения дополнительной информации о ментальном статусе пациента используют метод электроэнцефалографии. Преимущество данного метода состоит в том, что исследования можно проводить у больных, получающих седативные препараты. Показано, что нарушения, выявляемые на ЭЭГ, коррелируют с тяжестью SAE [17, 18].

В диагностике SAE также используются методы нейровизуализации, такие как компьютерная томография (КТ) головного мозга и магнитно-резонансная томография (МРТ). Для выявления структурных повреждений головного мозга наиболее часто применяется КТ мозга из-за простоты и удобства использования. Однако МРТ головного мозга позволяет получить существенно больше информации, в том числе, о первичных

attention and concentration, persist for a long period of time (more than a year) in patients with a history of sepsis [3, 5]. This fact provides serious reasons to consider SAE an important social problem.

Therefore, the problem of SAE studies seems extremely urgent. However, the diagnosis, mechanisms of development, and approaches to treatment of this condition still remain unclear.

Diagnosis of septic encephalopathy. The inability to correctly identify signs of SAE remains the main problem at present. This is due to the fact that the majority of intensive care patients are under drug sedation that does not allow to detect brain dysfunctions [1]. In such patients, it is difficult to assess the cognitive dysfunction based on clinical, electrophysiological and biochemical data. However, the following scales are used for the diagnosis of SAE in the clinic: The Confusion Assessment Method for the Intensive Care Medicine (CAM-ICU), Adaption to the Intensive Care Environment, Intensive Care Delirium Screening Checklist (ICDSC), coma scales, such as FOUR (Full Outline of UnResponsiveness) or GCS (Glasgo Coma Scale) [10, 15, 16]. However, all of these scales are considered insufficiently sensitive for detection of SAE [2, 10].

Electroencephalography is used to obtain additional information about patient's mental status. The advantage of this method is that you may carry out the test in patients receiving sedation. It has been demonstrated that abnormalities detected by EEG correlate with the severity of the SAE [17, 18].

Neuroimaging techniques such as computed tomography (CT) and magnetic resonance imaging (MRI) are also used in the diagnosis of SAE. To identify the structural damage of the brain, brain CT imaging is used most often due to the simplicity and ease of use of the procedure. However, the brain MRI permits to obtain significantly more information, including the primary mechanisms of sepsis associated with a brain injury (e.g., cytotoxic or vasogenic edema) or with the development of delayed encephalopathy. MRI helps identify brain infarction, leukoencephalopathy, vascular edema. However, these symptoms are not specific to SAE [19]. In a preliminary study, using this method, Sharshar(2007) found that white matter impairment was typical for sepsis-induced brain dysfunction [20].

It has been demonstrated that the MRI along with the EEG and the evoked potential method are very important for predicting coma [21]. In addition, new generation imaging techniques such as magnetic resonance spectroscopy, diffusion tensor imaging, positron emission computed tomography, as well as experimental methods of image processing are being developed. These tools provide new opportunities for the early detection of SAE and pathophysiological processes determining it. The state-of-the-art achievements in this field are discussed in detail in

механизмах сепсиса, связанных с травмой головного мозга (например, цитотоксический или вазогенный отек), или с развитием отдаленной энцефалопатии. С помощью МРТ можно выявить инфаркт мозга, лейкоэнцефалопатию, сосудистый отек. Однако эти признаки не являются специфичными для SAE [19]. В предварительном исследовании Sharshar (2007) с помощью данного метода было установлено, что для сепсис-индуцированной дисфункции мозга характерны повреждения белого вещества [20].

Показано, что метод МРТ, наряду с ЭЭГ и методом вызванных потенциалов, очень важен для прогнозирования комы [21]. Кроме того, разрабатываются методы визуализации нового поколения, такие как магнитно-резонансная спектроскопия, диффузионная тензорная томография, позитронно-эмиссионная компьютерная томография, а также методы экспериментальной обработки изображений. Эти инструменты предоставляют новые возможности для раннего выявления SAE и обуславливающих ее патофизиологических процессов. Последние достижения в этой области подробно рассматриваются в обзоре Stubbs (2013) [22]. Авторами предложены способы использования новых технологий визуализации для улучшения диагностики SAE.

Для мониторинга мозгового кровотока используют транскраниальную Doppler сонографию [21]. Нарушения сосудистой ауторегуляции, особенно на ранних стадиях SAE, указывают на то, что гемодинамические изменения играют существенную роль в ее течении [23, 24]. Было установлено [25], что ранние проявления септической энцефалопатии по типу гипоактивного делирия сочетаются с выраженными нарушениями центральной регуляции гемодинамики. При этом наиболее яркие различия получены в параметрах, характеризующих пульсацию периферических сосудов. Однако доплеровская сонография не может служить единственным диагностическим инструментом SAE, т.к. в некоторых случаях у больных с признаками SAE изменений перфузии мозга не обнаруживают [23, 24].

Еще одним диагностическим инструментом может служить выявление качественных и количественных изменений специфических веществ в ткани или крови, что может улучшить прогнозирование, помочь при выборе терапии, а также способствует разработке подходящих научных моделей для изучения механизмов болезни. В качестве перспективных маркеров септического процесса рассматривают белок S-100 β , нейрон-специфическую енолазу (NSE), прокальцитонин, интерлейкин-6 и др. Между тем, работы по исследованию диагностической значимости биомаркеров SAE единичны, в них особое внимание уделяется белку S100 β и NSE [19, 26, 27].

Stubbs' review (2013) [22]. The authors proposed ways to use new imaging technologies to improve diagnosis of SAE.

Transcranial Doppler Sonography is used for monitoring of the cerebral blood flow [21]. The impairment of vascular autoregulation, especially at the early stages of SAE, indicate that hemodynamic changes mostly contribute to its course [23, 24]. It was found [25] that early manifestations of septic encephalopathy in the form of hypoactive delirium were commonly associated with severe impairment of the central hemodynamic regulation. At that, the most striking differences were observed between the parameters characterizing the peripheral vascular pulsation. However, the Doppler sonography may not be the only diagnostic tool for SAE, because in some cases, in patients with signs of brain perfusion changes, SAE has not been observed [23, 24].

Identification of qualitative and quantitative changes of specific substances in the blood or tissue may serve as another diagnostic tool, which can improve prediction, help in choosing therapy, and also contributes to the development of appropriate scientific models to study disease mechanisms. S-100 β protein, neuron-specific enolase (NSE), procalcitonin, interleukin-6, etc. are considered promising markers of the septic process. Meanwhile, studies of diagnostic significance of biomarkers SAE are not numerous, and special attention is paid to S100 β protein and NSE [19, 26, 27].

S100 is a group acidic calcium-binding proteins some of them unique for the nervous tissue. Most S100 proteins (up to 85–90% of the total content in the nervous tissue) are concentrated in astrocytes, 10–15% of proteins are located in neurons, the minimum number of proteins is found in oligodendrocytes. S100 proteins are considered to be one of the key molecular components of complex intracellular systems providing functional homeostasis of the brain cells. They are synthesized by glial cells and then transported to neurons thus affecting metabolic processes and specific reception of neurotransmitters, changing the level of the specific binding of dopamine, serotonin, GABA, and norepinephrine with receptors. Experiments have confirmed the involvement of S100 group proteins in the regulation of neuron process oriented growth. Normally, the BBB is impermeable to S100 β , so elevated levels of this protein in the serum is a marker of neuronal tissue and BBB damage. However, the precise mechanism by which S100 β is released is still unknown [26].

Nonspecific enolase has been currently recognized one of the most specific markers of neuronal damage. NSE (2-phospho-D-glycerate-hydrolase) is an intracellular glycolytic enzyme of the CNS, which has a molecular weight of 78 kDa; it is found in neurons, neuroendocrine cells of the nervous system, as well as in erythrocytes and platelets. NSE $\gamma\gamma$ -isomer is the only

S100 — это группа уникальных для нервной ткани кислых кальций-связывающих белков. Большинство белков S100 (до 85–90% от общего содержания в нервной ткани) сосредоточены в астроцитах, 10–15% расположены в нейронах, минимальное их количество определяется в олигодендроцитах. Белки S100 рассматриваются в качестве одного из узловых молекулярных компонентов сложных внутриклеточных систем, обеспечивающих функциональный гомеостаз клеток мозга. Они синтезируются глиальными клетками, а затем транспортируются в нейроны, оказывают влияние на процессы обмена и специфической рецепции нейромедиаторов, изменяют уровень специфического связывания дофамина, серотонина, ГАМК, норадреналина с рецепторами. Экспериментально доказано участие белков группы S100 в регуляции процессов направленного роста отростков нейронов. В норме ГЭБ непроницаем для S100 β , поэтому повышенный уровень этого белка в сыворотке крови является маркером повреждения нейрональной ткани и ГЭБ. Однако точный механизм, с помощью которого выделяется S100 β , до сих пор неизвестен [26].

В настоящее время одним из наиболее специфичных маркеров повреждения нейронов, признана нейронспецифическая енолаза. NSE (2-фосфо-D-глицерат-гидролиаза) — внутриклеточный гликолитический фермент ЦНС, который имеет молекулярную массу 78 кДа выявляется в нейронах, нейроэндокринных клетках нервной системы, а также в эритроцитах и тромбоцитах. Единственным известным в настоящее время общим маркером всех дифференцированных нейронов является $\gamma\gamma$ -изомер NSE, он относится к внутриклеточным энзимам центральной нервной системы. В исследованиях доказана возможность применения показателя энзимной активности NSE как клинко-диагностического критерия для оценки степени повреждения нейронов головного мозга при ишемических и геморрагических инсультах, эпилепсии, травматической болезни головного мозга и других деструктивных заболеваний центральной нервной системы [28].

В ряде работ было показано повышение уровня NSE и S100 β у больных с SAE [19, 27, 29, 30]. Эффективность и чувствительность сывороточного S100 β в диагностировании SAE достаточно высоки. Однако, как S100 β , так и NSE недостаточно специфичны для выделения SAE среди других видов энцефалопатий, поскольку повышенный уровень этих белков отражает только патологические процессы в мозге, а не их природу [29]. Остается спорным вопрос о корреляции уровня S100 β с тяжестью септической энцефалопатии [26].

В качестве биомаркеров SAE рассматриваются и другие белки. Так, Tomasi (2017) был проведен сравнительный анализ содержания в крови у больных разных групп (с инфекцией, с

currently known common marker for all differentiated neurons, it is one of intracellular enzymes of the central nervous system. Studies confirmed the possibility of the use of the NSE enzyme activity parameter as a clinical diagnostic criterion for assessing the extent of the damage to the cerebral neurons due to ischemic and hemorrhagic strokes, epilepsy, traumatic diseases of the brain and other destructive diseases of the central nervous system [28].

A number of studies demonstrated increased levels of NSE and S100 β in patients with SAE [19, 27, 29, 30]. The efficiency and sensitivity of serum S100 β in diagnosing SAE are high enough. However, both S100 β and NSE are not specific enough to highlight SAE among other encephalopathies because elevated levels of these proteins reflect pathological processes in the brain only, but not their nature [29]. A correlation between the S100 β level and the severity of septic encephalopathy remains debatable [26].

Other proteins are also considered as SAE biomarkers. For example, Tomasi (2017) carried out a comparative analysis of the content of biomarkers of inflammation, endothelial activation, coagulation, and brain dysfunction in the blood of patients of different groups (with infection, or delirium, or SAE) [31]. It turned out that patients with SAE demonstrated elevated levels of BDNF (brain-derived neurotrophic factor), VCAM-1 (Vascular cell adhesion molecules), ICAM-1 (intercellular adhesion molecule), PDGF (platelet-derived growth factor) as compared to a group of patients with noninfectious delirium. A relationship between elevated levels of C-reactive protein, S100 β , and cortisol and sepsis-associated delirium was found [23].

The BDNF protein may be of great importance in the development of SAE. For example, it has been demonstrated that impaired brain function in experimental sepsis is accompanied by decreased level of the BDNF expression in the hippocampus and prefrontal cortex [32–34]. In critically ill patients with sepsis, lower plasma levels of BDNF in sepsis were associated with mortality. At that, survivors presented a correlation between BDNF levels and the development of delirium, as well as between BDNF levels and the time of recovering from coma [35].

Therefore, the search for specific SAE markers remain one of the main tasks for future researches.

Clinical symptoms of sepsis-associated encephalopathy. The main signs of encephalopathy include impairment of consciousness, the deterioration of cognitive functions, personality changes, reduced concentration, and depression [1, 15]. According to various sources, clinical symptoms of SAE are identified in 8–70% of patients diagnosed with sepsis [2] and include distraction, confusion, overstimulation, which may further lead to stupor and coma. The first symptoms, such as fatigue, loss of ap-

делирием, с SAE) биомаркеров воспаления, активации эндотелия, коагуляции и дисфункции мозга [31]. Оказалось, что у больных с SAE был повышен уровень BDNF (мозговой нейротрофический фактор), VCAM-1 (молекулы адгезии сосудистого эндотелия), ICAM-1 (молекулы межклеточной адгезии), PDGF (тромбоцитарный фактор роста) в сравнении с группой пациентов с делирием неинфекционного генеза. Обнаружена взаимосвязь между повышенным уровнем С-реактивного белка, S100 β , а также кортизола с сепсис-ассоциированным делирием [23].

Белок BDNF может иметь важное значение при развитии SAE. Так, было показано, что нарушения функции мозга при экспериментальном сепсисе сопровождаются снижением уровня экспрессии BDNF в гиппокампе и префронтальной коре [32–34]. У больных с сепсисом, находящихся в критическом состоянии, более низкие уровни BDNF в плазме крови при сепсисе были связаны с летальностью. При этом у выживших больных выявлена корреляция между уровнем BDNF и развитием делирия, а также между уровнем BDNF и сроком выхода из комы [35].

Таким образом, поиск специфических маркеров SAE остается одной из главных задач будущих исследований.

Клинические симптомы сепсис-ассоциированной энцефалопатии. Основными признаками энцефалопатии являются нарушения сознания, ухудшение когнитивной функции, личностные изменения, снижение концентрации внимания, депрессия [1, 15]. Клинические симптомы SAE выявляются по разным данным у 8–70% пациентов с диагностированным сепсисом [2] и включают в себя рассеянность, спутанность сознания, перевозбуждение, что может в дальнейшем привести к ступору и коме. Первые симптомы, такие как слабость, отсутствие аппетита, недомогание и дефицит концентрации внимания, обычно появляются на ранней стадии сепсиса, часто до проявления других органических нарушений [1]. На поздних этапах у больных наблюдаются более тяжелые расстройства, такие как делирий и сильное возбуждение [1, 15]. Нарушение сознания в форме чрезмерной сонливости, ступора или комы чаще развивается при полиорганной дисфункции и септическом шоке. Появление делирия с острым нарушением сознания связывают с неблагоприятным прогнозом, который включает более высокий риск летального исхода, длительные сроки госпитализации, послеоперационные осложнения. Чем дольше сохраняется делирий, тем выше вероятность длительных когнитивных расстройств у выживших больных [36].

Важно помнить, что делирий может быть вызван разными патологическими состояниями, например, такими как абсцесс мозга, энцефалопа-

petite, malaise and poor concentration are usually detected at the early stage of sepsis, often prior to other organ impairments [1]. At the later stages, patients presented more severe disorders, such as delirium and severe excitation [1, 15]. Impairment of consciousness in the form of excessive drowsiness, stupor or coma often develops in multiple organ failure and septic shock. Development of delirium with acute impairment of consciousness is associated with unfavorable prognosis, which involves a higher risk of death, prolonged hospital stay, and postoperative complications. The longer delirium persists, the higher is the probability of long-term cognitive disorders in survivors [36].

It is important to remember that delirium may be caused by different pathological conditions, such as brain abscess, encephalopathy, meningitis, encephalitis, stroke, alcohol or drug intoxication, nonconvulsive status epilepticus and some others [37]. Therefore, when evaluating a patient with sepsis and delirium, the priority task should be to rule out the main disease of the central nervous system that can lead to delirium.

Study of SAE in experimental models of sepsis. The following experimental models of sepsis are commonly accepted:

- induction of endotoxemia after intravenous or intraperitoneal injection of lipopolysaccharide (LPS),
- parenteral inoculation of bacteria,
- CLP — cecal ligation and puncture.

The most simple method is induction of endotoxemia. Bacterial endotoxins, lipopolysaccharides, which are structural components of cell walls of gram-negative bacteria, introduced intravenously or intraperitoneally, cause symptoms of sepsis, mainly in the vascular system, which affects the nervous system. After induction of endotoxemia, concentration of proinflammatory cytokines increases, that allows to control body dysfunctions depending on the dose of LPS [1]. The disadvantage of this method is the difference in concentrations of endotoxin, which fundamentally differ in humans and different species of animals, for example, the human lethal dose of lipopolysaccharide is several orders lower than that in rats.

Introduction of cultures of living bacteria into the animal body is another method of modeling of sepsis. The disadvantage of this method is that the bacteria must be introduced in large doses, because the greatest portion of them is removed by the immune system; in addition, there are individual reactions to certain pathogens. On the other hand, one of the advantages of the method is the ability to induce specific pathogen infection in a specific organ, such as the lungs (inhalation) or the kidneys (injections) [38].

At present, the CLP model is the standard model for studying sepsis, septic shock and SAE. In

тия, менингит, инсульт, энцефалит, алкогольная или лекарственная интоксикация, неконвульсивный status epilepticus и некоторые другие [37]. Поэтому при оценке пациента с сепсисом и делирием первоочередной задачей должно быть исключение основного заболевания ЦНС, которое может обусловить делирий.

Изучение SAE на экспериментальных моделях сепсиса. Общеизвестными экспериментальными моделями сепсиса являются следующие:

- индукция эндотоксемии при внутривенном или внутривентральном введении липополисахарида (LPS),
- парентеральное введение (инокуляция) бактерий,
- перевязка и перфорация слепой кишки (CLP — cecal ligation and puncture).

Наиболее простой метод — это индукция эндотоксемии. Бактериальные эндотоксины — липополисахариды, являющиеся структурным компонентом клеточной стенки грамотрицательных бактерий, введенные внутривенно или внутривентрально, вызывают симптомы сепсиса, главным образом, в сосудистой системе, которая влияет на нервную систему. После индукции эндотоксемии концентрация провоспалительных цитокинов возрастает, что позволяет контролировать нарушения функций организма в зависимости от дозы LPS [1]. Недостатком данного метода является различие в концентрациях эндотоксина, которые принципиально различаются у людей и разных видов животных, так например, у человека летальные дозы липополисахарида на несколько порядков ниже, чем у крыс.

Другим методом моделирования септического состояния является введение культур живых бактерий в организм животного. Недостатком данного метода является то, что бактерии должны быть введены в больших дозах, так как значительная их часть удаляется иммунной системой; кроме того, существует индивидуальная реакция организма на определенные возбудители. С другой стороны, одним из преимуществ метода является возможность индуцировать инфекцию конкретным патогеном в определенном органе, например, легких (ингаляции) или почках (инъекции) [38].

В настоящее время стандартной моделью исследования сепсиса, септического шока и SAE, является модель CLP. В этой методике слепую кишку перевязывают, а затем прокалывают, тем самым вызывая развитие перитонита и обеспечивая постоянное дополнительное инфицирование бактериями из просвета кишки. CLP достаточно хорошо воспроизводит гемодинамические и метаболические изменения, наблюдаемые при сепсисе и SAE [39] и, по существу, имитирует их развитие у людей.

Многочисленные исследования направлены на изучение в эксперименте и в клинике потенци-

this technique, the cecum is ligated and then punctured, thereby causing development of peritonitis and ensuring constant additional infection with bacteria from the gut lumen. The CLP reproduces the hemodynamic and metabolic changes observed in sepsis and SAE [39] well enough and essentially simulates their development in humans.

Numerous studies are aimed at studying potential correction of impairments developed in the central nervous system in sepsis in the experimental and clinical setting. The main effects of medicinal products and procedures on the severity of pathological changes in the brain are summarized in Table.

Pathophysiology of septic encephalopathy. SAE was described several decades ago, but this phenomenon started relatively recently. Cognitive disorders, impairment of learning conduct, and emotional disorders were found in various models of sepsis in mice and rats using a series of behavioral tests (elevated plus maze, Morris water navigation task, etc.) [40–43]. Sepsis resulted in cognitive disorders, increased loss of pyramidal neurons of the hippocampus, activation of microglia (traumatic brain injury + CLP, Day 14), animal's weight loss and increased posttraumatic mortality [44]. Even 3 months after sepsis (intraperitoneal administration of LPS), rats experienced memory loss and decreased learning activity [45].

Few neuropathological studies indicate that the white matter and the hippocampus are damaged most in SAE [20, 46] that is generally consistent with the clinical picture of delirium. During morphological studies on models of experimental sepsis, severe brain damage, especially of the hippocampus, cortex, and the cerebellum was demonstrated [44, 45]. For example, the death of neurons by using a neuronal marker NeuN was determined in the prefrontal cortex and the hippocampus (fields CA1 and CA2) in rats 24 hours after administration of bacterial LPS [47]. Signs of severe neuronal degeneration, hyperchromic, wrinkled, pyknotic and electron-dense neurons were found in the brain of septic mice using optic and electronic microscopy [48]. Ischemic damages, mainly in the nuclei of the autonomic nervous system, are among the most frequent changes of the brain. Perivascular edema and swelling of astrocyte pedicles may be also observed. Neurons have wrinkled nuclei and damaged cell membranes [49]. There are signs of multifocal necrotizing leukoencephalopathy [50]. Histopathological and apoptotic changes in pyramidal neurons of the hippocampus and Purkinje cells in the cerebellum of mice in the CLP model of sepsis using different histological methods of staining and the TUNEL method [51, 52].

There is still no clarity in understanding the causes of formation and development of septic encephalopathy. Putative mechanisms include mi-

альных возможностей коррекции нарушений, развивающихся в ЦНС при сепсисе. Основные эффекты влияния лекарственных препаратов и процедур на выраженность патологических изменений в мозге суммированы в таблице.

Патофизиология септической энцефалопатии. SAE была описана несколько десятилетий назад, однако исследования этого феномена начались сравнительно недавно. На различных моделях сепсиса у мышей и крыс с помощью ряда поведенческих тестов (приподнятый крестообразный лабиринт, водный лабиринт Морриса и др.) выявлены когнитивные расстройства, нарушения исследовательского поведения, эмоционального состояния [40–43]. Сепсис приводил к когнитивным нарушениям, повышенной гибели пирамидных нейронов гиппокампа, активации микроглии (травма мозга + CLP, 14-е сутки), к потере веса животных и увеличению посттравматической смертности [44]. Даже спустя 3 месяца после перенесенного сепсиса (внутрибрюшинное введение ЛПС) у крыс обнаруживали дефицит памяти и снижение исследовательской активности [45].

Немногочисленные нейропатологические исследования свидетельствуют о том, что при SAE в наибольшей степени повреждаются белое вещество и гиппокамп [20, 46], что в целом согласуется с клинической картиной делирия. В ходе морфологических исследований на моделях экспериментального сепсиса обнаружено существенное повреждение головного мозга, особенно — гиппокампа, коры мозга, мозжечка [44, 45]. Так, выявлена гибель нейронов (с помощью нейронального маркера NeuN) в префронтальной коре и гиппокампе (поля CA1 и CA2) у крыс через 24 часа после введения бактериального ЛПС [47]. В мозге септических мышей с помощью световой и электронной микроскопии обнаружены признаки выраженной нейрональной дегенерации, гиперхромные, сморщенные, пикнотичные и электронноплотные нейроны [48]. Среди наиболее частых изменений мозга встречаются ишемические повреждения, преимущественно, в ядрах автономной нервной системы. Также может наблюдаться периваскулярный отек, набухание ножек астроцитов. Нейроны имеют сморщенные ядра и поврежденные клеточные мембраны [49]. Наблюдаются признаки мультифокальной некротизирующей лейкоэнцефалопатии [50]. С помощью разных гистологических методов окраски, а также метода TUNEL наблюдали гистопатологические и апоптотические изменения пирамидных нейронов гиппокампа и клеток Пуркинье мозжечка мышей на модели с CLP [51, 52].

До сих пор нет ясности в понимании причин формирования и развития септической энцефалопатии. Предполагаемые механизмы включают митохондриальную и эндотелиальную дисфункцию,

тоchondrial and endothelial dysfunction, changes in the permeability of the blood-brain barrier (BBB), impairment of the macro- and micro-circulation, oxidative stress, inflammation, neurotransmission impairment, decreased cholinergic innervation of neurons in the cortex [45], activation of microglia [4, 47, 48, 53], changes in the level of neurotransmitters [54], and amino acids etc [55]. Development of mitochondrial dysfunction is associated with increased production of cytokines, reactive oxygen species (ROS) and NO in sepsis that leads to impairment of oxidative phosphorylation processes and decreased ATP synthesis [56]. On the other hand, the reverse causation cannot be excluded, when mitochondrial dysfunction is a primary cause in the chain of further impairments of metabolism [57].

BBB dysfunction. A physiological barrier between the blood and central nervous system (i.e. BBB) performs vital functions in the body: regulates the microenvironment in the nervous system, blood flow in the capillaries of the brain, protects against harmful substances circulating in the blood, maintains homeostasis in the brain. BBB is formed by endothelial cells of the cerebral capillaries associated with close contacts, as well as pericytes and astrocyte processes. The BBB permeability may be increased by overexpression of inducible nitric oxide synthase and NADPH-oxidase [48, 50]. The authors think that the loss of integrity of BBB occurs due to effect of peroxynitrite, which in turn is formed by the reaction of superoxide (produced with the involvement of NADPH-oxidase) with NO [48]. The penetration of a number of substances through BBB occurs due to increased pinocytosis [58] despite retained tight contacts between by the endothelial cells. Increased permeability of the BBB causes water imbalance in the brain, resulting in perivascular edema, destruction of astrocytes [49] and secondary damage to nervous tissue [20]. This leads to reduced diffusion through the walls of microvessels, reduced consumption of oxygen and nutrients, as well as impairment of the mechanisms of removal of harmful metabolites [49]. For example, it has been demonstrated that the cerebral blood flow in rats decreased following the injection of bacterial LPS, leading to a decreased glucose consumption in neocortex [47]. Hypoxia-ischemia-induced alterations in the nervous tissue represent common patterns of various brain diseases, although their occurrence in patients with SAE is not specific. Nevertheless, impairment of microcirculation in the brain that occur with the progression of sepsis significantly contributes to the pathogenesis of SAE. For instance, the failure of mechanisms of autoregulation of cerebral circulation results in brain tissue hypoperfusion, thus leading to degeneration of neurons caused by hypoxia/ischemia that is associated with the activation

Сводная таблица опубликованных работ по изучению влияния различных лекарственных препаратов и процедур в эксперименте и в клинике.

Препараты/процедуры	Объект	Цель исследования	Результат	Ссылка
Экспериментальные исследования				
Инъекция антиоксиданта (аскорбата)	Мыши (CLP)	Уменьшить повреждение микрососудов свободными радикалами	Снижение проницаемости сосудов	[96]
Агенты регуляции микроглии (eserine)	Крысы (LPS)	Уменьшить дисфункцию мозга, обусловленную нейровоспалением	Уменьшение функциональных нарушений мозга, противовоспалительный, антиоксидантный эффект	[97]
Введение ингибитора глутамата (riluzole)	Крысы (CLP)	Снизить эксайтотоксичность в мозге	Уменьшение проницаемости ГЭБ, отека мозга, повреждения мозга, снижение детальности	[98]
Агонисты β_2 -адренергических рецепторов	Свиньи (перитонит)	Оценить эффект воздействия на мозг	Уменьшение отека мозга	[99]
Низкомолекулярный гепарин	Мыши (LPS)	Уменьшить когнитивные нарушения, вызванные сепсисом	Уменьшение выраженности гипокампальных когнитивных нарушений, активации микроглии, продукции цитокинов, IL-1B, iNO synthase, $\uparrow$ BDNF в гиппокампе	[100]
Блокада C5a или C5aR (Gao, 2004); В/в введение иммуноглобулинов	Крысы (CLP)	Уменьшить повреждение ГЭБ	Снижение смертности; Повышение целостности ГЭБ	[101]
Митохондриально-направленный пептид SS-31	Мыши (CLP)	Исследовать действие SS-31 на функцию митохондрий и когнитивный дефицит	Снижение смертности, когнитивных нарушений	[43]
Клинические исследования				
Гемоперфузия полимиксин В-имобилизованных волокон	Септические больные с энцефалопатией	Влияние на баланс аминокислот	Снижение уровня эндотоксина и IL-6 в плазме и увеличение соотношения разветвленных и ароматических аминокислот	[84]
Плазмаферез или плазмафильтрация	Больные с сепсисом	Снизить уровень воспалительных цитокинов в крови	Снижение детальности	[102]
Дексметомидин	Больные с сепсисом	Сравнить действие Дексметомидина и Лоразепам	Снижение количества дней с делирием/комой; снижение 28-дневной смертности	[103]
Summarized list of publications that evaluate SAE-related impact of different drugs and procedures in an experiment and clinical settings.				
Drugs/procedures	Subject	Study objective	Result	Reference
Experimental studies				
Injection of antioxidant (ascorbate)	Mice (CLP)	Reduce a damage of microvessels by free radicals	Reduction of vascular permeability	[96]
Microglia regulation agents (eserine)	Rats (LPS)	Reduce brain dysfunction caused by neuroinflammation	Reduction of functional disorders of the brain, anti-inflammatory, antioxidant effect	[97]
Introduction of glutamate inhibitor (riluzole)	Rats (CLP)	Reduce the excitotoxicity in the brain	Reduction of the permeability of BBB, brain edema, brain damage, reduction of the mortality rate	[98]
β_2 -adrenergic receptor agonists	Pigs (peritonitis)	Assess the effect on the brain	Reduction of brain edema	[99]
Low-molecular weight heparin	Mice (LPS)	Reduce the cognitive impairment caused by sepsis	Reduction of the severity of hippocampal cognitive disorders, $\downarrow$ microglia activation, production of cytokines, IL-1B, iNO synthase, $\uparrow$ BDNF in the hippocampus	[100]
Blockade of C5a or C5aR (Gao, 2004); i/v administration of immunoglobulins	Rats (CLP)	Reduce the BBB damage	Reduction of the mortality rate; Improving the integrity of the BBB	[101]
Mitochondria-directed peptide SS-31	Mice (CLP)	Explore the effect of SS-31 on the mitochondrial function and cognitive deficit	Reduction of the mortality rate and cognitive impairment	[43]
Clinical trials				
Hemoperfusion of polymyxin B-immobilized fibers	Septic patients with encephalopathy	Impact on the balance of amino acids	Reduction of the level of endotoxin and IL-6 in plasma and increase of the ratio of branched and aromatic amino acids	[84]
Plasmapheresis or plasmafiltration	Patients with sepsis	Reduce the level of inflammatory cytokines in the blood	Reduction of the mortality rate	[102]
Dexmedetomidine	Patients with sepsis	Compare the effect of dexmedetomidine and lorazepam	Reduction in number of days with delirium/coma; reduction of the 28-day mortality	[103]

изменения проницаемости гематоэнцефалического барьера (ГЭБ), нарушения макро- и микроциркуляции, окислительный стресс, воспаление, нарушение нейротрансмиссии, снижение холинэргической иннервации нейронов коры [45], активацию микроглии [4, 47, 48, 53], изменения уровня нейромедиаторов [54], аминокислот [55] и др. Развитие митохондриальной дисфункции связывают с повышенной продукцией цитокинов, активных форм кислорода (ROS) и NO при сепсисе, что приводит к нарушению процессов окислительного фосфорилирования и снижению выработки АТФ [56]. С другой стороны, нельзя исключить обратную причинно-следственную связь, когда дисфункция митохондрий первична в цепочке дальнейших нарушений [57].

Нарушение функции ГЭБ. Физиологический барьер между кровеносной и центральной нервной системой (или гематоэнцефалический барьер — ГЭБ) выполняет крайне важные функции в организме: регулирует микросреду в нервной системе, ток крови в капиллярах мозга, защищает от вредных веществ, циркулирующих в крови, обеспечивает поддержание гомеостаза мозга. ГЭБ образуют эндотелиальные клетки капилляров головного мозга, связанные плотными контактами, а также перициты и отростки астроцитов. К увеличению проницаемости ГЭБ может приводить избыточная экспрессия индуцибельной синтазы оксида азота и NADPH-оксидазы [48, 50]. По мнению авторов, потеря целостности ГЭБ происходит под действием пероксинитрита, который в свою очередь образуется в результате реакции супероксида (образующегося с участием NADPH-оксидазы) с NO [48]. Проникновению ряда веществ через ГЭБ способствует усиление процессов пиноцитоза [58], несмотря на сохранение плотных контактов между эндотелиальными клетками. Повышение проницаемости гематоэнцефалического барьера вызывает нарушение водного равновесия в мозге, в результате чего развивается периваскулярный отек, разрушение астроцитов [49], и вторичное повреждение нервной ткани [20]. Это приводит к снижению диффузии через стенки микрососудов, уменьшению потребления кислорода и питательных веществ, а также нарушению механизмов удаления вредных метаболитов [49]. Так, было показано, что у крыс с введением бактериального ЛПС снижался мозговой кровоток, что приводило к уменьшению потребления глюкозы в неокортексе [47]. Гипоксически-ишемические изменения нервной ткани являются общей чертой для многих заболеваний головного мозга, их появление у пациентов с SAE не является специфичным. Тем не менее, нарушения микроциркуляции в мозге, которые наблюдаются при прогрессировании сепсиса, могут играть решающую роль в патогенезе SAE. Так, поломка механизмов ауторегуля-

of genes responsible for the production of proinflammatory (TNF α , IL-1 β , NOS) mediators [59, 60].

Changes in neurotransmission. It is believed that inflammation and metabolic disturbances alter the neurotransmission in the brain causing mental disorders in sepsis. This applies to β -adrenergic, cholinergic, and GABAergic systems, central regulation of muscarinic cholinergic receptors, corticotropin-releasing factor, adrenocorticotrophic hormone, vasopressin synthesis, monoaminergic, glutamatergic, and neurotropic systems [2, 9, 45]. Reduced consumption of glucose in some brain areas which are parts of serotonergic and noradrenergic systems is related to changes in the neurotransmitter concentrations [61]. There has been no clear understanding of the contribution of specific neurotransmitters in sepsis and SAE to date. It is believed that in the case of increased blood levels of aromatic amino acids they may play the role of «false» neurotransmitters resulting in lower concentrations of some neurotransmitters (norepinephrine, dopamine, serotonin) in the brain [2]. In a number of diseases and conditions, reduced serum serotonin levels (the so-called «syndrome of serotonin deficiency») is considered as unfavorable pattern that may be compensated by parenteral administration of serotonin adipinate [62]. At the same time, it is known that major deposits of serotonin in the human body are deposited in the enterochromaffin cells of the gastrointestinal tract, where it is adsorbed by platelet and enters the bloodstream, whereas serotonin injected intravenously does not cross the BBB. Literature data about the origin, changes in the levels of neurotransmitters in CSF, blood, brain tissue, and attempts of their correction are often contradictory, require detailed analysis and discussion in a separate review.

Brain-derived neurotrophic factor (BDNF). Studies carried out over recent years have demonstrated that the brain-derived neurotrophic factor (BDNF) is important for SAE development. It has become recognized that BDNF significantly contributes to the learning and memory processes and also in the pathogenesis of various neuropsychiatric diseases. [35, 63, 64]. The experimental studies demonstrated that the impaired brain function in sepsis (Wistar rats, CLP) in the form of memory and learning impairment, accompanied by decreased level of the BDNF expression in the hippocampus and prefrontal cortex [32, 33]. Decreased BDNF level in the hippocampus was also found in another experimental sepsis that employed injection of bacterial lipopolysaccharide [34]. It was also shown, [63] that modeling of neonatal bacterial infection by injection of *Escherichia coli* to newborn rats led to severe memory impairment in adult animals, accompanied by changes in the BDNF expression in CA3 and CA1 of the hippocampus. It has been found that the exposure

ции мозгового кровообращения приводит к гипоперфузии тканей мозга и, как следствие, к дегенерации нейронов, вызванной гипоксией/ишемией, что связывают с активацией генов, ответственных за продукцию провоспалительных (TNF α , IL-1 β , NOS) медиаторов [59, 60].

Изменение нейротрансмиссии. Полагают, что воспаление и метаболические нарушения изменяют нейротрансмиссию в головном мозге, что может являться одной из причин ментальных нарушений при сепсисе. Это касается β -адренергической, холинэргической, ГАМК-эргической систем, центральной регуляции мускариновых холинэргических рецепторов, кортикотропин-рилизинг фактора, адренкортикотропного гормона, синтеза вазопрессина, моноаминэргической, глутаматэргической и нейротрофической систем [2, 9, 45]. С изменением концентраций нейротрансмиттеров связывают уменьшение потребления глюкозы в некоторых областях головного мозга, которые относятся к серотонинэргической и норадренэргической системам [61]. На сегодняшний день нет четких представлений о роли конкретных нейротрансмиттеров при сепсисе и SAE. Существует мнение, что роль «ложных» нейротрансмиттеров могут играть ароматические аминокислоты при повышении их уровня в крови, что приводит к снижению концентраций в мозге некоторых нейротрансмиттеров (норадреналина, дофамина, серотонина) [2]. При ряде заболеваний и состояний принято считать неблагоприятным признаком снижение сывороточного уровня серотонина (так называемый синдром серотониновой недостаточности), что предлагается компенсировать парентеральным введением препарата серотонина адипината [62]. В то же время известно, что основные запасы серотонина в организме человека депонированы в энтерохромаффинных клетках желудочно-кишечного тракта, откуда он адсорбируется тромбоцитами и поступает в кровеносное русло, тогда как серотонин, введенный внутривенно, не проходит через ГЭБ. Данные литературы о происхождении, изменении уровней нейротрансмиттеров в крови, ликворе, ткани мозга, и попытках их коррекции нередко противоречивы, требуют детального анализа и обсуждения в отдельном обзоре.

Мозговой нейротрофический фактор (BDNF). В исследованиях последних лет установлено, что при SAE большое значение может иметь мозговой нейротрофический фактор (BDNF). Известно, что BDNF играет важную роль в процессах обучения и памяти и также в патогенезе различных нейropsychических заболеваний [35, 63, 64]. В эксперименте показано, что нарушения функции мозга при сепсисе (крысы Вистар, CLP), выражающиеся в нарушениях памяти и способности к обучению, сопровождаются сни-

leading to increased expression of proinflammatory cytokine interleukin 1 beta in the hippocampus (LPS, social exclusion) or injection of Interleukin 1 beta into the hippocampus area during training leads to severe memory impairment in experimental animals [65]. At that, it has been found, that preliminary introduction of Interleukin 1 beta receptor antagonist prevented memory impairment and reduction of the BDNF level in the CA3 sector and dentate gyrus of the hippocampus. The involvement of the TNF alpha receptor 1 (TNFR1) in the memory impairment in sepsis has been demonstrated (CLP) [66]. It is essential, that no memory impairment in knockout mice (without TNFR1) is associated with increased BDNF expression. Results were obtained in the model of clinical death in rats indicating that the expression of BDNF protein is an important factor to increase the resistance of neurons to death in the postresuscitative period [67].

Prospects of application of BDNF and other neurotrophic factors for treatment of neurological diseases are intensively discussed in the literature. Different strategies to solve the problem of delivery of neurotrophic factors to the brain are currently being developed: transfer system using viral vectors, bone marrow stem cells, synthetic and natural polymers; synthetic peptide mimetics, etc. [68, 69]. This indicates that the use of BDNF to protect the brain against the sepsis-induced damage is promising.

The role of bacteria. The involvement of the microbial factors in the development of SAE is indisputable, however, the nature of these factors remains unknown. The absence of living bacteria in the cerebrospinal fluid and brain tissue indicates that SAE is not the result of direct infection of the brain by microorganisms. A number of authors list penetration of bacterial endotoxins in the central nervous system [4, 48, 53, 70] due to impairment of the BBB [4, 10] and damage of the endothelium of cerebral blood vessels [60, 71] as microbial factors potentially contributing to the development of SAE. It is believed that damage of neurons may be caused by increased synthesis of inflammatory mediators associated with microbial load, free-radical processes, production of nitric oxide, microthrombosis and ischemia [1, 72, 73]. There is no doubt that brain dysfunction in SAE is a result of numerous complex factors, when one factor triggers activation of the others.

The concept of the triggering role of bacteria is most often limited to bacterial endotoxins, namely to LPS which has a known ability to trigger the inflammatory response in the body. LPS forms a complex with a LPS-binding protein (LBP) in the blood; this complex binds to the membrane CD14 receptor on neutrophils and monocytes/macrophages, thus leading to the activation of the immune system. This type of receptors was found in microglia cells in the brain [74],

жением уровня экспрессии BDNF в гиппокампе и префронтальной коре [32, 33]. Уменьшение уровня BDNF в гиппокампе выявлено и на другой экспериментальной модели сепсиса — введение бактериального липополисахарида [34]. Показано также, [63], что неонатальная бактериальная инфекция (введение *Escherichia coli* новорожденным крысам) приводит к выраженным нарушениям памяти у взрослых животных, что сопровождается сдвигами экспрессии BDNF в CA1 и CA3 гиппокампа. Существенно, что воздействия, приводящие к увеличению экспрессии провоспалительного цитокина интерлейкина 1 бета в гиппокампе (LPS, социальная изоляция) или введение интерлейкина 1 бета в гиппокамп во время экспериментов по обучению, приводят к выраженным нарушениям памяти [65]. При этом установлено, что предварительное введение антагониста рецептора интерлейкина 1 бета предотвращало развитие нарушений памяти и снижение уровня BDNF в секторе CA3 и зубчатой фации гиппокампа. Показана вовлеченность рецептора 1TNF альфа (TNFR1) в развитие нарушений памяти при сепсисе (модель CLP) [66]. Существенно, что отсутствие нарушений памяти у нокаутных мышей (без TNFR1) связывают с увеличением экспрессии BDNF. На модели клинической смерти у крыс были получены результаты, свидетельствуют о том, что способность к экспрессии белка BDNF является важным фактором, повышающим устойчивость нейронов к гибели в постреанимационном периоде [67].

В литературе широко обсуждаются перспективы применения BDNF и других нейротрофических факторов для лечения неврологических заболеваний. В настоящее время разрабатываются различные стратегии для решения проблемы доставки нейротрофинов в мозг: системы переноса с помощью вирусных векторов, стволовых клеток костного мозга, синтетических и натуральных полимеров; синтетические пептидные миметики и т.д. [68, 69]. Это указывает на перспективность использования BDNF для защиты мозга при его повреждении, вызванном сепсисом.

Роль бактерий. Участие микробного фактора в развитии SAE бесспорно, однако природа этого фактора остается неизвестной. Отсутствие живых бактерий в ликворе и ткани мозга указывает на то, что SAE не является следствием прямого инфицирования мозга микроорганизмами. К микробным факторам, потенциально играющим роль в развитии SAE, ряд авторов относят проникновение бактериальных эндотоксинов в центральную нервную систему [4, 48, 53, 70] в условиях нарушения гематоэнцефалического барьера [4, 10] и повреждения эндотелия сосудов мозга [60, 71]. Полагают, что к повреждению нейронов могут приводить повышенный синтез вос-

i.e. receptors can react to the appearance of LPS. Endothelial and smooth muscle cells do not express CD14 membrane-bound receptor; however, they are activated by soluble CD14 receptor circulating in the blood. The LPS-LBP-CD14 complex stimulates the synthesis of proinflammatory cytokines, such as interleukin 1 β , Interleukin-6 and tumor necrosis factor TNF α [77] via Toll-like receptors 2 and 4 [75, 76], initiates the synthesis and secretion of other inflammatory factors reactive oxygen radicals [77], and nitric oxide [78]. The influx of monocytes and neutrophils to inflamed tissues increases, and the inflammatory reaction spreads to adjacent tissues [77]. The serum concentration of acute phase proteins, such as C-protein, increases, and the complement system mobilization leads to appearance of C3a and C5a components [79], which, in turn, increase the production of proinflammatory cytokines [47, 80]. The coagulation system is activated leading to the disseminated intravascular coagulation (DIC-syndrome). As a result, hemodynamic balance is impaired, and thrombosis of microvessels develops [81, 82].

As it has been mentioned the brain dysfunction is one of the early symptoms of sepsis, and this illness often outstrips the classical presentation of generalization of a bacterial infection with the formation of pyo-inflammatory foci. This fact allows to suspect that not only structural components of the cell wall of bacteria (such as LPS), but also molecular microbial metabolites may contribute to the development of SAE. Products of microbial biotransformation of aromatic amino acids (phenylalanine, tryptophan, and tyrosine) are the most interesting study objects. On one hand, the septic patients with encephalopathy present an excess of aromatic amino acids in the blood as compared to branched-chain amino acid [83, 84]. At the same time, in sepsis, the level of aromatic microbial metabolites (AMM), in particular, phenyl carbonic acids in the blood increases significantly [86–89]. Previously, it has been shown that main potential septic pathogens (*Staphylococcus* and *coagulase-negative staphylococci*, *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Enterobacter* and other anaerobic bacteria) *in vitro* actively produce aromatic microbial metabolites (AMM), e.g. phenyl carbonic acids [57, 87, 89]. The summary of the above facts suggests that inhibition of endogenous metabolism of aromatic amino acids takes place in sepsis with simultaneous active involvement of bacteria in their biotransformation. This hypothesis has been confirmed in relation of tyrosine metabolites. It has been found that all patients with sepsis has a dramatically changed profile of phenyl carbonic acids towards the predominance of microbial metabolites, such as para-hydroxyphenyllactic (p-HPLA), phenyllactic (PLA), para-hydroxyphenylacetic (p-HPAA) acid. The levels of these AMM called «sepsis-associated» corre-

палительных медиаторов, связанный с микробной нагрузкой, свободно-радикальные процессы, продукция оксида азота, микротромбозы и ишемия [1, 72, 73]. Несомненно, дисфункция мозга при SAE является результатом комплексного действия многих факторов, когда появление одного фактора ведет к активации других.

Представления о пусковой роли бактерий чаще всего сводится к бактериальным эндотоксинам, а именно — к ЛПС, который обладает известной способностью инициировать воспалительную реакцию в организме. В крови ЛПС образует комплекс с ЛПС-связывающим белком (LBP), этот комплекс связывается с мембранным рецептором CD14 на нейтрофилах и моноцитах/макрофагах, что приводит к активации иммунной системы. В головном мозге этот тип рецептора был найден в клетках микроглии [74], то есть рецепторы могут реагировать на появление ЛПС. Клетки эндотелия и гладких мышц не экспрессируют мембрано-связанный рецептор CD14, однако активируются растворимым рецептором CD14, циркулирующим в крови. Комплекс ЛПС-LBP-CD14 через Toll-like рецепторы 2 и 4 [75, 76] стимулируют синтез провоспалительных цитокинов, таких как интерлейкин 1β , интерлейкин-6, и фактор некроза опухоли $TNF\alpha$ [77], инициирует синтез и секрецию других воспалительных факторов, реактивных радикалов кислорода [77] и оксида азота [78]. Возрастает приток моноцитов и нейтрофилов к воспаленным тканям, и воспалительная реакция распространяется на прилегающие ткани [77]. Концентрация в сыворотке белков острой фазы, таких как протеин С, увеличивается, а мобилизация системы комплимента приводит к появлению компонентов С3а и С5а [79], которые, в свою очередь, повышают продукцию провоспалительных цитокинов [47, 80]. Активируется система свертывания, что приводит к диссеминированному сосудистому свертыванию (ДВС-синдром). В результате нарушается гемодинамическое равновесие, развивается тромбоз микрососудов [81, 82].

Как уже сказано выше, дисфункция мозга является одним из ранних симптомов сепсиса, то есть это патологическое состояние часто опережает классическую картину генерализации бактериальной инфекции с формированием гнойно-воспалительных очагов. Этот факт позволяет заподозрить, что в развитии SAE могут участвовать не только структурные компоненты клеточной стенки бактерий (такие как LPS), но и низкомолекулярные микробные метаболиты. Наиболее интересным объектом для исследования являются продукты микробной биотрансформации ароматических аминокислот (фенилаланина, тирозина, триптофана). С одной стороны, у септических больных с энцефалопатией в крови отмечается избыток ароматических аминокислот по сравне-

lated with the severity of patients' condition and the mortality rate [89–91].

There are various published data on a microbial metabolite of another amino acid, phenylalanine, the phenylacetic acid (PAA), which presents in the cerebrospinal fluid and serum of patients with signs of septic encephalopathy in higher concentration compared to normal values [92]. The toxic effect on the brain is also associated with the excess of phenylalanine [93] or its metabolites [94] in the case of severe symptoms of encephalopathy in patients with phenylketonuria. A number of other studies demonstrated that a severe brain injury and impairment of the mental development was observed in patients with elevated levels of phenyl pyruvic acid, PLA and PAA inside the body [95].

AMMs listed above have a phenolic nature. The results of preliminary studies suggest that AMMs of an indole nature, i.e. tryptophan metabolites, can also significantly contribute to the development of encephalopathy in sepsis, for example, based on their structural similarity with serotonin. Exploratory research is needed to identify features of the molecular profile of metabolites in CSF and blood in patients with SAE compared with encephalopathy of a different genesis (after trauma, surgery, ischemic stroke, etc.). At present, preparations for such a comparative study are arranged currently in the Federal Research and Clinical Center for Intensive Care Medicine and Rehabilitology. Comparison of the results obtained using the most up-to-date technologies in different groups of patients, primarily, help in shedding light on the actual involvement of bacteria in the mechanisms of development of encephalopathy and to identify metabolites as the potential markers SAE. A scientific research in this field will open new opportunities and new strategic approaches to treatment of brain dysfunction, in general, and SAE, in particular.

Therefore, there is a need in improving studies in the fields that might contribute to improving or developing novel treatment in patients with acute impairment of consciousness at the early stage of sepsis and minimize the consequences of brain dysfunction in sepsis survivors through: 1) clarifying the molecular mechanisms of development of septic encephalopathy, 2) searching for microbial metabolites as potential markers and contributors, 3) further development of the pathogenetic therapy of SAE (management of microcirculatory disorders, changes in the permeability of the blood-brain barrier, oxidative stress, impaired neurotransmission).

нию с аминокислотами с разветвленной цепью [55, 83, 84]. В то же время, при сепсисе уровень ароматических микробных метаболитов (АММ), в частности -фенилкарбоновых кислот, в крови

возрастает многократно [86–89]. Ранее показано, что основные потенциальные возбудители сепсиса (золотистый и коагулазо-отрицательный стафилококки, кишечная палочка, клебсиелла и другие энтеробактерии, анаэробные бактерии), *in vitro* активно продуцируют ароматические микробные метаболиты (АММ), например — фенолкарбоновые кислоты [57, 87, 89]. Обобщение приведенных выше фактов позволяет предположить, что при сепсисе происходит торможение эндогенного метаболизма ароматических аминокислот при одновременном активном участии бактерий в их биотрансформации. Эта гипотеза нашла подтверждение в отношении метаболитов тирозина. Установлено, что у всех больных с сепсисом резко изменен профиль фенолкарбоновых кислот в сторону преобладания таких микробных метаболитов, как пара-гидроксибензилмолочная (р-ГФМК), бензилмолочная (ФМК), пара-гидроксибензилуксусная (р-ГФУК) кислоты. Уровни этих АММ, названных «сепсис-ассоциированными», коррелировали с тяжестью состояния больных и летальностью [89–91].

В литературе имеются также данные о микробном метаболите другой аминокислоты — фенилаланина, а именно — о бензилуксусной кислоте (ФУК), который в значительно более высокой концентрации присутствует в цереброспинальной жидкости и сыворотке у больных с признаками септической энцефалопатии по сравнению с нормальными показателями [92]. Также токсическое действие на мозг связывают с избытком фенилаланина [93] или его метаболитов [94] при выраженных проявлениях энцефалопатии у больных фенилкетонурией. В ряде других работ показано, что тяжелое поражение головного мозга и нарушение умственного развития наблюдалось у больных с повышенным уровнем во внутренней среде организма бензилпиридиноградной, ФМК и ФУК [95].

Перечисленные выше АММ имеют фенольную природу. Результаты предварительных ис-

следований позволяют предположить, что АММ индольной природы, то есть метаболиты триптофана, также могут вносить существенный вклад в развитие энцефалопатии при сепсисе, например, на основании их структурного сходства с серотином. Необходимы поисковые исследования, направленные на выявление особенностей профиля низкомолекулярных метаболитов ликвора и крови у больных с SAE по сравнению с энцефалопатией другого генеза (после травмы, операции, ишемического инсульта и т.д.). В настоящее время в ФНКЦ РР ведется подготовка к такому сравнительному исследованию. Сопоставление результатов, полученных с применением самых современных технологий в разных группах больных, помогут, прежде всего, пролить свет на реальное участие бактерий в механизмах развития энцефалопатии, и выявить метаболиты — потенциальные маркеры SAE. Научный поиск в этом направлении откроет новые возможности и новые стратегические подходы в лечении дисфункций мозга вообще и SAE — в частности.

Заключение

Таким образом, для улучшения результатов лечения больных с острыми нарушениями сознания на ранней стадии сепсиса, и минимизации последствий дисфункции мозга у больных, выживших после сепсиса, необходимо совершенствовать исследовательскую работу по следующим основным направлениям:

- 1) углубленное изучение механизмов развития септической энцефалопатии на молекулярном уровне;
- 2) поиск микробных метаболитов — потенциальных маркеров и участников процесса;
- 3) дальнейшая разработка патогенетической терапии SAE (борьба с микроциркуляторными нарушениями, изменением проницаемости гематоэнцефалического барьера, окислительным стрессом, нарушениями нейротрансмиссии).

Литература

1. Ziaja M. Septic encephalopathy. *Curr. Neurol. Neurosci. Rep.* 2013; 13 (10): 383. DOI: 10.1007/s11910-013-0383-y. PMID: 23954971
2. Chaudhry N., Duggal A.K. Sepsis associated encephalopathy. *Adv. Med.* 2014; 2014: 762320. DOI: 10.1155/2014/762320. PMID: 26556425
3. Pinheiro da Silva F., Machado M.C., Velasco I.T. Neuropeptides in sepsis: from brain pathology to systemic inflammation. *Peptides.* 2013; 44: 135-138. DOI: 10.1016/j.peptides.2013.03.029. PMID: 23583479
4. Annane D., Sharshar T. Cognitive decline after sepsis. *Lancet Respir. Med.* 2015; 3 (1): 61-69. DOI: 10.1016/S2213-2600(14)70246-2. PMID: 25434614
5. Kaur J., Singhi P., Singhi S., Malhi P., Saini A.G. Neurodevelopmental and behavioral outcomes in children with sepsis-associated encephalopathy admitted to pediatric intensive care unit: a prospective case control study. *J. Child Neurol.* 2015; 31 (6): 683-690. DOI: 10.1177/0883073815610431. PMID: 26500243
6. Vincent J.L., Abraham E. The last 100 years of sepsis. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2006; 173 (3): 256-263. DOI: 10.1164/rccm.200510-1604OE. PMID: 16239619

References

1. Ziaja M. Septic encephalopathy. *Curr. Neurol. Neurosci. Rep.* 2013; 13 (10): 383. DOI: 10.1007/s11910-013-0383-y. PMID: 23954971
2. Chaudhry N., Duggal A.K. Sepsis associated encephalopathy. *Adv. Med.* 2014; 2014: 762320. DOI: 10.1155/2014/762320. PMID: 26556425
3. Pinheiro da Silva F., Machado M.C., Velasco I.T. Neuropeptides in sepsis: from brain pathology to systemic inflammation. *Peptides.* 2013; 44: 135-138. DOI: 10.1016/j.peptides.2013.03.029. PMID: 23583479
4. Annane D., Sharshar T. Cognitive decline after sepsis. *Lancet Respir. Med.* 2015; 3 (1): 61-69. DOI: 10.1016/S2213-2600(14)70246-2. PMID: 25434614
5. Kaur J., Singhi P., Singhi S., Malhi P., Saini A.G. Neurodevelopmental and behavioral outcomes in children with sepsis-associated encephalopathy admitted to pediatric intensive care unit: a prospective case control study. *J. Child Neurol.* 2015; 31 (6): 683-690. DOI: 10.1177/0883073815610431. PMID: 26500243
6. Vincent J.L., Abraham E. The last 100 years of sepsis. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2006; 173 (3): 256-263. DOI: 10.1164/rccm.200510-1604OE. PMID: 16239619

7. Dellinger R.P., Levy M.M., Rhodes A., Annane D., Gerlach H., Opal S.M., Sevransky J.E., Sprung C.L., Douglas I.S., Jaeschke R., Osborn T.M., Nunnally M.E., Townsend S.R., Reinhart K., Kleinpell R.M., Angus D.C., Deutschman C.S., Machado F.R., Rubenfeld G.D., Webb S.A., Beale R.J., Vincent J.L., Moreno R.; Surviving Sepsis Campaign Guidelines Committee including the Pediatric Subgroup. Surviving Sepsis Campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock, 2012. *Crit. Care Med.* 2013; 41 (2): 580-637. DOI: 10.1097/CCM.0b013e31827e83af. PMID: 23352941
8. Angus D.C., Linde-Zwirble W.T., Lidicker J., Clermont G., Carcillo J., Pinsky M.R. Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Crit. Care Med.* 2001; 29 (7): 1303-1310. DOI: 10.1097/00003246-200107000-00002. PMID: 11445675
9. Jacob A., Brorson J.R., Alexander J.J. Septic encephalopathy: Inflammation in man and mouse. *Neurochem. Int.* 2011; 58 (4): 472-476. DOI: 10.1016/j.neuint.2011.01.004. PMID: 21219956
10. Piva S., McCreddie V.A., Latronico N. Neuroinflammation in sepsis: sepsis associated delirium. *Cardiovasc. Hematol. Disord. Drug Targets.* 2015; 15 (1): 10-18. DOI: 10.2174/1871529X15666150108112452. PMID: 25567339
11. Wilson J. X., Young G.B. Progress in clinical neurosciences: sepsis-associated encephalopathy: evolving concepts. *Can. J. Neurol. Sci.* 2003; 30 (2): 98-105. DOI: 10.1017/S031716710005335X. PMID: 12774948
12. Singer M., Deutschman C.S., Seymour C.W., Shankar-Hari M., Annane D., Bauer M., Bellomo R., Bernard G.R., Chiche J.D., Cooper-Smith C.M., Hotchkiss R.S., Levy M.M., Marshall J.C., Martin G.S., Opal S., Rubenfeld G.D., van der Poll T., Vincent J.L., Angus D.C. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA.* 2016; 315 (8): 801-810. DOI: 10.1001/jama.2016.0287. PMID: 26903338
13. Zampieri F.G., Park M., Machado F.S., Azevedo L.C. Sepsis-associated encephalopathy: not just delirium. *Clinics (Sao Paulo).* 2011; 66 (10): 1825-1831. DOI: 10.1590/S1807-59322011001000024. PMID: 22012058
14. Ebersoldt M., Sharshar T., Annane D. Sepsis-associated delirium. *Intensive Care Med.* 2007; 33 (6): 941-950. DOI: 10.1007/s00134-007-0622-2. PMID: 17410344
15. Gofton T.E., Young G.B. Sepsis-associated encephalopathy. *Nat. Rev. Neurol.* 2012; 8 (10): 557-566. DOI: 10.1038/nrneurol.2012.183. PMID: 22986430
16. Мальцева Л.А., Базиленко Д.В. Роль сепсис-ассоциированной энцефалопатии в формировании синдрома полиорганной недостаточности у больных с тяжелым сепсисом и септическим шоком. *Вестн. интенс. терапии.* 2015; 3: 11-15.
17. Young G.B. Encephalopathy of infection and systemic inflammation. *J. Clin. Neurophysiol.* 2013; 30 (5): 454-461. DOI: 10.1097/WNP.0b013e3182a73d83. PMID: 24084178
18. Hosokawa K., Gaspard N., Su F., Oddo M., Vincent J.-L., Taccone F.S. Clinical neurophysiological assessment of sepsis associated brain dysfunction: a systematic review. *Crit. Care.* 2014; 18 (6): 674. DOI: 10.1186/s13054-014-0674-y. PMID: 25482125
19. Piazza O., Cotena S., De Robertis E., Caranci F., Tufano R. Sepsis associated encephalopathy studied by MRI and cerebral spinal fluid S100B measurement. *Neurochem. Res.* 2009; 34 (7): 1289-1292. DOI: 10.1007/s11064-008-9907-2. PMID: 19132530
20. Sharshar T., Carlier R., Bernard F., Guidoux C., Brouland J.P., Nardi O., de la Grandmaison G.L., Aboab J., Gray F., Menon D., Annane D. Brain lesions in septic shock: a magnetic resonance imaging study. *Intensive Care Med.* 2007; 33 (5): 798-806. DOI: 10.1007/s00134-007-0598-y. PMID: 17377766
21. Oddo M., Taccone F.S. How to monitor the brain in septic patients? *Minerva Anestesiologica.* 2015; 81 (7): 776-788. PMID: 25812488
22. Stubbs D.J., Yamamoto A.K., Menon D.K. Imaging in sepsis-associated encephalopathy-insights and opportunities. *Nat. Rev. Neurol.* 2013; 9 (10): 551-561. DOI: 10.1038/nrneurol.2013.177. PMID: 23999468
23. Pfister D., Siegemund M., Dell-Kuster S., Smielewski P., Rüegg S., Strebel S.P., Marsch S.C., Pargger H., Steiner L.A. Cerebral perfusion in sepsis-associated delirium. *Crit. Care.* 2008; 12 (3): R63. DOI: 10.1186/cc6891. PMID: 18457586
24. Szatmári S., Végh T., Csomós A., Hallay J., Takács I., Molnár C., Fülesdi B. Impaired cerebrovascular reactivity in sepsis-associated encephalopathy studied by acetazolamide test. *Crit. Care.* 2010; 14 (2): R50. DOI: 10.1186/cc8939. PMID: 20356365
25. Бусыгин С.Н., Клин Ю.П., Бубнова И.Д. Регуляция гемодинамики и сывороточный протеин S100 при различных клинических формах септической энцефалопатии. *Уральский мед. журнал.* 2013; 3 (108): 53-57.
26. Zenaide P. V., Gusmao-Flores D. Biomarkers in septic encephalopathy: a systematic review of clinical studies. *Rev. Bras. Ter. Intensiva.* 2013; 25 (1): 56-62. PMID: 23887761
27. Yao B., Zhang L.N., Ai Y.H., Liu Z.Y., Huang L. Serum S100b is a better biomarker than neuron-specific enolase for sepsis-associated encephalopathy and determining its prognosis: a prospective and observational
7. Dellinger R.P., Levy M.M., Rhodes A., Annane D., Gerlach H., Opal S.M., Sevransky J.E., Sprung C.L., Douglas I.S., Jaeschke R., Osborn T.M., Nunnally M.E., Townsend S.R., Reinhart K., Kleinpell R.M., Angus D.C., Deutschman C.S., Machado F.R., Rubenfeld G.D., Webb S.A., Beale R.J., Vincent J.L., Moreno R.; Surviving Sepsis Campaign Guidelines Committee including the Pediatric Subgroup. Surviving Sepsis Campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock, 2012. *Crit. Care Med.* 2013; 41 (2): 580-637. DOI: 10.1097/CCM.0b013e31827e83af. PMID: 23352941
8. Angus D.C., Linde-Zwirble W.T., Lidicker J., Clermont G., Carcillo J., Pinsky M.R. Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Crit. Care Med.* 2001; 29 (7): 1303-1310. DOI: 10.1097/00003246-200107000-00002. PMID: 11445675
9. Jacob A., Brorson J.R., Alexander J.J. Septic encephalopathy: Inflammation in man and mouse. *Neurochem. Int.* 2011; 58 (4): 472-476. DOI: 10.1016/j.neuint.2011.01.004. PMID: 21219956
10. Piva S., McCreddie V.A., Latronico N. Neuroinflammation in sepsis: sepsis associated delirium. *Cardiovasc. Hematol. Disord. Drug Targets.* 2015; 15 (1): 10-18. DOI: 10.2174/1871529X15666150108112452. PMID: 25567339
11. Wilson J. X., Young G.B. Progress in clinical neurosciences: sepsis-associated encephalopathy: evolving concepts. *Can. J. Neurol. Sci.* 2003; 30 (2): 98-105. DOI: 10.1017/S031716710005335X. PMID: 12774948
12. Singer M., Deutschman C.S., Seymour C.W., Shankar-Hari M., Annane D., Bauer M., Bellomo R., Bernard G.R., Chiche J.D., Cooper-Smith C.M., Hotchkiss R.S., Levy M.M., Marshall J.C., Martin G.S., Opal S., Rubenfeld G.D., van der Poll T., Vincent J.L., Angus D.C. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA.* 2016; 315 (8): 801-810. DOI: 10.1001/jama.2016.0287. PMID: 26903338
13. Zampieri F.G., Park M., Machado F.S., Azevedo L.C. Sepsis-associated encephalopathy: not just delirium. *Clinics (Sao Paulo).* 2011; 66 (10): 1825-1831. DOI: 10.1590/S1807-59322011001000024. PMID: 22012058
14. Ebersoldt M., Sharshar T., Annane D. Sepsis-associated delirium. *Intensive Care Med.* 2007; 33 (6): 941-950. DOI: 10.1007/s00134-007-0622-2. PMID: 17410344
15. Gofton T.E., Young G.B. Sepsis-associated encephalopathy. *Nat. Rev. Neurol.* 2012; 8 (10): 557-566. DOI: 10.1038/nrneurol.2012.183. PMID: 22986430
16. Maltseva L.A., Bazilenko D.V. The role of sepsis-associated encephalopathy in the formation of multiorgan insufficiency syndrome in patients with severe sepsis and septic shock. *Vestnik Intensivnoi Terapii.* 2015; 3: 11-15. [In Russ.]
17. Young G.B. Encephalopathy of infection and systemic inflammation. *J. Clin. Neurophysiol.* 2013; 30 (5): 454-461. DOI: 10.1097/WNP.0b013e3182a73d83. PMID: 24084178
18. Hosokawa K., Gaspard N., Su F., Oddo M., Vincent J.-L., Taccone F.S. Clinical neurophysiological assessment of sepsis associated brain dysfunction: a systematic review. *Crit. Care.* 2014; 18 (6): 674. DOI: 10.1186/s13054-014-0674-y. PMID: 25482125
19. Piazza O., Cotena S., De Robertis E., Caranci F., Tufano R. Sepsis associated encephalopathy studied by MRI and cerebral spinal fluid S100B measurement. *Neurochem. Res.* 2009; 34 (7): 1289-1292. DOI: 10.1007/s11064-008-9907-2. PMID: 19132530
20. Sharshar T., Carlier R., Bernard F., Guidoux C., Brouland J.P., Nardi O., de la Grandmaison G.L., Aboab J., Gray F., Menon D., Annane D. Brain lesions in septic shock: a magnetic resonance imaging study. *Intensive Care Med.* 2007; 33 (5): 798-806. DOI: 10.1007/s00134-007-0598-y. PMID: 17377766
21. Oddo M., Taccone F.S. How to monitor the brain in septic patients? *Minerva Anestesiologica.* 2015; 81 (7): 776-788. PMID: 25812488
22. Stubbs D.J., Yamamoto A.K., Menon D.K. Imaging in sepsis-associated encephalopathy-insights and opportunities. *Nat. Rev. Neurol.* 2013; 9 (10): 551-561. DOI: 10.1038/nrneurol.2013.177. PMID: 23999468
23. Pfister D., Siegemund M., Dell-Kuster S., Smielewski P., Rüegg S., Strebel S.P., Marsch S.C., Pargger H., Steiner L.A. Cerebral perfusion in sepsis-associated delirium. *Crit. Care.* 2008; 12 (3): R63. DOI: 10.1186/cc6891. PMID: 18457586
24. Szatmári S., Végh T., Csomós A., Hallay J., Takács I., Molnár C., Fülesdi B. Impaired cerebrovascular reactivity in sepsis-associated encephalopathy studied by acetazolamide test. *Crit. Care.* 2010; 14 (2): R50. DOI: 10.1186/cc8939. PMID: 20356365
25. Busygin S.N., Klink Yu.P., Bubnova I.D. Hemodynamics regulation and serum level of protein S100 in septic encephalopathy. *Ural'sky Meditsinskyy Zhurnal.* 2013; 3 (108): 53-57. [In Russ.]
26. Zenaide P. V., Gusmao-Flores D. Biomarkers in septic encephalopathy: a systematic review of clinical studies. *Rev. Bras. Ter. Intensiva.* 2013; 25 (1): 56-62. PMID: 23887761
27. Yao B., Zhang L.N., Ai Y.H., Liu Z.Y., Huang L. Serum S100b is a better biomarker than neuron-specific enolase for sepsis-associated encephalopathy and determining its prognosis: a prospective and observational

Reviews

- study. *Neurochem. Res.* 2014; 39 (7): 1263-1269. DOI: 10.1007/s11064-014-1308-0. PMID: 24760429
28. Гашилова Ф.Ф., Жукова Н.Г. Нейрон-специфическая енолаза в сыворотке крови как диагностический маркер паркинсонизма. *Бюл. сибирской медицины.* 2005; 4 (3): 28-33.
 29. Nguyen D.N., Spapen H., Su F., Schiettecatte J., Shi L., Hachimi-Idrissi S., Huyghens L. Elevated serum levels of S-100 protein and neuron-specific enolase are associated with brain injury in patients with severe sepsis and septic shock. *Crit. Care Med.* 2006; 34 (7): 1967-1974. DOI: 10.1097/01.CCM.0000217218.51381.49. PMID: 16607230
 30. Hsu A.A., Fenton K., Weinstein S., Carpenter J., Dalton H., Bell M.J. Neurological injury markers in children with septic shock. *Pediatr. Crit. Care Med.* 2008; 9 (3): 245-251. DOI: 10.1097/PCC.0b013e3181727b22. PMID: 18446104
 31. Tomasi C.D., Vuolo F., Generoso J., Soares M., Barichello T., Quevedo J., Ritter C., Dal-Pizzol F. Biomarkers of delirium in a low-risk community-acquired pneumonia-induced sepsis. *Mol. Neurobiol.* 2017; 54 (1): 722-726. DOI: 10.1007/s12035-016-9708-6. PMID: 26768428
 32. Comim C.M., Cassol-Jr O.J., Constantino L.C., Petronilho F., Constantino L.S., Stertz L., Kapczinski F., Barichello T., Quevedo J., Dal-Pizzol F. Depressive-like parameters in sepsis survivor rats. *Neurotox. Res.* 2010; 17 (3): 279-286. DOI: 10.1007/s12640-009-9101-6. PMID: 19705213
 33. Comim C.M., Silva N.C., Mina F., Domingui D., Scaini G., Morais M.O., Rosa D.V., Magno L.A., Streck E.L., Romano-Silva M.A., Quevedo J., Dal-Pizzol F. Evaluation of NCS-1, DARPP-32, and neurotrophins in hippocampus and prefrontal cortex in rats submitted to sepsis. *Synapse.* 2014; 68 (10): 474-479. DOI: 10.1002/syn.21760. PMID: 24978930
 34. Vasconcelos A.R., Yshii L.M., Viel T.A., Buck H.S., Mattson M.P., Scavone C., Kawamoto E.M. Intermittent fasting attenuates lipopolysaccharide-induced neuroinflammation and memory impairment. *J. Neuroinflammation.* 2014; 11: 85. DOI: 10.1186/1742-2094-11-85. PMID: 24886399
 35. Ritter C., Miranda A.S., Giombelli V.R., Tomasi C.D., Comim C.M., Teixeira A.L., Quevedo J., Dal-Pizzol F. Brain-derived neurotrophic factor plasma levels are associated with mortality in critically ill patients even in the absence of brain injury. *Crit. Care.* 2012; 16 (6): R234. DOI: 10.1186/cc11902. PMID: 23245494
 36. Girard T.D., Jackson J.C., Pandharipande P.P., Pun B.T., Thompson J.L., Shintani A.K., Gordon S.M., Canonico A.E., Dittus R.S., Bernard G.R., Ely E.W. Delirium as a predictor of long-term cognitive impairment in survivors of critical illness. *Crit. Care Med.* 2010; 38 (7): 1513-1520. DOI: 10.1097/CCM.0b013e3181e47be1. PMID: 20473145
 37. Sweis R., Ortiz J., Biller J. Neurology of sepsis. *Curr. Neurol. Neurosci. Rep.* 2016; 16 (3): 21. DOI: 10.1007/s11910-016-0623-z. PMID: 26820754
 38. Tanaka T., Sunden Y., Sakoda Y., Kida H., Ochiai K., Umemura T. Lipopolysaccharide treatment and inoculation of influenza A virus results in influenza virus-associated encephalopathy-like changes in neonatal mice. *J. Neurovirol.* 2010; 16 (2): 125-132. DOI: 10.3109/13550281003682521. PMID: 20345319
 39. Flierl M.A., Stahel P.F., Rittirsch D., Huber-Lang M., Niederbichler A.D., Hoelzel L.M., Touban B.M., Morgan S.J., Ward P.A., Iwakuchi K. Inhibition of complement C5a prevents breakdown of the blood-brain barrier and pituitary dysfunction in experimental sepsis. *Crit. Care.* 2009; 13 (1): R12. DOI: 10.1186/cc7710. PMID: 19196477
 40. Barichello T., Machado R.A., Constantino L., Valvassori S.S., Réus G.Z., Martins M.R., Petronilho F., Ritter C., Quevedo J., Dal-Pizzol F. Antioxidant treatment prevented late memory impairment in an animal model of sepsis. *Crit. Care Med.* 2007; 35 (9): 2186-2190. DOI: 10.1097/01.CCM.0000281452.60683.96. PMID: 17855835
 41. Calsavara A.C., Rodrigues D.H., Miranda A.S., Costa P.A., Lima C.X., Vilela M.C., Rachid M.A., Teixeira A.L. Late anxiety-like behavior and neuroinflammation in mice subjected to sublethal polymicrobial sepsis. *Neurotox. Res.* 2013; 24 (2): 103-108. DOI: 10.1007/s12640-012-9364-1. PMID: 23224747
 42. Gao R., Kan M.Q., Wang S.G., Yang R.H., Zhang S.G. Disrupted tryptophan metabolism induced cognitive impairment in a mouse model of sepsis-associated encephalopathy. *Inflammation.* 2016; 39 (2): 550-560. DOI: 10.1007/s10753-015-0279-x. PMID: 26508338
 43. Wu J., Zhang M., Hao S., Jia M., Ji M., Qiu L., Sun X., Yang J., Li K. Mitochondria-targeted peptide reverses mitochondrial dysfunction and cognitive deficits in sepsis-associated tncephalopathy. *Mol. Neurobiol.* 2015; 52 (1): 783-791. DOI: 10.1007/s12035-014-8918-z. PMID: 25288156
 44. Venturi L., Miranda M., Selmi V., Vitali L., Tani A., Margheri M., De Gaudio A.R., Adembi C. Systemic sepsis exacerbates mild post-traumatic brain injury in the rat. *J. Neurotrauma.* 2009; 26 (9): 1547-1556. DOI: 10.1089/neu.2008-0723. PMID: 19257801
 45. Semmler A., Frisch C., Debeir T., Ramanathan M., Okulla T., Klockgether T., Heneka M.T. Long-term cognitive impairment, neuronal loss and reduced cortical cholinergic innervation after recovery from sepsis in a rodent model. *Exp. Neurol.* 2007; 204 (2): 733-740. DOI: 10.1016/j.expneurol.2007.01.003. PMID: 17306796
 - study. *Neurochem. Res.* 2014; 39 (7): 1263-1269. DOI: 10.1007/s11064-014-1308-0. PMID: 24760429
 28. Gashilova F.F., Zhukova N.G. Neuron-specific enolase in the blood serum as a diagnostic marker of parkinsonism. *Byulleten Sibirskoi Meditsiny.* 2005; 4 (3): 28-33. [In Russ.]
 29. Nguyen D.N., Spapen H., Su F., Schiettecatte J., Shi L., Hachimi-Idrissi S., Huyghens L. Elevated serum levels of S-100 protein and neuron-specific enolase are associated with brain injury in patients with severe sepsis and septic shock. *Crit. Care Med.* 2006; 34 (7): 1967-1974. DOI: 10.1097/01.CCM.0000217218.51381.49. PMID: 16607230
 30. Hsu A.A., Fenton K., Weinstein S., Carpenter J., Dalton H., Bell M.J. Neurological injury markers in children with septic shock. *Pediatr. Crit. Care Med.* 2008; 9 (3): 245-251. DOI: 10.1097/PCC.0b013e3181727b22. PMID: 18446104
 31. Tomasi C.D., Vuolo F., Generoso J., Soares M., Barichello T., Quevedo J., Ritter C., Dal-Pizzol F. Biomarkers of delirium in a low-risk community-acquired pneumonia-induced sepsis. *Mol. Neurobiol.* 2017; 54 (1): 722-726. DOI: 10.1007/s12035-016-9708-6. PMID: 26768428
 32. Comim C.M., Cassol-Jr O.J., Constantino L.C., Petronilho F., Constantino L.S., Stertz L., Kapczinski F., Barichello T., Quevedo J., Dal-Pizzol F. Depressive-like parameters in sepsis survivor rats. *Neurotox. Res.* 2010; 17 (3): 279-286. DOI: 10.1007/s12640-009-9101-6. PMID: 19705213
 33. Comim C.M., Silva N.C., Mina F., Domingui D., Scaini G., Morais M.O., Rosa D.V., Magno L.A., Streck E.L., Romano-Silva M.A., Quevedo J., Dal-Pizzol F. Evaluation of NCS-1, DARPP-32, and neurotrophins in hippocampus and prefrontal cortex in rats submitted to sepsis. *Synapse.* 2014; 68 (10): 474-479. DOI: 10.1002/syn.21760. PMID: 24978930
 34. Vasconcelos A.R., Yshii L.M., Viel T.A., Buck H.S., Mattson M.P., Scavone C., Kawamoto E.M. Intermittent fasting attenuates lipopolysaccharide-induced neuroinflammation and memory impairment. *J. Neuroinflammation.* 2014; 11: 85. DOI: 10.1186/1742-2094-11-85. PMID: 24886399
 35. Ritter C., Miranda A.S., Giombelli V.R., Tomasi C.D., Comim C.M., Teixeira A.L., Quevedo J., Dal-Pizzol F. Brain-derived neurotrophic factor plasma levels are associated with mortality in critically ill patients even in the absence of brain injury. *Crit. Care.* 2012; 16 (6): R234. DOI: 10.1186/cc11902. PMID: 23245494
 36. Girard T.D., Jackson J.C., Pandharipande P.P., Pun B.T., Thompson J.L., Shintani A.K., Gordon S.M., Canonico A.E., Dittus R.S., Bernard G.R., Ely E.W. Delirium as a predictor of long-term cognitive impairment in survivors of critical illness. *Crit. Care Med.* 2010; 38 (7): 1513-1520. DOI: 10.1097/CCM.0b013e3181e47be1. PMID: 20473145
 37. Sweis R., Ortiz J., Biller J. Neurology of sepsis. *Curr. Neurol. Neurosci. Rep.* 2016; 16 (3): 21. DOI: 10.1007/s11910-016-0623-z. PMID: 26820754
 38. Tanaka T., Sunden Y., Sakoda Y., Kida H., Ochiai K., Umemura T. Lipopolysaccharide treatment and inoculation of influenza A virus results in influenza virus-associated encephalopathy-like changes in neonatal mice. *J. Neurovirol.* 2010; 16 (2): 125-132. DOI: 10.3109/13550281003682521. PMID: 20345319
 39. Flierl M.A., Stahel P.F., Rittirsch D., Huber-Lang M., Niederbichler A.D., Hoelzel L.M., Touban B.M., Morgan S.J., Ward P.A., Iwakuchi K. Inhibition of complement C5a prevents breakdown of the blood-brain barrier and pituitary dysfunction in experimental sepsis. *Crit. Care.* 2009; 13 (1): R12. DOI: 10.1186/cc7710. PMID: 19196477
 40. Barichello T., Machado R.A., Constantino L., Valvassori S.S., Réus G.Z., Martins M.R., Petronilho F., Ritter C., Quevedo J., Dal-Pizzol F. Antioxidant treatment prevented late memory impairment in an animal model of sepsis. *Crit. Care Med.* 2007; 35 (9): 2186-2190. DOI: 10.1097/01.CCM.0000281452.60683.96. PMID: 17855835
 41. Calsavara A.C., Rodrigues D.H., Miranda A.S., Costa P.A., Lima C.X., Vilela M.C., Rachid M.A., Teixeira A.L. Late anxiety-like behavior and neuroinflammation in mice subjected to sublethal polymicrobial sepsis. *Neurotox. Res.* 2013; 24 (2): 103-108. DOI: 10.1007/s12640-012-9364-1. PMID: 23224747
 42. Gao R., Kan M.Q., Wang S.G., Yang R.H., Zhang S.G. Disrupted tryptophan metabolism induced cognitive impairment in a mouse model of sepsis-associated encephalopathy. *Inflammation.* 2016; 39 (2): 550-560. DOI: 10.1007/s10753-015-0279-x. PMID: 26508338
 43. Wu J., Zhang M., Hao S., Jia M., Ji M., Qiu L., Sun X., Yang J., Li K. Mitochondria-targeted peptide reverses mitochondrial dysfunction and cognitive deficits in sepsis-associated tncephalopathy. *Mol. Neurobiol.* 2015; 52 (1): 783-791. DOI: 10.1007/s12035-014-8918-z. PMID: 25288156
 44. Venturi L., Miranda M., Selmi V., Vitali L., Tani A., Margheri M., De Gaudio A.R., Adembi C. Systemic sepsis exacerbates mild post-traumatic brain injury in the rat. *J. Neurotrauma.* 2009; 26 (9): 1547-1556. DOI: 10.1089/neu.2008-0723. PMID: 19257801
 45. Semmler A., Frisch C., Debeir T., Ramanathan M., Okulla T., Klockgether T., Heneka M.T. Long-term cognitive impairment, neuronal loss and reduced cortical cholinergic innervation after recovery from sepsis in a rodent model. *Exp. Neurol.* 2007; 204 (2): 733-740. DOI: 10.1016/j.expneurol.2007.01.003. PMID: 17306796

46. Janz D.R., Abel T.W., Jackson J.C., Gunther M., Heckers S., Ely E.W. Brain autopsy findings in intensive care unit patients previously suffering from delirium: a pilot study. *J. Crit. Care.* 2010; 25 (3): 538.e7-538.e12. DOI: 10.1016/j.jcrc.2010.05.004. PMID: 20580199
47. Semmler A., Hermann S., Mormann F., Weberpals M., Paxian S.A., Okulla T., Schäfers M., Kummer M.P., Klockgether T., Heneka M.T. Sepsis causes neuroinflammation and concomitant decrease of cerebral metabolism. *J. Neuroinflammation.* 2008; 5: 38. DOI: 10.1186/1742-2094-5-38. PMID: 18793399
48. Yokoo H., Chiba S., Tomita K., Takashina M., Sagara H., Yagisita S., Takano Y., Hattori Y. Neurodegenerative evidence in mice brains with cecal ligation and puncture-induced sepsis: preventive effect of the free radical scavenger edaravone. *PLoS One.* 2012; 7 (12): e51539. DOI: 10.1371/journal.pone.0051539. PMID: 23236515
49. Papadopoulos M.C., Lamb F.J., Moss R.F., Davies D.C., Tighe D., Bennett E.D. Faecal peritonitis causes oedema and neuronal injury in pig cerebral cortex. *Clin. Sci. (Lond.)*. 1999; 96 (5): 461–466. DOI: 10.1042/CS19980327. PMID: 10209077
50. Sharshar T., Gray F., Poron F., Raphael J.C., Gajdos P., Annane D. Multifocal necrotizing leukoencephalopathy in septic shock. *Crit. Care Med.* 2002; 30 (10): 2371–2375. DOI: 10.1097/00003246-200210000-00031. PMID: 12394971
51. Messaris E., Memos N., Chatzigianni E., Konstadoulakis M.M., Menenakos E., Katsaragakis S., Voumvourakis C., Androulakis G. Time-dependent mitochondrial-mediated programmed neuronal cell death prolongs survival in sepsis. *Crit. Care Med.* 2004; 32 (8): 1764–1770. DOI: 10.1097/01.CCM.0000135744.30137.B4. PMID: 15286556
52. Liu L., Xie K., Chen H., Dong X., Li Y., Yu Y., Wang G., Yu Y. Inhalation of hydrogen gas attenuates brain injury in mice with cecal ligation and puncture via inhibiting neuroinflammation, oxidative stress and neuronal apoptosis. *Brain Res.* 2014; 1589: 78–92. DOI: 10.1016/j.brainres.2014.09.030. PMID: 25251596
53. Bozza F.A., D'Avila J.C., Ritter C., Sonnevile R., Sharshar T., Dal-Pizzol F. Bioenergetics, mitochondrial dysfunction, and oxidative stress in the pathophysiology of septic encephalopathy. *Shock.* 2013; 39 (Suppl 1): 10–16. DOI: 10.1097/SHK.0b013e31828fade1. PMID: 23481496
54. Green R., Scott L.K., Minagar A., Conrad S. Sepsis associated encephalopathy (SAE): a review. *Front. Biosci.* 2004; 9: 1637–1641. DOI: 10.2741/1250. PMID: 14977574
55. Basler T., Meier-Hellmann A., Bredle D., Reinhart K. Amino acid imbalance early in septic encephalopathy. *Intensive Care Med.* 2002; 28 (3): 293–298. DOI: 10.1007/s00134-002-1217-6. PMID: 11904658
56. Azevedo L.C. Mitochondrial dysfunction during sepsis. *Endocr. Metab. Immune Disord. Drug Targets.* 2010; 10 (3): 214–223. PMID: 20509844
57. Белобородова Н.В., Теплова В.В., Федотчева Н.И. Роль микробных метаболитов в дисфункции митохондрий при сепсисе. Саарбрюккен: Lambert Academic Publishing; 2013: 96.
58. Nico B., Ribatti D. Morphofunctional aspects of the blood–brain barrier. *Curr. Drug Metab.* 2012; 13 (1): 50–60. PMID: 22292807
59. Taccone F.S., Castanares-Zapatero D., Peres-Bota D., Vincent J.L., Berre J., Melot C. Cerebral autoregulation is influenced by carbon dioxide levels in patients with septic shock. *Neurocrit. Care.* 2010; 12 (1): 35–42. DOI: 10.1007/s12028-009-9289-6. PMID: 19806473
60. Taccone F.S., Scolletta S., Franchi F., Donadello K., Oddo M. Brain perfusion in sepsis. *Curr. Vasc. Pharmacol.* 2013; 11 (2): 170–186. PMID: 23506496
61. Soejima Y., Fujii Y., Ishikawa T., Takeshita H., Maekawa T. Local cerebral glucose utilization in septic rats. *Crit. Care Med.* 1990; 18 (4): 423–427. DOI: 10.1097/00003246-199004000-00015. PMID: 2318053
62. Симоенков А.П., Ключев В.М. Синдром серотониновой недостаточности. М.: Бином; 2013: 96.
63. Bilbo S.D., Barrientos R.M., Eads A.S., Northcutt A., Watkins L.R., Rudy J.W., Maier S.F. Early-life infection leads to altered BDNF and IL-1beta mRNA expression in rat hippocampus following learning in adulthood. *Brain Behav. Immun.* 2008; 22 (4): 451–455. DOI: 10.1016/j.bbi.2007.10.003. PMID: 17997277
64. Ertuğrul A., Ozdemir H., Vural A., Dalkara T., Meltzer H.Y., Saka E. The influence of N-desmethylclozapine and clozapine on recognition memory and BDNF expression in hippocampus. *Brain Res. Bull.* 2011; 84 (2): 144–150. DOI: 10.1016/j.brainresbull.2010.11.014. PMID: 21134422
65. Barrientos R.M., Sprunger D.B., Campeau S., Higgins E.A., Watkins L.R., Rudy J.W., Maier S.F. Brain-derived neurotrophic factor mRNA downregulation produced by social isolation is blocked by intrahippocampal interleukin-1 receptor antagonist. *Neuroscience.* 2003; 121 (4): 847–853. DOI: 10.1016/S0306-4522(03)00564-5. PMID: 14580934
66. Calsavara A.C., Soriani F.M., Vieira L.Q., Costa P.A., Rachid M.A., Teixeira A.L. TNFR1 absence protects against memory deficit induced by sepsis possibly through over-expression of hippocampal BDNF. *Metab. Brain Dis.* 2015; 30 (3): 669–678. DOI: 10.1007/s11011-014-9610-8. DOI: 10.1007/s11011-014-9610-8. PMID: 25148914
67. Острова И.В., Аврущенко М.Ш. Экспрессия мозгового нейротрофического фактора (BDNF) повышает устойчивость нейронов к
46. Janz D.R., Abel T.W., Jackson J.C., Gunther M., Heckers S., Ely E.W. Brain autopsy findings in intensive care unit patients previously suffering from delirium: a pilot study. *J. Crit. Care.* 2010; 25 (3): 538.e7-538.e12. DOI: 10.1016/j.jcrc.2010.05.004. PMID: 20580199
47. Semmler A., Hermann S., Mormann F., Weberpals M., Paxian S.A., Okulla T., Schäfers M., Kummer M.P., Klockgether T., Heneka M.T. Sepsis causes neuroinflammation and concomitant decrease of cerebral metabolism. *J. Neuroinflammation.* 2008; 5: 38. DOI: 10.1186/1742-2094-5-38. PMID: 18793399
48. Yokoo H., Chiba S., Tomita K., Takashina M., Sagara H., Yagisita S., Takano Y., Hattori Y. Neurodegenerative evidence in mice brains with cecal ligation and puncture-induced sepsis: preventive effect of the free radical scavenger edaravone. *PLoS One.* 2012; 7 (12): e51539. DOI: 10.1371/journal.pone.0051539. PMID: 23236515
49. Papadopoulos M.C., Lamb F.J., Moss R.F., Davies D.C., Tighe D., Bennett E.D. Faecal peritonitis causes oedema and neuronal injury in pig cerebral cortex. *Clin. Sci. (Lond.)*. 1999; 96 (5): 461–466. DOI: 10.1042/CS19980327. PMID: 10209077
50. Sharshar T., Gray F., Poron F., Raphael J.C., Gajdos P., Annane D. Multifocal necrotizing leukoencephalopathy in septic shock. *Crit. Care Med.* 2002; 30 (10): 2371–2375. DOI: 10.1097/00003246-200210000-00031. PMID: 12394971
51. Messaris E., Memos N., Chatzigianni E., Konstadoulakis M.M., Menenakos E., Katsaragakis S., Voumvourakis C., Androulakis G. Time-dependent mitochondrial-mediated programmed neuronal cell death prolongs survival in sepsis. *Crit. Care Med.* 2004; 32 (8): 1764–1770. DOI: 10.1097/01.CCM.0000135744.30137.B4. PMID: 15286556
52. Liu L., Xie K., Chen H., Dong X., Li Y., Yu Y., Wang G., Yu Y. Inhalation of hydrogen gas attenuates brain injury in mice with cecal ligation and puncture via inhibiting neuroinflammation, oxidative stress and neuronal apoptosis. *Brain Res.* 2014; 1589: 78–92. DOI: 10.1016/j.brainres.2014.09.030. PMID: 25251596
53. Bozza F.A., D'Avila J.C., Ritter C., Sonnevile R., Sharshar T., Dal-Pizzol F. Bioenergetics, mitochondrial dysfunction, and oxidative stress in the pathophysiology of septic encephalopathy. *Shock.* 2013; 39 (Suppl 1): 10–16. DOI: 10.1097/SHK.0b013e31828fade1. PMID: 23481496
54. Green R., Scott L.K., Minagar A., Conrad S. Sepsis associated encephalopathy (SAE): a review. *Front. Biosci.* 2004; 9: 1637–1641. DOI: 10.2741/1250. PMID: 14977574
55. Basler T., Meier-Hellmann A., Bredle D., Reinhart K. Amino acid imbalance early in septic encephalopathy. *Intensive Care Med.* 2002; 28 (3): 293–298. DOI: 10.1007/s00134-002-1217-6. PMID: 11904658
56. Azevedo L.C. Mitochondrial dysfunction during sepsis. *Endocr. Metab. Immune Disord. Drug Targets.* 2010; 10 (3): 214–223. PMID: 20509844
57. Beloborodova N.V., Teplova V.V., Fedotcheva N.I. The role of microbial metabolites in mitochondrial dysfunction in sepsis. Saarbrücken: Lambert Academic Publishing; 2013: 96. [In Russ.]
58. Nico B., Ribatti D. Morphofunctional aspects of the blood–brain barrier. *Curr. Drug Metab.* 2012; 13 (1): 50–60. PMID: 22292807
59. Taccone F.S., Castanares-Zapatero D., Peres-Bota D., Vincent J.L., Berre J., Melot C. Cerebral autoregulation is influenced by carbon dioxide levels in patients with septic shock. *Neurocrit. Care.* 2010; 12 (1): 35–42. DOI: 10.1007/s12028-009-9289-6. PMID: 19806473
60. Taccone F.S., Scolletta S., Franchi F., Donadello K., Oddo M. Brain perfusion in sepsis. *Curr. Vasc. Pharmacol.* 2013; 11 (2): 170–186. PMID: 23506496
61. Soejima Y., Fujii Y., Ishikawa T., Takeshita H., Maekawa T. Local cerebral glucose utilization in septic rats. *Crit. Care Med.* 1990; 18 (4): 423–427. DOI: 10.1097/00003246-199004000-00015. PMID: 2318053
62. Simonenkov A.P., Klyuzhev V.M. Syndrome of serotonin deficiency. Moscow: Binom; 2013: 96. [In Russ.]
63. Bilbo S.D., Barrientos R.M., Eads A.S., Northcutt A., Watkins L.R., Rudy J.W., Maier S.F. Early-life infection leads to altered BDNF and IL-1beta mRNA expression in rat hippocampus following learning in adulthood. *Brain Behav. Immun.* 2008; 22 (4): 451–455. DOI: 10.1016/j.bbi.2007.10.003. PMID: 17997277
64. Ertuğrul A., Ozdemir H., Vural A., Dalkara T., Meltzer H.Y., Saka E. The influence of N-desmethylclozapine and clozapine on recognition memory and BDNF expression in hippocampus. *Brain Res. Bull.* 2011; 84 (2): 144–150. DOI: 10.1016/j.brainresbull.2010.11.014. PMID: 21134422
65. Barrientos R.M., Sprunger D.B., Campeau S., Higgins E.A., Watkins L.R., Rudy J.W., Maier S.F. Brain-derived neurotrophic factor mRNA downregulation produced by social isolation is blocked by intrahippocampal interleukin-1 receptor antagonist. *Neuroscience.* 2003; 121 (4): 847–853. DOI: 10.1016/S0306-4522(03)00564-5. PMID: 14580934
66. Calsavara A.C., Soriani F.M., Vieira L.Q., Costa P.A., Rachid M.A., Teixeira A.L. TNFR1 absence protects against memory deficit induced by sepsis possibly through over-expression of hippocampal BDNF. *Metab. Brain Dis.* 2015; 30 (3): 669–678. DOI: 10.1007/s11011-014-9610-8. DOI: 10.1007/s11011-014-9610-8. PMID: 25148914
67. Ostrova I.V., Avrushchenko M.Sh. Expression of Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) increases the resistance of neurons to death in

Reviews

- гибели в постреанимационном периоде. *Общая реаниматология*. 2015; 11 (3): 45-53. DOI: 10.15360/1813-9779-2015-3-45-53
68. Chen A., Xiong L.J., Tong Y., Mao M. The neuroprotective roles of BDNF in hypoxic ischemic brain injury (review). *Biomed. Rep.* 2013; 1 (2): 167-176. DOI: 10.3892/br.2012.48. PMID: 24648914
 69. G  ral C., Angelova   ., Lesieur S. From molecular to nanotechnology strategies for delivery of neurotrophins: emphasis on brain-derived neurotrophic factor (BDNF). *Pharmaceutics*. 2013; 5 (1): 127-167. DOI: 10.3390/pharmaceutics5010127. PMID: 24300402
 70. Kondo S., Kohsaka S., Okabe S. Long-term changes of spine dynamics and microglia after transient peripheral immune response triggered by LPS *in vivo*. *Mol. Brain*. 2011; 4: 27. DOI: 10.1186/1756-6606-4-27. PMID: 21682853
 71. Sharshar T., Polito A., Checinski A., Stevens R.D. Septic-associated encephalopathy-everything starts at a microlevel. *Crit. Care*. 2010; 14 (5): 199. DOI: 10.1186/cc9254. PMID: 21067627
 72. De Backer D. Hemodynamic management of septic shock. *Curr. Infect. Dis. Rep.* 2006; 8 (5): 366-372. DOI: 10.1007/s11908-006-0047-z. PMID: 16934195
 73. Jeremias I.C., Victorino V.J., Machado J.L., Barroso W.A., Ariga S.K., Lima T.M., Soriano F.G. The severity of cecal ligature and puncture-induced sepsis correlates with the degree of encephalopathy, but the sepsis does not lead to acute activation of spleen lymphocytes in mice. *Mol. Neurobiol.* 2016; 53 (5): 3389-3399. DOI: 10.1007/s12035-015-9290-3. PMID: 26081155
 74. Nadeau S., Rivest S. Endotoxemia prevents the cerebral inflammatory wave induced by intraparenchymal lipopolysaccharide injection: role of glucocorticoids and CD14. *J. Immunol.* 2002; 169 (6): 3370-3381. DOI: 10.4049/jimmunol.169.6.3370. PMID: 12218159
 75. Han F., Yu H., Tian C., Li S., Jacobs M.R., Benedict-Alderfer C., Zheng Q.Y. Role for Toll-like receptor 2 in the immune response to Streptococcus pneumoniae infection in mouse otitis media. *Infect. Immun.* 2009; 77 (7): 3100-3108. DOI: 10.1128/IAI.00204-09. PMID: 19414550
 76. Ock J., Jeong J., Choi W.S., Lee W.H., Kim S.H., Kim I.K., Suk K. Regulation of Toll-like receptor 4 expression and its signaling by hypoxia in cultured microglia. *J. Neurosci. Res.* 2007; 85 (9): 1989-1995. DOI: 10.1002/jnr.21322. PMID: 17461416
 77. Riedemann N.C., Guo R.F., Ward P.A. The enigma of sepsis. *J. Clin. Invest.* 2003; 112 (4): 460-467. DOI: 10.1172/JCI19523. PMID: 12925683
 78. Zi  ja M., Pyka J., Ciombor J., Plonka P. Kinetics of nitric oxide release in neonatal and mature rat brain during endotoxemia, as studied by diethylthiocarbamate spin trapping. *Curr. Top Biophys.* 2005; 29 (1-2): 73-82.
 79. Guo R.F., Riedemann N.C., Ward P.A. Role of C5a-C5aR interaction in sepsis. *Shock*. 2004; 21 (1): 1-7. DOI: DOI: 10.1097/01.shk.0000105502.75189.5e. PMID: 14676676
 80. Kunze K. Metabolic encephalopathies. *J. Neurol.* 2002; 249 (9): 1150-1159. DOI: 10.1007/s00415-002-0869-z. PMID: 12242532
 81. Kushimoto S., Gando S., Saitoh D., Ogura H., Mayumi T., Koseki K., Ikeda T., Ishikura H., Iba T., Ueyama M., Eguchi Y., Otomo Y., Okamoto K., Endo S., Shimazaki S.; Japanese Association for Acute Medicine Disseminated Intravascular Coagulation (JAAM DIC) Study Group. Clinical course and outcome of disseminated intravascular coagulation diagnosed by Japanese Association for Acute Medicine criteria. Comparison between sepsis and trauma. *Thromb. Haemost.* 2008; 100 (6): 1099-1105. DOI: 10.1160/TH08-05-0306. PMID: 19132236
 82. Weon Y.C., Marsot-Dupuch K., Ducreux D., Lasjaunias P. Septic thrombosis of the transverse and sigmoid sinuses: imaging findings. *Neuroradiology*. 2005; 47 (3): 197-203. DOI: 10.1007/s00234-004-1313-0. PMID: 15778836
 83. Sprung C.L. The role of amino acid changes in septic encephalopathy. In: Vincent J.L. (ed.). Update 1990. Update in Intensive Care and Emergency Medicine. vol 10. Berlin, Heidelberg: Springer Link; 1990: 60-68. DOI: 10.1007/978-3-642-84125-5_6
 84. Nakamura T., Kawagoe Y., Matsuda T., Ebihara I., Koide H. Effects of polymyxin B-immobilized fiber hemoperfusion on amino acid imbalance in septic encephalopathy. *Blood Purif.* 2003; 21 (4-5): 282-286. DOI: 10.1159/000072546. PMID: 12944727
 85. Khodakova A., Beloborodova N.V. Microbial metabolites in the blood of patients with sepsis. *Crit. Care*. 2007; 11 (Suppl 4): P5. DOI: 10.1186/cc5984.
 86. Белобородова Н.В., Хо  акова А.С., Байрамов И.Т., Оленин А.Ю. Микробный путь образования фенилкарбоновых кислот в организме человека. *Биохимия*. 2009; 74 (12): 1657-1663. PMID: 19961416
 87. Beloborodova N., Bairamov I., Olenin A., Shubina V., Teplova V., Fedotcheva N. Effect of phenolic acids of microbial origin on production of reactive oxygen species in mitochondria and neutrophils. *J. Biomed. Sci.* 2012; 19: 89. DOI: 10.1186/1423-0127-19-89. PMID: 23061754
 - the postresuscitation period. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2015; 11 (3): 45-53. DOI: 10.15360/1813-9779-2015-3-45-53. [In Russ., In Engl.]
 68. Chen A., Xiong L.J., Tong Y., Mao M. The neuroprotective roles of BDNF in hypoxic ischemic brain injury (review). *Biomed. Rep.* 2013; 1 (2): 167-176. DOI: 10.3892/br.2012.48. PMID: 24648914
 69. G  ral C., Angelova   ., Lesieur S. From molecular to nanotechnology strategies for delivery of neurotrophins: emphasis on brain-derived neurotrophic factor (BDNF). *Pharmaceutics*. 2013; 5 (1): 127-167. DOI: 10.3390/pharmaceutics5010127. PMID: 24300402
 70. Kondo S., Kohsaka S., Okabe S. Long-term changes of spine dynamics and microglia after transient peripheral immune response triggered by LPS *in vivo*. *Mol. Brain*. 2011; 4: 27. DOI: 10.1186/1756-6606-4-27. PMID: 21682853
 71. Sharshar T., Polito A., Checinski A., Stevens R.D. Septic-associated encephalopathy-everything starts at a microlevel. *Crit. Care*. 2010; 14 (5): 199. DOI: 10.1186/cc9254. PMID: 21067627
 72. De Backer D. Hemodynamic management of septic shock. *Curr. Infect. Dis. Rep.* 2006; 8 (5): 366-372. DOI: 10.1007/s11908-006-0047-z. PMID: 16934195
 73. Jeremias I.C., Victorino V.J., Machado J.L., Barroso W.A., Ariga S.K., Lima T.M., Soriano F.G. The severity of cecal ligature and puncture-induced sepsis correlates with the degree of encephalopathy, but the sepsis does not lead to acute activation of spleen lymphocytes in mice. *Mol. Neurobiol.* 2016; 53 (5): 3389-3399. DOI: 10.1007/s12035-015-9290-3. PMID: 26081155
 74. Nadeau S., Rivest S. Endotoxemia prevents the cerebral inflammatory wave induced by intraparenchymal lipopolysaccharide injection: role of glucocorticoids and CD14. *J. Immunol.* 2002; 169 (6): 3370-3381. DOI: 10.4049/jimmunol.169.6.3370. PMID: 12218159
 75. Han F., Yu H., Tian C., Li S., Jacobs M.R., Benedict-Alderfer C., Zheng Q.Y. Role for Toll-like receptor 2 in the immune response to Streptococcus pneumoniae infection in mouse otitis media. *Infect. Immun.* 2009; 77 (7): 3100-3108. DOI: 10.1128/IAI.00204-09. PMID: 19414550
 76. Ock J., Jeong J., Choi W.S., Lee W.H., Kim S.H., Kim I.K., Suk K. Regulation of Toll-like receptor 4 expression and its signaling by hypoxia in cultured microglia. *J. Neurosci. Res.* 2007; 85 (9): 1989-1995. DOI: 10.1002/jnr.21322. PMID: 17461416
 77. Riedemann N.C., Guo R.F., Ward P.A. The enigma of sepsis. *J. Clin. Invest.* 2003; 112 (4): 460-467. DOI: 10.1172/JCI19523. PMID: 12925683
 78. Zi  ja M., Pyka J., Ciombor J., Plonka P. Kinetics of nitric oxide release in neonatal and mature rat brain during endotoxemia, as studied by diethylthiocarbamate spin trapping. *Curr. Top Biophys.* 2005; 29 (1-2): 73-82.
 79. Guo R.F., Riedemann N.C., Ward P.A. Role of C5a-C5aR interaction in sepsis. *Shock*. 2004; 21 (1): 1-7. DOI: DOI: 10.1097/01.shk.0000105502.75189.5e. PMID: 14676676
 80. Kunze K. Metabolic encephalopathies. *J. Neurol.* 2002; 249 (9): 1150-1159. DOI: 10.1007/s00415-002-0869-z. PMID: 12242532
 81. Kushimoto S., Gando S., Saitoh D., Ogura H., Mayumi T., Koseki K., Ikeda T., Ishikura H., Iba T., Ueyama M., Eguchi Y., Otomo Y., Okamoto K., Endo S., Shimazaki S.; Japanese Association for Acute Medicine Disseminated Intravascular Coagulation (JAAM DIC) Study Group. Clinical course and outcome of disseminated intravascular coagulation diagnosed by Japanese Association for Acute Medicine criteria. Comparison between sepsis and trauma. *Thromb. Haemost.* 2008; 100 (6): 1099-1105. DOI: 10.1160/TH08-05-0306. PMID: 19132236
 82. Weon Y.C., Marsot-Dupuch K., Ducreux D., Lasjaunias P. Septic thrombosis of the transverse and sigmoid sinuses: imaging findings. *Neuroradiology*. 2005; 47 (3): 197-203. DOI: 10.1007/s00234-004-1313-0. PMID: 15778836
 83. Sprung C.L. The role of amino acid changes in septic encephalopathy. In: Vincent J.L. (ed.). Update 1990. Update in Intensive Care and Emergency Medicine. vol 10. Berlin, Heidelberg: Springer Link; 1990: 60-68. DOI: 10.1007/978-3-642-84125-5_6
 84. Nakamura T., Kawagoe Y., Matsuda T., Ebihara I., Koide H. Effects of polymyxin B-immobilized fiber hemoperfusion on amino acid imbalance in septic encephalopathy. *Blood Purif.* 2003; 21 (4-5): 282-286. DOI: 10.1159/000072546. PMID: 12944727
 85. Khodakova A., Beloborodova N.V. Microbial metabolites in the blood of patients with sepsis. *Crit. Care*. 2007; 11 (Suppl 4): P5. DOI: 10.1186/cc5984.
 86. Beloborodova N.V., Khodakova A.S., Bairamov I.T., Olenin A.Y. Microbial origin of phenylcarboxylic acids in the human body. *Biochemistry (Mosc.)*. 2009; 74 (12): 1350-1355. DOI: 10.1134/S0006297909120086. PMID: 19961416. [In Russ., In Engl.]
 87. Beloborodova N., Bairamov I., Olenin A., Shubina V., Teplova V., Fedotcheva N. Effect of phenolic acids of microbial origin on production of reactive oxygen species in mitochondria and neutrophils. *J. Biomed. Sci.* 2012; 19: 89. DOI: 10.1186/1423-0127-19-89. PMID: 23061754

88. Белобородова Н.В., Байрамов И.Т., Оленин А.Ю., Федотчева Н.И. Экзометаболиты некоторых анаэробных микроорганизмов микрофлоры человека. *Биомед. химия*. 2011; 57 (1): 95-105. PMID: 21516781
89. Sarshor Y., Beloborodova N., Moroz V., Osipov A., Bedova A., Chernevskaya E. Getsina M. Value of microbial metabolites in blood serum as criteria for bacterial load in the pathogenesis of hemodynamic disorders in critically ill patients. *Crit. Care*. 2014; 18 (Suppl 1): P208. DOI: 10.1186/cc13398
90. Beloborodova N., Moroz V., Osipov A., Bedova A., Sarshor Y., Vlasenko A., Olenin A. Tyrosine metabolism disorder and the potential capability of anaerobic microbiota to decrease the value of aromatic metabolites in critically ill patients. *Crit. Care*. 2014; 18 (Suppl 2): P60. DOI: 10.1186/cc14063
91. Белобородова Н.В., Мороз В.В., Бедова А.Ю., Осипов А.А., Саршор Ю.Н., Черневская Е.А. Участие ароматических микробных метаболитов в развитии тяжелой инфекции и сепсиса. *Анестезиология и реаниматология*. 2016; 61 (3): 201-209.
92. Mizock B.A., Sabelli H.C., Dubin A., Javaid J.I., Poulos A., Rackow E.C. Septic encephalopathy. Evidence for altered phenylalanine metabolism and comparison with hepatic encephalopathy. *Arch. Intern. Med.* 1990; 150 (2): 443-449. PMID: 2302019
93. Hörster F., Schwab M.A., Sauer S.W., Pietz J., Hoffmann G.F., Okun J.G., Kölker S., Kins S. Phenylalanine reduces synaptic density in mixed cortical cultures from mice. *Pediatr. Res.* 2006; 59 (4 Pt 1): 544-548. DOI: 10.1203/01.pdr.0000203091.45988.8d. PMID: 16549526
94. Robain O., Wisniewski H.M., Loo Y.H., Wen G.Y. Experimental phenylketonuria: Effect of phenylacetate intoxication on number of synapses in the cerebellar cortex of the rat. *Acta Neuropathol.* 1983; 61 (3-4): 313-315. DOI: 10.1007/BF00692004. PMID: 6685965
95. Williams R.A., Mamotte C.D.S., Burnett J.R. Phenylketonuria: an inborn error of phenylalanine metabolism. *Clin. Biochem. Rev.* 2008; 29 (1): 31-41. PMID: 18566686
96. Zhou G., Kamenos G., Pendem S., Wilson J.X., Wu F. Ascorbate protects against vascular leakage in cecal ligation and puncture-induced septic peritonitis. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2012; 302 (4): R409-R416. DOI: 10.1152/ajpregu.00153.2011. PMID: 22116513
97. Gamal M., Moawad J., Rashed L., El-Eraky W., Saleh D., Lehmann C., Sharawy N. Evaluation of the effects of Eserine and JWH-133 on brain dysfunction associated with experimental endotoxemia. *J. Neuroimmunol.* 2015; 281: 9-16. DOI: 10.1016/j.jneuroim.2015.02.008. PMID: 25867462
98. Toklu H.Z., Uysal M.K., Kabasakal L., Sirvanci S., Ercan F., Kaya M. The effects of riluzole on neurological, brain biochemical, and histological changes in early and late term of sepsis in rats. *J. Surg. Res.* 2009; 152 (2): 238-248. DOI: 10.1016/j.jss.2008.03.013. PMID: 18718604
99. Moss R.F., Parmar N.K., Tighe D., Davies D.C. Adrenergic agents modify cerebral edema and microvessel ultrastructure in porcine sepsis. *Crit. Care Med.* 2004; 32 (9): 1916-1921. PMID: 15343022
100. Li R., Tong J., Tan Y., Zhu S., Yang J., Ji M. Low molecular weight heparin prevents lipopolysaccharide induced-hippocampus-dependent cognitive impairments in mice. *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* 2015; 8 (8): 8881-8891. PMID: 26464629
101. Esen F., Senturk E., Ozcan P.E., Ahishali B., Arican N., Orhan N., Ekizoglu O., Kucuk M., Kaya M. Intravenous immunoglobulins prevent the breakdown of the blood-brain barrier in experimentally induced sepsis. *Crit. Care Med.* 2012; 40 (4): 1214-1220. DOI: 10.1097/CCM.0b013e31823779ca. PMID: 22202704
102. Busund R., Koukline V., Utrobin U., Nedashkovsky E. Plasmapheresis in severe sepsis and septic shock: a prospective, randomised, controlled trial. *Intensive Care Med.* 2002; 28 (10): 1434-1439. DOI: 10.1007/s00134-002-1410-7. PMID: 12373468
103. Pandharipande P.P., Sanders R.D., Girard T.D., McGrane S., Thompson J.L., Shintani A.K., Herr D.L., Maze M., Ely E.W. MENDS investigators. Effect of dexmedetomidine versus lorazepam on outcome in patients with sepsis: an *a priori*-designed analysis of the MENDS randomized controlled trial. *Crit. Care*. 2010; 14 (2): R38. DOI: 10.1186/cc8916. PMID: 20233428
88. Beloborodova N.V., Bairamov I.T., Olenin A.Yu., Fedotcheva N.I. Exo-metabolites of some anaerobic microorganisms of human microflora. *Biomed. Khim.* 2011; 57 (1): 95-105. PMID: 21516781. [In Russ., In Engl.]
89. Sarshor Y., Beloborodova N., Moroz V., Osipov A., Bedova A., Chernevskaya E. Getsina M. Value of microbial metabolites in blood serum as criteria for bacterial load in the pathogenesis of hemodynamic disorders in critically ill patients. *Crit. Care*. 2014; 18 (Suppl 1): P208. DOI: 10.1186/cc13398
90. Beloborodova N., Moroz V., Osipov A., Bedova A., Sarshor Y., Vlasenko A., Olenin A. Tyrosine metabolism disorder and the potential capability of anaerobic microbiota to decrease the value of aromatic metabolites in critically ill patients. *Crit. Care*. 2014; 18 (Suppl 2): P60. DOI: 10.1186/cc14063
91. Sarshor Y., Moroz V.V., Bedova A.Yu., Osipov A.A., Sarshor Yu.N., Chernevskaya E.A. Participation of aromatic microbial metabolites in the development of severe infection and sepsis. *Anesteziology i Reanimatologiya*. 2016; 61 (3): 202-208. [In Russ.]
92. Mizock B.A., Sabelli H.C., Dubin A., Javaid J.I., Poulos A., Rackow E.C. Septic encephalopathy. Evidence for altered phenylalanine metabolism and comparison with hepatic encephalopathy. *Arch. Intern. Med.* 1990; 150 (2): 443-449. PMID: 2302019
93. Hörster F., Schwab M.A., Sauer S.W., Pietz J., Hoffmann G.F., Okun J.G., Kölker S., Kins S. Phenylalanine reduces synaptic density in mixed cortical cultures from mice. *Pediatr. Res.* 2006; 59 (4 Pt 1): 544-548. DOI: 10.1203/01.pdr.0000203091.45988.8d. PMID: 16549526
94. Robain O., Wisniewski H.M., Loo Y.H., Wen G.Y. Experimental phenylketonuria: Effect of phenylacetate intoxication on number of synapses in the cerebellar cortex of the rat. *Acta Neuropathol.* 1983; 61 (3-4): 313-315. DOI: 10.1007/BF00692004. PMID: 6685965
95. Williams R.A., Mamotte C.D.S., Burnett J.R. Phenylketonuria: an inborn error of phenylalanine metabolism. *Clin. Biochem. Rev.* 2008; 29 (1): 31-41. PMID: 18566686
96. Zhou G., Kamenos G., Pendem S., Wilson J.X., Wu F. Ascorbate protects against vascular leakage in cecal ligation and puncture-induced septic peritonitis. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2012; 302 (4): R409-R416. DOI: 10.1152/ajpregu.00153.2011. PMID: 22116513
97. Gamal M., Moawad J., Rashed L., El-Eraky W., Saleh D., Lehmann C., Sharawy N. Evaluation of the effects of Eserine and JWH-133 on brain dysfunction associated with experimental endotoxemia. *J. Neuroimmunol.* 2015; 281: 9-16. DOI: 10.1016/j.jneuroim.2015.02.008. PMID: 25867462
98. Toklu H.Z., Uysal M.K., Kabasakal L., Sirvanci S., Ercan F., Kaya M. The effects of riluzole on neurological, brain biochemical, and histological changes in early and late term of sepsis in rats. *J. Surg. Res.* 2009; 152 (2): 238-248. DOI: 10.1016/j.jss.2008.03.013. PMID: 18718604
99. Moss R.F., Parmar N.K., Tighe D., Davies D.C. Adrenergic agents modify cerebral edema and microvessel ultrastructure in porcine sepsis. *Crit. Care Med.* 2004; 32 (9): 1916-1921. PMID: 15343022
100. Li R., Tong J., Tan Y., Zhu S., Yang J., Ji M. Low molecular weight heparin prevents lipopolysaccharide induced-hippocampus-dependent cognitive impairments in mice. *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* 2015; 8 (8): 8881-8891. PMID: 26464629
101. Esen F., Senturk E., Ozcan P.E., Ahishali B., Arican N., Orhan N., Ekizoglu O., Kucuk M., Kaya M. Intravenous immunoglobulins prevent the breakdown of the blood-brain barrier in experimentally induced sepsis. *Crit. Care Med.* 2012; 40 (4): 1214-1220. DOI: 10.1097/CCM.0b013e31823779ca. PMID: 22202704
102. Busund R., Koukline V., Utrobin U., Nedashkovsky E. Plasmapheresis in severe sepsis and septic shock: a prospective, randomised, controlled trial. *Intensive Care Med.* 2002; 28 (10): 1434-1439. DOI: 10.1007/s00134-002-1410-7. PMID: 12373468
103. Pandharipande P.P., Sanders R.D., Girard T.D., McGrane S., Thompson J.L., Shintani A.K., Herr D.L., Maze M., Ely E.W. MENDS investigators. Effect of dexmedetomidine versus lorazepam on outcome in patients with sepsis: an *a priori*-designed analysis of the MENDS randomized controlled trial. *Crit. Care*. 2010; 14 (2): R38. DOI: 10.1186/cc8916. PMID: 20233428

Поступила 20.07.17

Received 20.07.17

Информация для авторов журнала «Общая реаниматология»

Правила подготовки, подачи и публикации рукописи, дополненные в соответствии с рекомендациями АНРИ (Ассоциации Научных Редакторов и Издателей, РФ) и ICMJE (International Committee of Medical Journal Editors) для научных изданий, входящих в международные базы данных, в редакции от 17.02.2017 г.

Information for English-Speaking Authors

Requirements for publication in the journal General Reanimatology based on «International Committee of Medical Journal Editors. Recommendations for the Conduct, Reporting, Editing and Publication of Scholarly Work in Medical Journals», which is available at <http://www.ICMJE.org>.

Правовые аспекты публикации рукописи

Условия публикации рукописи

— Рукописи публикуются при обязательном соблюдении автором этики и правил публикации (подробнее на сайте журнала: www.reanimatology.com).

— Рукописи публикуются с соблюдением норм авторского права и конфиденциального отношения к персональным данным авторов.

— Рукописи публикуются бесплатно.

— Рукописи, принятые в журнал, проходят рецензирование на оригинальность, этичность, значимость, адекватность статистической обработки данных на условиях конфиденциальности за исключением выявления фальсификации данных.

— Редакция оставляет за собой право сокращать и редактировать рукописи.

Причины снятия с печати и задержки публикации рукописи

— Рукописи, не соответствующие профилю журнала, не принимаются.

— Рукописи, ранее опубликованные, а также направленные в другой журнал или сборник, не принимаются.

— За некорректное оформление и недостоверность представляемых библиографических данных авторы несут ответственность вплоть до снятия рукописи с печати.

— Нарушение правил оформления рукописи, несвоевременный, а также неадекватный ответ на замечания рецензентов и научных редакторов приводят к задержке публикации до исправления указанных недостатков. При игнорировании замечаний рецензентов и научных редакторов рукопись снимается с дальнейшего рассмотрения.

— Рукописи отклоненных работ редакцией не возвращаются.

Интересы сторон: Автор/Редакция

Редакция оставляет за собой право считать, что авторы, предоставившие рукопись для публикации в журнал «Общая реаниматология», согласны с условиями публикации и отклонения рукописи, а также с правилами ее оформления.

Редакция оставляет за собой право считать, что автор, ответственный за переписку с редакцией, выражает позицию всего авторского коллектива.

Автор получает информационные электронные письма обо всех этапах продвижения рукописи, включая уведомление о несоответствии рукописи профилю журнала и правилам оформления; тексты рецензий; решение редколлегии о публикации или отклонении рукописи; верстку отредактированного варианта рукописи для получения авторского допуска к печати. Дополнительную информацию о продвижении рукописи автор может получить по адресу: journal_or@mail.ru; www.reanimatology.com.

Гарантии Автора

Предоставленная в редакцию рукопись полностью оригинальна. Использование любых материалов других авторов допускается только с их разрешения и при обязательной ссылке на этих авторов.

Список авторов содержит только тех лиц, которые внесли ощутимый вклад в концепцию, проект, исполнение или интерпретацию заявленной работы, то есть тех лиц, которые соответствуют критериям авторства.

Рукопись не содержит материалов, запрещенных в открытой печати действующим законодательством России.

Гарантии редакции

Любые рукописи, полученные редакцией для рецензирования, будут восприниматься как конфиденциальные документы. Они не могут быть показаны другим лицам и обсуждены с ними, за исключением лиц, уполномоченных редакцией.

Неопубликованные материалы, находящиеся в предоставленной статье, не будут использованы в собственном исследовании научного редактора и рецензентов без письменного разрешения автора.

Рецензент не будет допущен к рассмотрению рукописи, если имеет место конфликт интересов в его конкурентных, партнерских либо других отношениях с кем-либо из авторов, компаний или организаций, связанных с материалом публикации.