

УДК 616-092.9

С.И. Вотрин

аспирант кафедры патологии человека ИПО врачей
ФГАОУ ВО Первый Московский государственный
медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава
России (Сеченовский Университет)

С.Б. Болевич

д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой патологии
человека ИПО врачей ФГАОУ ВО Первый Московский
государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова
Минздрава России (Сеченовский Университет)

С.И. Воробьев

д-р биол. наук, профессор кафедры патологии человека
ИПО врачей ФГАОУ ВО Первый Московский государственный
медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава
России (Сеченовский Университет)

А.С. Орлова

канд. мед. наук, доцент кафедры патологии человека
ИПО врачей ФГАОУ ВО Первый Московский государственный
медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава
России (Сеченовский Университет)

С.С. Болевич

врач-эндокринолог, аспирант кафедры патологии человека
ИПО врачей ФГАОУ ВО Первый Московский государственный
медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава
России (Сеченовский Университет)

Б.И. Тачиева

аспирант кафедры патологии человека ИПО врачей
ФГАОУ ВО Первый Московский государственный
медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава
России (Сеченовский Университет)

Д.Ю. Корсаков

аспирант кафедры патологии человека ИПО врачей
ФГАОУ ВО Первый Московский государственный
медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава
России (Сеченовский Университет)

Устранение гипоксии при остром аутоиммунном внутрисосудистом гемоллизе эритроцитов с помощью перфторуглеродной кровезамещающей эмульсии в эксперименте

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ:

Вотрин Сергей Иванович, аспирант кафедры патологии
человека ИПО врачей ФГАОУ ВО Первый Московский
государственный медицинский университет

S.I. Votrin

Postgraduate Student, Human Pathology, I.M. Sechenov First
Moscow State Medical University (Sechenov University)

S.B. Bolevich

MD, PhD, DSci, Full Prof., Chair of Human Pathology,
I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov
University)

S.I. Vorobiev

PhD, DSci, Full Prof., Human Pathology, I.M. Sechenov First
Moscow State Medical University (Sechenov University)

A.S. Orlova

MD, PhD, Associate Prof., Human Pathology, I.M. Sechenov
First Moscow State Medical University (Sechenov University)

S.S. Bolevich

MD, Endocrinologist; Postgraduate Student, Human Pathology,
I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov
University)

B.I. Tachieva

Postgraduate Student, Human Pathology, I.M. Sechenov First
Moscow State Medical University (Sechenov University)

D.Yu. Korsakov

Postgraduate Student, Human Pathology, I.M. Sechenov First
Moscow State Medical University (Sechenov University)

Elimination of hypoxia in acute autoimmune intravascular hemolysis with perfluorocarbon blood substituting emulsion in experiment

CONTACT INFORMATION

Sergei I. Votrin, Postgraduate Student, Human Pathology,
I.M. Sechenov First Moscow State Medical University
(Sechenov University)

им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет)

Адрес: 119435, г. Москва, ул. Россолимо, д. 11, стр. 4

Тел.: +7 (905) 730-44-28

E-mail: ser-vot@mail.ru

Статья поступила в редакцию: 20.04.2018

Статья принята к печати: 04.06.2018

Address: 11/4, Rossolimo str., Moscow, 119435, Russia

Tel.: +7 (905) 730-44-28

E-mail: ser-vot@mail.ru

Article received on: April 20, 2018

Article approved on: June 4, 2018

Аннотация

Аутоиммунный внутрисосудистый гемолиз — остро протекающий процесс разрушения эритроцитов в кровеносном русле в результате действия антител и комплемента на эритроцитарную мембрану. Токсины, а также продукты, выделяемые гемопаразитами, могут вызвать поражение эритроцитарной мембраны с последующей активизацией аутоиммунных реакций и проявлением острого аутоиммунного внутрисосудистого гемолиза. Применение кровезамещающей эмульсии перфторорганических соединений при анемии, вызванной острым аутоиммунным внутрисосудистым гемолизом, актуально особенно на фоне противопоказаний к использованию донорских эритроцитов. Применение искусственных кислородоносителей позволяет обеспечить органы и ткани кислородом, не вызывая усугубления аутоиммунного процесса.

Ключевые слова: аутоиммунный внутрисосудистый гемолиз, перфторорганические соединения, перфторуглеродная кровезамещающая эмульсия, искусственные кислородоносители.

Abstract

Autoimmune intravascular hemolysis is an acute process of destruction of erythrocytes in the bloodstream, as a result of the action of antibodies and complement on the erythrocyte membrane. Toxins, as well as the products released by hemoparasites, can cause damage to the erythrocyte membrane, followed by activation of autoimmune reactions and manifestation of acute autoimmune intravascular hemolysis. The use of blood-substituting emulsion of perfluoroorganic compounds in anemia caused by acute autoimmune intravascular hemolysis is especially relevant in presence of contraindications to the use of donor erythrocytes. The use of artificial oxygen carriers makes it possible to provide organs and tissues with oxygen without inducing aggravation of the autoimmune process.

Keywords: autoimmune intravascular hemolysis, perfluoroorganic compounds, perfluorocarbon blood substituting emulsion, artificial oxygen carriers.

ВВЕДЕНИЕ

Аутоиммунная гемолитическая анемия (АИГА) — это приобретенное заболевание, обусловленное появлением аутоантител (ААТ) в плазме крови и на эритроцитах, направленных против собственных антигенов (АГ) эритроцитов (Эр) [1]. АИГА подразделяется на острую и хроническую. Острое течение проявляется немедленной деструкцией Эр в кровеносном русле в течение нескольких дней или даже часов, так развивается внутрисосудистый гемолиз. Затем может наступить внесосудистый гемолиз, и патологический процесс приобретает хроническое течение. Именно по такому механизму развивается бабезиоз собак, осложненный АИГА [8].

Аутоиммунный внутрисосудистый гемолиз (АИВСГ) — остро протекающий процесс разрушения эритроцитов в кровеносном русле, в результате действия ААТ и комплемента на эритроцитарную мембрану. Токсины, а также продук-

ты, выделяемые гемопаразитами, могут вызвать поражение эритроцитарной мембраны с последующей активизацией аутоиммунных (АИ) реакций и проявлением острого АИВСГ [5]. При бабезиозе собак, осложненным АИГА, остропротекающий АИВСГ развивается даже после уничтожения возбудителя, что определяет высокую летальность, в результате быстроразвивающейся тяжелой гипоксии. Данное заболевание, проявляющееся у людей и животных, в том числе у собак, является хорошей моделью для изучения особенностей острого внутрисосудистого гемолиза [3, 5]. Бабезиоз собак — кровопаразитарное заболевание, передаваемое иксодовыми клещами, распространено повсеместно. Инкубационный период после укуса клеща составляет 2–21 день. Хотя частым признаком и является гемолитическая анемия, случаются также и другие вариации течения болезни. Возбудителем бабезиоза собак являются *Babesia canis* или *Babesia gibsoni*. Возбудителем бабезиоза у че-

ловека: *Babesia divergens* и *Babesia rodhaini* — в Европе, *Babesia microti* — в Америке [5, 6].

Внутрисосудистая паразитемия является причиной как внутрисосудистого, так и внесосудистого гемолиза, который приводит к развитию регенераторной анемии, гемоглобинемии, гемоглобинурии и билирубиноурии. Также появляется гипертермия, которая является результатом выделения эндогенных пирогенов в результате гемолиза, разрушения паразитов и/или активации медиаторов воспаления. Спленомегалия появляется как результат гиперплазии системы мононуклеарных фагоцитов. Гемолитический кризис вызывает анемическую гипоксию и метаболический ацидоз [5–8]. Бабезиоз собак может быть классифицирован на неосложненную и осложненную форму. Осложненные формы обычно представлены признаками гемолиза, включая лихорадку, анорексию, угнетенное состояние, бледность слизистых оболочек, спленомегалию и учащенный пульс. Эту форму также можно поделить на легкую, среднюю и тяжелую, опираясь на степень тяжести анемии. Случай легкого осложненного бабезиоза может прогрессировать до тяжелого, когда анемия становится угрозой для жизни [4, 5].

Возбудителя можно обнаружить по мазкам периферической крови. Диагноз бабезиоза устанавливается на основе результатов микроскопии мазков по Романовскому или ПЦР [3, 8]. Клиническая картина при бабезиозе собак, осложненным острым АИВСГ, является классической для острого АИВСГ. При развитии данной патологии у больных собак отмечают: гемоглобинурию, регенераторную анемию, признаки печеночной, а в тяжелых случаях и почечной, недостаточности [3]. Часто при лечении анемий врачи вынуждены прибегать к заместительной терапии, целью которой является восстановление необходимого количества красных клеток крови — носителей кислорода. Для этого используют донорские эритроциты, которые в необходимом объеме можно получить от здорового донора и использовать реципиенту незамедлительно с целью устранения жизнеугрожающей гипоксии. Но применение донорских эритроцитов иногда противопоказано, например, при острой фазе АИГА, проявляющейся в виде внутрисосудистого гемолиза [1, 8].

Применение кровезамещающей эмульсии перфторорганических соединений (ПФОС) типа «Перфторан» или «Фторэмульсия III» при анемии, вызванной острым аутоиммунным внутрисосудистым гемолизом, актуально особенно на фоне противопоказаний к использованию донорских эритроцитов. Применение искусственных кислородоносителей позволяет обеспечить органы и ткани кислородом, не вызывая усугубления аутоиммунного процесса. Эмульсия ПФОС позволяет в течение 48 часов животным с тяжелой анемией (гематокрит 10–12 %), поддерживать обеспечение жизненно важных орга-

нов кислородом, в то время как активный ретикулярный ответ при АИВСГ на фоне иммуносупрессивной терапии глюкокортикостероидами (ГКС), способствует образованию эритроцитов из ретикулоцитов за 24–48 часов. Это приводит к восстановлению эритроцитарного пула без использования донорских эритроцитов, что позволяет отсрочить трансфузию донорских эритроцитов или избежать ее полностью, тем самым нивелируя осложнения от применения донорской эритроцитарной массы.

Цели и задачи данной работы — установить клинический эффект от применения кровезамещающей эмульсии ПФОС при анемии, вызванной острым аутоиммунным внутрисосудистым гемолизом у собак; оценить эффективность кровезамещающей эмульсии ПФОС при системной гипоксии. Определить клиническую эффективность применения кровезамещающей эмульсии ПФОС по сравнению с донорскими эритроцитами при анемии у собак, вызванной острым аутоиммунным внутрисосудистым гемолизом. Изучить побочные реакции при использовании донорских эритроцитов у собак при анемии, вызванной острым аутоиммунным внутрисосудистым гемолизом.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включили 30 собак обоих полов, поступивших в Клинику ветеринарной медицины Научного центра биологических исследований г. Пушкино с диагнозом бабезиоз, осложненным острым АИВСГ. Диагноз был поставлен на основании обнаружения гемопаразита *Babesia* в мазке крови. Животные были разделены на три группы. Во все три группы отбирались животные с одинаковыми критериями: гематокрит (Ht) 9–12 %, билирубин 40–60 ммоль/л, лактат 5–6 ммоль/л, уровень сатурации (SpO₂) 78–80 %, уровень креатинина был в рамках нормальных значений — 80–160 ммоль/л. У данных собак присутствовал гемолиз плазмы, гемоглобинурия, анемичность и иктеричность слизистых оболочек, при микроскопии мазка крови были обнаружены бабезии и агглютинация эритроцитов в виде монетных столбиков. При центрифугировании крови плазма была окрашена в красный цвет, что подтверждало наличие острого АИВСГ в результате заражения животных бабезиозом [1, 3].

В первую контрольную группу включили 10 собак, для лечения которых применялась базовая терапия, включающая: преднизолон внутривенно (в/в) в дозе 4 мг/кг один раз в день пять дней подряд, который используется в качестве иммуносупрессора; в качестве дезинтоксикационного раствора в/в вводили NaCl 0,9 % — 20 мл/кг один раз в день пять дней подряд, антипротозойную терапию осуществляли подкожным (п/к) введением препарата «Пиро-Стоп» 0,5 мл/10 кг однократно.

«Пиро-Стоп» — это антипротозойный лекарственный препарат из группы имидазолина. В качестве действующего вещества в 1 мл раствора для инъекций содержится 120 мг имидакарба дипропионата. Лечебная доза собакам — 0,5 мл на 10 кг массы животного — вводили путем подкожного введения однократно. Во вторую группу вошли 10 животных. Им, помимо базовой терапии, в качестве заместительной терапии для восполнения количества погибших эритроцитов в результате острого АИВСГ в первый день обращения применялась эритроцитарная масса, при помощи которой гематокрит у реципиента поднимали до 20 %. Чтобы поднять Ht реципиента на 1 %, требуется на 1 кг реципиента 1 мл донорской эритроцитарной массы с Ht 45 %. Эту массу использовали в разбавлении NaCl 0,9 % в соотношении 1 : 1, в целом объем вводимого препарата крови реципиенту с Ht 10 % равнялся 20 мл/кг [3, 6].

В третью группу включили 10 собак, которым помимо базовой терапии вводили газотранспортную эмульсию ПФОС в виде препарата «Перфторан» для уменьшения гипоксии, возникшей в результате острого АИВСГ, при этом эритроцитарную массу для данных животных не использовали. «Перфторан» больным животным вводили в дозе 10 мл/кг один раз в день пять дней подряд. Препарат «Перфторан» представляет собой 20 % эмульсию наночастиц перфторорганических соединений, является газотранспортным заменителем донорской крови и по совокупности своих функций наилучшим образом подходит для устранения гипоксии у животных, возникшей в результате анемии. Наиболее эффективно препарат реализует свои свойства в первые 6 часов после инфузии при дыхании чистым кислородом или воздухом, обогащенным кислородом до 60–70 %.

Больным животным из трех групп проводили ингаляцию кислородом с насыщенностью потока равной 87–95,5 %, производительностью 5 л/мин (кислородный концентратор «Армед 7F-5L»). Всех исследуемых животных с анемией обследовали по стандартной схеме: анамнез *vitae* и анамнез *morbi*, клинический осмотр основными методами исследования, из дополнительных методов использовали: общий клинический анализ крови, биохимический анализ крови, микроскопию мазков крови, ультразвуковое исследование органов брюшной полости для исключения сопутствующих патологий.

Общий клинический анализ крови проводили на гематологическом анализаторе крови Mindrey BC-2800 Vet (Китай), что позволило осуществить мониторинг состава периферической крови. По уровню гематокрита определяли степень анемии.

Пульсоксиметрию у поступивших животных с целью определения уровня сатурации SpO₂ осуществляли прибором Mindrey IM-10 Vet (Китай) [9].

Биохимический анализ крови проводили с помощью биохимического анализатора крови

Idexxvettest 8008 (США). При помощи данного оборудования определяли концентрацию лактата, которая показывала степень гипоксии на клеточном уровне; также определяли концентрации креатинина, билирубина, дающие информацию о функциональной способности почек и печени.

Статистическую обработку данных проводили в программе MatLab. В ходе анализа рассчитывали средние арифметические значения и стандартные отклонения. Гипотезу о равенстве средних значений в трех группах проверяли с помощью одностороннего критерия Стьюдента для независимых выборок.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Животным контрольной группы в первый день обращения был поставлен диагноз бабезиоз путем обнаружения паразитов в эритроцитах при исследовании мазка периферической крови и проведен базовый курс терапии, который не включал препараты для коррекции гипоксии. Водили преднизолон в/в в дозе 4 мг/кг, который использовался в качестве иммуносупрессора, в качестве дезинтоксикационного раствора в/в вводили NaCl 0,9 % — 20 мл/кг, противопаразитарную терапию осуществляли введением препарата «Пиро-Стоп» п/к 0,5 мл/10 кг, проводили интенсивную кислородную ингаляцию.

В первый день у животных контрольной группы в клинической картине преобладали симптомы, характеризующиеся уменьшением циркулирующих эритроцитов, в результате острого АИВСГ: бледность и желтушность кожных покровов, видимых слизистых оболочек, отсутствие аппетита, повышенная жажда, одышка, тахикардия и тахипноэ, гемоглобинурия. При этом уровень гематокрита был критично снижен — $10,10 \pm 1,85$ %, концентрация лактата находилась выше референтных значений — $6,10 \pm 0,78$ ммоль/л, уровень SpO₂ был также существенно ниже референтных значений — $80,00 \pm 4,85$ %, что говорит об острой гипоксемии. Концентрация общего билирубина составляла $45,50 \pm 4,20$ ммоль/л, что свидетельствовало об образовании большого количества свободного гемоглобина и переходе его в несвязанный билирубин. Три собаки пали во время проведения лечебных мероприятий через час после введения антипротозойного препарата.

На второй день после лечебных мероприятий у животных первой контрольной группы признаки анемии в результате АИВСГ усилились: уровень гематокрита снизился до $9,0 \pm 0,83$ %, концентрация лактата осталась критично высокой — $6,00 \pm 0,85$ ммоль/л, уровень SpO₂ снизился до $79,0 \pm 2,3$ %, а концентрация билирубина выросла до $59,00 \pm 5,19$ ммоль/л. Клиническая картина проявлялась в виде усиления желтушности кожи

и слизистых оболочек, одышки, угнетения, отказа от корма и тахикардии, две собаки пали. Животным была проведена терапия, включающая преднизолон в/в в дозе 4 мг/кг, который использовался в качестве иммуносупрессора. В качестве дезинтоксикационного раствора в/в вводили NaCl 0,9 % — 20 мл/кг и проводили интенсивную кислородную ингаляцию.

На третий день у животных первой (контрольной) группы признаки анемии в результате АИВСГ сохранились, но гемоглобинурии уже не было. Уровень гематокрита поднялся до $10,00 \pm 0,81$ %, концентрация лактата увеличилась до $6,50 \pm 0,27$ ммоль/л, уровень SpO₂ стал $77 \pm 3,0$ %, а концентрация билирубина снизилась до $48,00 \pm 5,34$ ммоль/л. Клиническая картина проявлялась в виде желтушности кожи, слизистых оболочек, одышки, угнетения, отказа от корма и тахикардии, пали еще три собаки. Животным была проведена терапия, включающая преднизолон в/в в дозе 4 мг/кг; в/в вводили NaCl 0,9 % — 20 мл/кг и проводили интенсивную кислородную ингаляцию.

На четвертый день у животных контрольной группы признаки анемии в результате АИВСГ присутствовали: уровень гематокрита составлял $10,00 \pm 2,32$ %, концентрация лактата снизилась до $6,00 \pm 0,31$ ммоль/л, уровень SpO₂ возрос до $79,00 \pm 3,65$ %, а концентрация билирубина снизилась до $30,00 \pm 5,81$ ммоль/л. Желтушность кожи и слизистых оболочек видимо уменьшилась, но одышка, угнетение, отказ от корма и тахикардия присутствовали. Животным была проведена терапия, включающая преднизолон в/в в дозе 4 мг/кг; в/в вводили NaCl 0,9 % — 20 мл/кг и проводили интенсивную кислородную ингаляцию.

На пятый день у животных контрольной группы признаки анемии в результате АИВСГ уменьшились: уровень гематокрита поднялся до $15,00 \pm 1,89$ %, концентрация лактата снизилась до $4,00 \pm 0,32$ ммоль/л, уровень SpO₂ возрос до $85,00 \pm 3,24$ %, концентрация билирубина снизилась до $25,00 \pm 2,76$ ммоль/л. Желтушность кожи и слизистых оболочек исчезла, одышка, угнетение видимо уменьшились. Животные стали потреблять корм. Собакам была проведена терапия, включающая преднизолон в/в в дозе 4 мг/кг; в качестве дезинтоксикационного раствора в/в вводили NaCl 0,9 % — 20 мл/кг и проводили интенсивную кислородную ингаляцию.

У животных второй группы (эритроцитарной) в первый день в клинической картине преобладали симптомы, характеризующиеся уменьшением циркулирующих эритроцитов в результате острого АИВСГ: бледность и желтушность кожных покровов, видимых слизистых оболочек, отсутствие аппетита, повышенная жажда, одышка, тахикардия и тахипноэ, гемоглобинурия. При этом уровень гематокрита был критично снижен до $11,00 \pm 1,58$ %, концентрация лактата была выше референтных значений — $5,59 \pm 0,80$ ммоль/л, уровень SpO₂ стал существенно

ниже референтных значений — $79,00 \pm 3,81$ %, что говорит об острой гипоксемии. Концентрация общего билирубина составляла $41,00 \pm 5,23$ ммоль/л. Помимо базового курса терапии в первый день обращения больным животным вводили эритроцитарную массу, при помощи которой уровень гематокрита у реципиента поднимали до 18–20 %. Массу использовали в разбавлении с NaCl 0,9 % в соотношении 1 : 1, в целом объем вводимого препарата крови реципиенту с Ht, равным 11 %, составил 20 мл/кг. Также применяли преднизолон в/в в дозе 4 мг/кг, противопаразитарную терапию осуществили введением препарата «Пиро-Стоп» п/к 0,5 мл/10 кг, проводили интенсивную кислородную ингаляцию.

На второй день у собак второй группы общее состояние оставалось тяжелым, присутствовала бледность слизистых оболочек, желтушность кожных покровов и видимых слизистых усилилась, наблюдалось отсутствие аппетита, повышенная жажда, одышка, тахикардия и тахипноэ. Усилилась гемоглобинурия. Уровень гематокрита возрос до $15,00 \pm 1,42$ %, концентрация лактата увеличилась до $4,00 \pm 0,65$ ммоль/л, уровень SpO₂ существенно увеличился до $85,0 \pm 2,1$ %, а концентрация общего билирубина резко возросла до $288,0 \pm 18,2$ ммоль/л.

Две собаки пали после проведенного курса терапии (преднизолон в/в в дозе 4 мг/кг, NaCl 0,9 % — в/в 10 мл/кг, интенсивная кислородная ингаляция).

На третий день у животных второй группы в клинической картине преобладали симптомы, характеризующиеся уменьшением циркулирующих эритроцитов в результате острого АИВСГ: желтушность кожных покровов и видимых слизистых оболочек увеличилась, отсутствие аппетита, повышенная жажда, одышка, тахикардия и тахипноэ свидетельствовали об ухудшающемся состоянии животных, сохранялась гемоглобинурия. При этом уровень гематокрита снизился до $14,00 \pm 1,82$ %, концентрация лактата находилась выше референтных интервалов и составила $4,50 \pm 0,21$ ммоль/л, уровень SpO₂ был существенно ниже референтных значений — $80,00 \pm 2,43$ %, концентрация общего билирубина возросла до $309,00 \pm 25,18$ ммоль/л.

Три собаки пали, остальным животным третьей группы провели курс терапии — преднизолон в/в в дозе 4 мг/кг, NaCl 0,9 % — в/в 10 мл/кг, интенсивная кислородная ингаляция.

На четвертый день у животных второй группы в клинической картине преобладали симптомы, характеризующие уменьшение острого АИВСГ: желтушность кожных покровов и видимых слизистых оболочек уменьшилась, аппетит отсутствовал, повышенная жажда, одышка, тахикардия и тахипноэ видимо уменьшились, гемоглобинурия отсутствовала, моча была окрашена в интенсивно желтый цвет. Уровень гематокрита повысился до $15,00 \pm 2,32$ %, концентрация лактата уменьшилась до $4,00 \pm 0,21$ ммоль/л,

уровень SpO_2 повысился до $90,00 \pm 3,13$ %, концентрация общего билирубина снизилась до $218,00 \pm 21,25$ ммоль/л. Животным провели курс терапии: преднизолон в/в в дозе 4мг/кг, NaCl 0,9 % — в/в 10 мл/кг, интенсивная кислородная ингаляция.

На пятый день у собак второй группы в клинической картине преобладали симптомы, характеризующиеся уменьшением острого АИВСГ: желтушность кожных покровов и видимых слизистых оболочек присутствовала, появился слабый аппетит, повышенная жажда, тахикардия и тахипноэ видимо уменьшились. При этом уровень гематокрита повысился до $17,00 \pm 1,37$ %, концентрация лактата уменьшилась до $2,90 \pm 0,37$ ммоль/л, уровень SpO_2 возрос до $97,00 \pm 3,04$ %, концентрация общего билирубина снизилась до $109,00 \pm 12,83$ ммоль/л. Животным провели курс терапии: преднизолон в/в в дозе 4мг/кг, NaCl 0,9 % — в/в 10 мл/кг, интенсивная кислородная ингаляция.

У животных третьей группы (эмульсионной) в первый день в клинической картине преобладали симптомы, характеризующие уменьшение циркулирующих эритроцитов в результате острого АИВСГ: бледность, желтушность кожных покровов и видимых слизистых оболочек, отсутствие аппетита, повышенная жажда, одышка, тахикардия и тахипноэ, гемоглинурия. При этом уровень гематокрита был критично снижен — $9,90 \pm 1,32$ %, концентрация лактата была выше референтных интервалов — $6,0 \pm 0,8$ ммоль/л, уровень SpO_2 существенно ниже референтных интервалов — $78,00 \pm 2,31$ %, что говорит об острой гипоксемии; концентрация общего билирубина составляла $42,00 \pm 6,32$ ммоль/л. Животным третьей группы помимо базовой терапии, включающей преднизолон в/в в дозе 4мг/кг, NaCl 0,9 % — в/в 10 мл/кг, «Пиро-Стоп» п/к 0,5 мл/10 кг и интенсивной кислородной ингаляции, вводили эмульсию ПФОС, обладающую функцией газопереноса, с целью уменьшения гипоксии. «Перфторан» вводили в дозе 10 мл/кг в/в.

Две собаки пали через 2 часа после введения антипротозойного препарата и «Перфторана» во время инфузии NaCl 0,9 %.

На второй день у собак третьей группы общее состояние незначительно улучшилось: бледность слизистых оболочек присутствовала, желтушность кожных покровов и видимых слизистых была незначительной, отсутствие аппетита, повышенная жажда, одышка, тахикардия и тахипноэ сохранялись, гемоглинурия отсутствовала. При этом уровень гематокрита был снижен до $10,00 \pm 0,95$ %, но концентрация лактата находилась в референтных интервалах — $2,9 \pm 0,73$ ммоль/л, уровень SpO_2 существенно повысился до $85,1 \pm 2,7$ %, а концентрация общего билирубина снизилась до $39,00 \pm 4,13$ ммоль/л.

Одна собака пала через 9 часов после проведенного курса терапии: преднизолон в/в в дозе 4мг/кг,

NaCl 0,9 % — в/в 10 мл/кг, интенсивная кислородная ингаляция, в/в введение «Перфторана» в дозе 10 мл/кг.

На третий день у животных эмульсионной группы признаки анемии в результате АИВСГ уменьшились: уровень гематокрита возрос до $12,00 \pm 0,88$ %, концентрация лактата уменьшилась до $2,7 \pm 0,42$ ммоль/л, уровень SpO_2 возрос до $90,0 \pm 3,1$ %, концентрация общего билирубина снизилась до $20,00 \pm 2,93$ ммоль/л. Цвет видимых слизистых оболочек был бледно-розовый, одышка уменьшилась. Животные стали потреблять корм. Собакам была проведена терапия, включающая: преднизолон в/в в дозе 4мг/кг, в качестве дезинтоксикационного раствора вводили NaCl 0,9 % — в/в 20 мл/кг, проводили интенсивную кислородную ингаляцию и в/в вводили «Перфторан» в дозе 10 мл/кг.

На четвертый день у собак третьей группы общее состояние удовлетворительное: слизистые оболочки бледно-розовые, аппетит улучшился. При этом уровень гематокрита составлял $15,00 \pm 2,83$ %, концентрация лактата находилась в референтных интервалах $2,50 \pm 0,27$ ммоль/л, уровень SpO_2 существенно возрос до $95,00 \pm 3,27$ %, концентрация общего билирубина уменьшилась до $15,00 \pm 1,85$ ммоль/л. Собакам была проведена терапия, включающая преднизолон в/в в дозе 4мг/кг, в качестве дезинтоксикационного раствора вводили NaCl 0,9 % — в/в 20 мл/кг, проводили интенсивную кислородную ингаляцию и вводили «Перфторан» в/в в дозе 10 мл/кг.

На пятый день у животных третьей группы клинические признаки анемии в результате АИВСГ не обнаруживались. Цвет видимых слизистых оболочек бледно-розовый, одышка отсутствовала, животные стали хорошо потреблять корм, цвет мочи — соломенно-желтый, уровень гематокрита увеличился до $18,00 \pm 1,93$ %, концентрация лактата снизилась до $2,00 \pm 0,24$ ммоль/л, уровень SpO_2 возрос до $97,0 \pm 4,5$ %, концентрация общего билирубина уменьшилась до $12,00 \pm 1,79$ ммоль/л. Собакам была проведена терапия, включающая преднизолон в/в в дозе 4мг/кг, в качестве дезинтоксикационного раствора вводили NaCl 0,9 % — в/в 20 мл/кг, проводили интенсивную кислородную ингаляцию и вводили «Перфторан» в/в в дозе 10 мл/кг.

Как показали исследования, проведенные в Клинике ветеринарной медицины Научного центра биологических исследований г. Пушкино, уровень гематокрита на протяжении 5 дней лечения у животных всех трех групп возрастал, так как при остром АИВСГ, анемии регенераторной и на фоне иммуносупрессивной терапии преднизолоном уменьшается иммунная агрессия на эритроциты (табл. 1). Но при тяжелой аутоиммунной гемолитической анемии с уровнем гематокрита $10,10 \pm 1,85$ %, уровнем SpO_2 $80,00 \pm 4,85$ %, концентрациями лактата и общего билирубина $6,10 \pm 0,78$ ммоль/л и $45,5 \pm 4,2$ ммоль/л соот-

ветственно жизненно важные органы животного страдают от тяжелой гипоксии, и в контрольной группе, по сравнению с второй и третьей, наблюдается высокая летальность — 80 %. Данные наблюдения показывают, что без заместительной терапии при тяжелой гипоксии в результате острого АИВСГ эволюционные механизмы регенерации не успевают восстановить минимально необходимый для выживания животного уровень кислородоносителей.

Во второй эритроцитарной группе в первый день лечения уровень эритроцитов был восстановлен трансфузией донорских эритроцитов, что помогло больным животным выжить в первый день лечения. На второй день терапии уровень гематокрита составил $15,00 \pm 1,42$ %, что достоверно выше показателей у животных в контрольной группе. Но введение донорских эритроцитов усугубило АИВСГ, поэтому на второй день мы наблюдаем резко возрастающую концентрацию общего билирубина — $288,0 \pm 18,2$ ммоль/л. Данный показатель достоверно выше по сравнению с контрольной и третьей основной групп животных, что в итоге привело к высокой

летальности — 50 % (табл. 2). Во второй группе животных на третий день лечения концентрация лактата была повышенной — $4,50 \pm 0,21$ ммоль/л, а уровень гематокрита был снижен до $14,00 \pm 1,82$ %, что указывает на гипоксию средней степени тяжести. Уровень SpO_2 во второй группе исследуемых животных с каждым днем повышался и к пятому дню достиг нормальных значений — $97,00 \pm 3,04$ %, что достоверно выше показателей SpO_2 контрольной группы. Следовательно, высокая летальность в данной группе обусловлена билирубиновой интоксикацией в результате трансфузии донорских эритроцитов (табл. 3).

В третьей эмульсионной группе для купирования гипоксии использовали эмульсию ПФОС и, несмотря на низкий уровень гематокрита — $9,90 \pm 1,32$ % в первый день лечения, летальность составила 30 %, что на 20 % меньше, чем во второй группе, и на 50 % меньше, чем в группе контроля. Концентрация лактата на всем протяжении лечения находилась в референтных интервалах, что достоверно ниже, чем показатели в первой и второй группе животных (табл. 4).

Таблица 1

Динамика изменения уровня гематокрита (%) у контрольной и двух основных групп животных с аутоиммунным внутрисосудистым гемолизом

Группы	1-й день	2-й день	3-й день	4-й день	5-й день
1-я группа (контроль)	10,10 ±1,85	9,00 ±0,83	10,00 ±0,81	10,00 ±2,32	15,00 ±1,89
2-я группа (эритроцит)	11,00 ±1,58	15,00 ±1,42'	14,00 ±1,82'	15,00 ±2,32'	17,00 ±1,37'
3-я группа (эмульсия)	9,90 ±1,32	10,00 ±0,95*#	12,00 ±0,88*#	15,00 ±2,83*#	18,00 ±1,93*#

* $p < 0,05$ между контрольной и 2-й второй группой.

• $p < 0,05$ между контрольной и 3-й группой.

$p < 0,05$ между 2-й и 3-й группой.

Таблица 2

Динамика изменения концентрации общего билирубина (ммоль/л) у контрольной и двух основных групп животных с аутоиммунным внутрисосудистым гемолизом

Группы	1-й день	2-й день	3-й день	4-й день	5-й день
1-я группа (контроль)	45,50 ±4,20	59,00 ±5,19	48,00 ±5,34	30,00 ±5,81	25,00 ±2,76
2-я группа (эритроцит)	41,00 ±5,23	288,00 ±18,12'	309,00 ±25,18'	218,00 ±21,25'	109,00 ±12,83'
3-я группа (эмульсия)	42,00 ±6,32	39,00 ±4,13*#	20,00 ±2,93*#	15,00 ±1,85*#	12,00 ±1,79*#

* $p < 0,05$ между контрольной и 2-й второй группой.

• $p < 0,05$ между контрольной и 3-й группой.

$p < 0,05$ между 2-й и 3-й группой.

Таблица 3

Динамика изменения уровня сатурации (SpO_2 , %) у контрольной и двух основных групп животных с аутоиммунным внутрисосудистым гемолизом

Группы	1-й день	2-й день	3-й день	4-й день	5-й день
1-я группа (контроль)	80,00 ±4,85	79,00 ±2,30	77,00 ±3,00	79,00 ±3,65	85,00 ±3,24
2-я группа (эритроцит)	79,00 ±3,81	85,00 ±2,10'	80,00 ±2,43'	90,00 ±3,13'	97,00 ±3,04'
3-я группа (эмульсия)	78,00 ±2,31	85,10 ±2,70*	90,00 ±3,10*#	95,00 ±3,27*#	97,00 ±4,5'

* $p < 0,05$ между контрольной и 2-й второй группой.

• $p < 0,05$ между контрольной и 3-й группой.

$p < 0,05$ между 2-й и 3-й группой.

Таблица 4

Динамика изменения концентрации лактата (ммоль/л) у контрольной и двух основных групп животных с аутоиммунным внутрисосудистым гемолизом

Группы	1-й день	2-й день	3-й день	4-й день	5-й день
1-я группа (контроль)	6,10 ±0,78	6,00 ±0,85	6,50 ±0,27	6,00 ±0,31	4,00 ±0,32
2-я группа (эритроцит)	5,59 ±0,80	4,00 ±0,65'	4,50 ±0,21'	4,00 ±0,21'	2,90 ±0,37'
3-я группа (эмульсия)	6,00 ±0,80	2,90 ±0,73*#	2,70 ±0,42*#	2,50 ±0,27*#	2,00 ±0,24*#

* $p < 0,05$ между контрольной и 2-й второй группой.

• $p < 0,05$ между контрольной и 3-й группой.

$p < 0,05$ между 2-й и 3-й группой.

Концентрация общего билирубина на второй день лечения была повышенной — $39,00 \pm 4,13$ ммоль/л, но имела тенденцию к снижению и на пятый день составляла $12,00 \pm 1,79$ ммоль/л, что достоверно ниже, чем показатели общего билирубина в первой и во второй группе. Это говорит об уменьшении симптомов АИВСГ и гипоксии у животных третьей группы (см. табл. 2). Уровень SpO_2 на фоне терапии имел тенденцию к росту и к пятому дню терапии достиг референтных границ — $97,0 \pm 4,5$ %, что достоверно выше, чем у животных в группе контроля (см. табл. 3). Данные показатели говорят о купировании гипоксии и уменьшении аутоиммунного воздействия на эритроциты. На фоне иммуносупрессивной терапии и использования эмульсии ПФОС у животных в третьей основной группе острый АИВСГ видимо уменьшается и пиково не усиливается, как во второй группе при трансфузии донорских эритроцитов, что помогает существенно уменьшить ятрогенное воздействие, а следовательно, снизить летальность до 30 %.

В результате развития острого АИВСГ у больных животных малоэффективны собственные эндогенные механизмы компенсации гипоксемии, что не позволяет больному организму без заместительной терапии вовремя восстановить утраченный объем эритроцитов и сохранить свою жизнеспособность. Известно, что лактат в организме у животных образуется в результате анаэробного метаболизма. Его концентрация возрастает из-за плохого кровоснабжения и гипоксии тканей. Диапазон нормальных значений лактата у собак $0,5-2,5$ ммоль/л.

Как показали проведенные исследования, при введении газотранспортного кровезаменителя препарата «Перфторан» концентрация лактата в третьей основной группе была достоверно ниже по сравнению с первой и второй группой на всем протяжении лечения (см. табл. 4). Это связано, как показали наши ранние исследования [2], с газотранспортными свойствами перфторэмульсии — основы препарата «Перфторан». Перфторэмульсия увеличивает массоперенос O_2 за счет увеличения в плазме уровня физически растворенного O_2 , ускоренной диффузии O_2 в перфторуглеродах, увеличения скорости насыщения O_2 в перфторуглеродах, большой поверхности газообмена, усиления экстракции кислорода частицами эмульсии из эритроцитарного гемоглобина, образования в кровотоке из частиц перфторуглеродов структуры типа «жемчужных нитей», являющейся кислородными каналами, по которым проводимость кислорода в 20–25 раз выше, чем в плазме. Перфторэмульсия улучшает показатели газового состава и кислотно-основного состояния крови, уменьшает ацидоз.

При изучении проявлений побочных реакций на введение «Перфторана» было отмечено, что в третьей группе из десяти животных у одной особи

проявились признаки аллергической реакции: кожный зуд, озноб, удушье, гипертермия, тахикардия — которые проявились в виде внезапного, молниеносно развивающегося синдрома. Как показали наши ранние исследования [2], это связано с активацией системы комплемента плазмы крови. На высоко-сорбционной поверхности частиц перфторуглеродной эмульсии препарата «Перфторан» сорбируются от 20 до 35 % иммуноглобулинов G (IgG), причем дисперсность частиц эмульсии играет важную роль в этом процессе. Так, крупнодисперсная эмульсия со средним размером частиц $0,3-0,5$ мкм сорбирует до 35 % IgG, в то время как мелкодисперсная эмульсия с диаметром $0,05$ мкм сорбирует около 20 % IgG. В препарате «Перфторан» могут быть частицы около $0,3$ мкм, но не более 1 %. Именно сорбция IgG, как наиболее «реактогенного» иммуноглобулина, вызывает повышенную активацию системы комплемента. Необходимо учитывать, что при неправильном хранении и разморозке препарата «Перфторан» происходит незначительное укрупнение частиц эмульсии перфторуглеродов — основной активной части синтетического кровезаменителя, поэтому в клинической практике, как в медицине, так и в ветеринарии, иногда встречаются вышеописанные аллергические реакции, которые быстро купируются стандартными методами. Единичный приступ, который наблюдался в наших исследованиях, купировали введением мочегонных препаратов (фуросемид), аналептических препаратов (кордиамин), кортикостероидных гормонов (преднизолон), M-холиноблокаторов (атропин) в дозах, адекватных массе животного и тяжести состояния.

Таким образом, наиболее перспективным и эффективным способом лечения и устранения гипоксии при аутоиммунном внутрисосудистом гемолизе, вызванном разрушением эритроцитов в кровеносном русле, является применение отечественных газотранспортных перфторуглеродных кровезамещающих эмульсий типа «Перфторан» или «Фторэмульсия III».

ВЫВОДЫ

1. Определено, что отечественные газотранспортные кровезамещающие перфторуглеродные эмульсии — высокоэффективные лекарственные средства при лечении системной гипоксии у животных.
2. Показан положительный клинический эффект от применения кровезамещающей перфторуглеродной эмульсии при анемии, вызванной острым аутоиммунным внутрисосудистым гемолизом у собак.
3. Установлено, что летальность при лечении аутоиммунного внутрисосудистого гемолиза

перфторуглеродной эмульсией значительно ниже и составляет 30 % в сравнении с контрольной и эритроцитарной группами животных, где летальность составляла 80 и 50 % соответственно.

4. Показаны особенности побочных реакций при использовании донорских эритроцитов у собак при анемии, вызванной острым аутоиммунным внутрисосудистым гемолизом.
5. Рекомендовано применение перфторуглеродной кровезамещающей эмульсии как альтернативного заменителя донорских эритроцитов у собак при остром аутоиммунном внутрисосудистом гемолизе.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. *Алексеев Н.А.* Анемия. СПб.: Гиппократ, 2004.
[Alekseev N.A. Anemia. Saint Petersburg.: Hippocrates, 2004 (in Russian).]
2. *Воробьев С.И.* Кровезаменители с функцией переноса кислорода на основе перфторуглеродных эмульсий. М.: ПМГМУ им. Сеченова, 2012.
[Vorobiev S.I. Blood substituting perfluorocarbon-based emulsions functioning as oxygen carriers. Moscow: I.M. Sechenov First MSMU, 2012 (in Russian).]
3. Ниманд Х., Сутер П. Болезни собак. М.: Аквариум Принт, 2004: 57.
[Niemand H., Suter P. Dog diseases. Moscow: Akvarium Print, 2004: 57 (in Russian).]
4. *Рукавицын О.А.* Анемии. М.: GEOTAR-Медиа, 2016.
[Rukavitsyn O.A. Anemias. Moscow: GEOTAR-Media, 2016 (in Russian).]
5. *Шиффман Д.Ф.* Патопфизиология крови. М.: БИНОМ, 2017.
[Shiffman D.F. Pathophysiology of blood. Moscow: BINOM, 2017 (in Russian).]
6. *Authement J.M.* Canine blood component therapy: product preparation, storage, and administration. Journal of the American Animal Hospital Association. 1987; 23: 483–493.
7. *Bell K.* Red Blood Cells of Domestic Mammals. Amsterdam: Elsevier Science Publishers, 1983: 163–164.
8. *Michael D.* Manual of Canine and Feline Haematology and Transfusion Medicine. Printed by: Lookers, Upton, Poole, Dorset, UK, 2000: 62–98.
9. *Clark-Price S.* Practical uses of pulse oximeter and capnograph. In Proceedings of 15th IVECCS, 2009: 323–325.