

На правах рукописи

**ХОХЛОВ ОЛЕГ АЛЕКСЕЕВИЧ**

**РОЛЬ НАРУШЕНИЙ СТРУКТУРНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ МЕМБРАНЫ  
ЭРИТРОЦИТОВ В ИНТРАОПЕРАЦИОННОМ ГЕМОЛИЗЕ  
ПРИ ИСКУССТВЕННОМ КРОВООБРАЩЕНИИ**

14.03.03 - патологическая физиология

03.03.04 - клеточная биология, цитология, гистология

**Автореферат**

**диссертации на соискание ученой степени**

**кандидата медицинских наук**

Томск - 2013

Работа выполнена в Государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Научные руководители:**

доктор медицинских наук, профессор

Уразова

Ольга Ивановна

доктор медицинских наук, профессор,

Новицкий

академик РАМН, Заслуженный деятель науки РФ

Вячеслав Викторович

**Официальные оппоненты:**

доктор медицинских наук, профессор,

Федорова

профессор кафедры биохимии и молекулярной

Татьяна Сергеевна

биологии ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России

доктор медицинских наук,

Солонский

заведующий лабораторией нейробиологии

Анатолий Владимирович

ФГБУ «НИИ психического здоровья» СО РАМН

**Ведущая организация:**

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» СО РАМН (ФГБУ "НИИ КПССЗ" СО РАМН) (650002, г. Кемерово, Сосновый бульвар, 6)

Защита состоится «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2013 года в \_\_\_\_\_ часов на заседании диссертационного совета Д 208.096.01 при Сибирском государственном медицинском университете (634050, г. Томск, Московский тракт, 2)

С диссертацией можно ознакомиться в научно-медицинской библиотеке Сибирского государственного медицинского университета (г. Томск, проспект Ленина, 107)

Автореферат разослан «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2013 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета

Петрова И.В.

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. В настоящее время заболевания сердечно-сосудистой системы являются основной причиной смерти граждан Российской Федерации и большинства развитых стран мира [Оганов Р.Г., 2008; Кузьмина О.Ю., 2009; Шальнова С.А. и соавт., 2012]. При этом ишемическая болезнь сердца занимает лидирующие позиции в рейтинге летальных исходов от сердечно-сосудистых заболеваний [Гребенщикова И.А. и соавт., 2011].

Фармакологическая коррекция коронарной недостаточности позволяет значительно улучшить состояние пациентов. В случае неэффективности терапевтического лечения применяется операция коронарного шунтирования, наиболее часто выполняемая в условиях искусственного кровообращения. Данный метод обеспечения кардиохирургических вмешательств позволяет проводить манипуляции на остановленном сердце, а значит, использовать микрохирургическую технику, обеспечивая высокую надежность шунтов и долгосрочное улучшение коронарной перфузии у больных ишемической болезнью сердца [Murphy G.S. et al., 2009; Lezama-Urtecho C.A. et al., 2010; Агеева М.В. и соавт., 2011].

Между тем, проведение коронарного шунтирования с применением искусственного кровообращения осложняется возникновением интраоперационного и постперфузионного гемолиза [Дементьев И.И. и соавт., 2008, 2010; Vercaemst L., 2008]. Основной причиной гемолиза служит перфузионная травма эритроцитов, возникающая при циркуляции крови в аппарате искусственного кровообращения в результате работы роликовых или центрифужных насосов, кардиотомного отсоса, пассажа крови в пределах оксигенатора и артериальной канюли [Vercaemst L., 2008; Murphy G.S. et al., 2009]. Контакт крови с неэндотелизированной поверхностью экстракорпорального контура, гипероксия и гипотермия, применяемые при искусственном кровообращении, потенцируют интраоперационную гибель красных клеток крови [Аверина Т.Б., Самуилова Д.Ш., 2007; Ломиворотов В.Н., 2010; Агеева М.В. и соавт., 2011]. Изменения структурной организации мембраны лежат в основе гибели эритроцитов при атеросклерозе, который на сегодняшний день рассматривается в качестве основной причины ишемической болезни сердца [Осипенко А.Н., 2012; Осипенко А.Н. и соавт., 2012].

Во время проведения искусственного кровообращения эритроцит подвергается окислительному и деформационному воздействию [Gu Y.J. et al., 2008]. В то же время известно, что при выполнении искусственного

кровообращения в равных условиях с использованием идентичного оборудования степень выраженности гемоглобинемии оказывается неравнозначной [Чумакова С.П. и соавт., 2011, 2012]. Это свидетельствует о том, что индивидуальные особенности мембраны эритроцитов, определяющие транспортные, антигенные и микрореологические свойства данного типа клеток, оказывают влияние на их гемолитическую стойкость при перфузии в аппарате искусственного кровообращения.

Важно отметить, что в литературе содержится достаточное количество сведений о повреждающем влиянии аппаратов искусственного кровообращения различных модификаций и их компонентов на красные клетки крови [Kaufmann T.A. et al., 2009; Leme J. et al., 2011; Schnürer C. et al., 2011], но практически отсутствуют данные о роли исходных изменений структуры эритроцитов в патогенезе интраоперационного гемолиза при выполнении искусственного кровообращения. В свете этого поиск факторов, определяющих дооперационное состояние мембраны красных клеток, изучение его влияния на выраженность гемолитических реакций при проведении искусственного кровообращения представляет значительный теоретический и практический интерес.

Цель исследования: оценить роль нарушений структуры мембраны эритроцитов у больных ишемической болезнью сердца в патогенезе умеренного и выраженного интраоперационного гемолиза при искусственном кровообращении.

Задачи исследования:

1. Оценить активность системы комплемента крови, экспрессию поверхностных молекул-ингибиторов системы комплемента (CD35, CD55) на эритроцитах и проницаемость их мембраны у больных ишемической болезнью сердца до и после операции в условиях искусственного кровообращения, сопровождающегося умеренным и выраженным гемолизом.

2. Оценить Резус-фенотип и экспрессию гликофоринов А и В на эритроцитах у больных ишемической болезнью сердца, оперированных в условиях искусственного кровообращения, в зависимости от выраженности постперфузионного гемолиза.

3. Проанализировать изменения липидного состава, активность  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -аденозинтрифосфатазы мембраны и содержание аденозинтрифосфата в эритроцитах у больных ишемической болезнью сердца до и после операции в условиях искусственного кровообращения, сопровождающегося умеренным и выраженным гемолизом.

4. На основе анализа показателей до- и послеоперационного состояния

структуры мембраны эритроцитов у больных ишемической болезнью сердца выделить патогенетические факторы умеренного и выраженного постперфузионного гемолиза.

Научная новизна. Получены новые данные о роли исходных (до операции) нарушений структурной организации мембраны эритроцитов у больных ишемической болезнью сердца (ИБС) в механизмах умеренного и выраженного постперфузионного гемолиза при проведении оперативного вмешательства в условиях искусственного кровообращения (ИК). Впервые обосновано, что компенсация до- и послеоперационного внутрисосудистого гемолиза за счет поступления в кровь эритроцитарных клеток костномозгового резерва у больных ИБС при умеренной гемоглобинемии ассоциируется с восстановлением количества эритроцитов, содержащих гликофорины А и В, только после ИК, а при выраженном гемолизе – с отсутствием изменений их количества на обоих этапах исследования. Показано, что интенсивная деструкция эритроцитов в аппарате ИК у больных ИБС определяется преобладающей патологией клеток, о чем свидетельствует повышение проницаемости их мембраны, дефицит поверхностных молекул-ингибиторов комплемента CD55 и внутриклеточного аденозинтрифосфата (АТФ), показатели которых у пациентов с умеренным гемолизом соответствуют норме. Наряду с этим, обнаружено, что связь между выраженным послеоперационным гемолизом и экспрессией CD35 на эритроцитах у больных ИБС отсутствует, в то время как прослеживается ассоциация с *сс*-фенотипом Резус-системы эритроцитов. Установлено, что интраоперационное повреждение красных клеток крови у больных ИБС вне зависимости от выраженности постперфузионного гемолиза определяется повышением активности системы комплемента, изменениями структурной организации липидного бислоя и угнетением активности  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФазы мембраны эритроцитов, что у пациентов с выраженной послеоперационной гемоглобинемией усугубляется исходным (предшествующим операции) дефицитом АТФ в клетках. Постперфузионные изменения фосфолипидного спектра мембраны эритроцитов у больных ИБС при развитии умеренного гемолиза проявляются увеличением содержания фосфатидной кислоты, что в случае выраженной гемоглобинемии (при исходно нормальном долевым распределении фракций фосфолипидов) сочетается с уменьшением относительного и абсолютного количества фосфатидилинозитола и фосфатидилхолина при накоплении лизофосфатидилхолина.

Теоретическая и практическая значимость. Результаты диссертационной работы об этиопатогенетических факторах структурных изменений мембраны

эритроцитов у больных ИБС, предрасполагающих к развитию умеренного и выраженного интраоперационного гемолиза, расширяют теоретические знания о механизмах постперфузионного лизиса эритроцитов различной степени выраженности при выполнении ИК. Полученные данные о механизмах выраженного постперфузионного гемолиза могут быть применены для разработки дифференцированных подходов к профилактике и коррекции интраоперационных гемолитических реакций и послеоперационных осложнений при экстракорпоральной перфузии, а также учтены при создании новых типов перфузиологического оборудования.

Положения, выносимые на защиту:

1. Развитию умеренного гемолиза у больных ишемической болезнью сердца, оперированных в условиях искусственного кровообращения, предшествует исходное (до операции) нарушение фосфолипидного состава мембраны эритроцитов (сокращение общего пула фосфолипидов за счет фракций фосфатидилинозитола, фосфатидилхолина и фосфатидилэтаноламина при повышении содержания лизофосфатидилхолина), низкая активность  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -аденозинтрифосфатазы, дефицит клеток, экспрессирующих гликофорины А и В, и активация системы комплемента крови. При этом проницаемость мембраны, экспрессия на эритроцитах молекул-ингибиторов комплемента и уровень внутриклеточного аденозинтрифосфата до операции сохраняются в пределах нормы.

2. Усиление лизиса эритроцитов при развитии умеренной гемоглобинемии у больных ишемической болезнью сердца после искусственного кровообращения обусловлено повышением проницаемости мембраны клеток вследствие значительно возрастающей активности системы комплемента, сохраняющихся структурных нарушений липидного бислоя (высокий уровень лизофосфатидилхолина в сочетании с увеличением содержания фосфатидной кислоты) и низкой активности  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -аденозинтрифосфатазы. При этом количество эритроцитов, экспрессирующих гликофорины А и В, нормализуется в ассоциации с увеличением количества ретикулоцитов в крови после операции.

3. Исходно (до операции) повышенный уровень гемоглобинемии у больных ишемической болезнью сердца с выраженным постперфузионным гемолизом обусловлен более значимой (чем при умеренном гемолизе) активацией системы комплемента в связи с дефицитом комплемент-ингибиторных молекул CD55 на эритроцитах, что обуславливает увеличение проницаемости их мембраны. При этом распределение фракций фосфолипидов в мембране эритроцитов на фоне

сокращения общего их пула варьирует в пределах нормы, что связано с мобилизацией в кровь эритроцитарных клеток костномозгового резерва.

4. Изменения структуры мембраны эритроцитов у больных ишемической болезнью сердца с выраженным гемолизом после операции аортокоронарного шунтирования потенцируются повреждающим действием искусственного кровообращения, что проявляется увеличением соотношения «холестерол-фосфолипиды» и нарушениями спектра мембранных фосфолипидов (более выраженными, чем при умеренной гемоглобинемии) в сочетании с возрастающей активностью системы комплемента. При этом на фоне сохраняющегося в клетках дефицита аденозинтрифосфата снижается активность  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -аденозинтрифосфатазы мембраны эритроцитов. К развитию выраженного интраоперационного гемолиза предрасполагает *сс*-фенотип системы Резус эритроцитов.

Апробация и реализация диссертации. Материалы диссертации доложены и обсуждены на Межрегиональной научно-практической конференции «Диагностика и лечение анемий в XXI веке» (Рязань, 2011), VI Российской конференции с международным участием «Гипоксия: механизмы, адаптация, коррекция» (Москва, 2011); IV и V Международных научных конференциях «Фундаментальные и прикладные исследования в медицине» (Сочи, 2011, 2012), Конгрессе гематологов России (Москва, 2012); XII Конгрессе молодых ученых «Науки о человеке» (Томск, 2011); Всероссийской конференции хирургов, посвященной 10-летию медицинского центра им. Р.П. Аскерханова (Махачкала, 2012); XVIII Всероссийском съезде сердечно-сосудистых хирургов (Москва, 2012) и научных семинарах кафедры патофизиологии ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России (Томск, 2010-2013).

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ в рамках проекта «Механизмы нарушений гемолитической стойкости эритроцитов к факторам экстракорпоральной перфузии» (соглашение № 12-04-31655/12 от 16 октября 2012 г.).

Результаты работы внедрены в учебный процесс кафедры патофизиологии ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России.

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 17 научных работ, в том числе 8 статей в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ, 9 статей и тезисов в материалах конгрессов, конференций, съездов.

Объем и структура работы. Диссертация изложена на 153 страницах машинописного текста и состоит из введения, 4 глав, выводов и списка

используемой литературы. Работа иллюстрирована 7 рисунками и 7 таблицами. Библиографический указатель включает 289 источников, из них 105 отечественных и 184 зарубежных авторов.

Личное участие автора в получении результатов, изложенных в диссертации.

Соискатель непосредственно проанализировал данные литературы по теме диссертации, произвел набор клинично-экспериментального материала, провел запланированные исследования и статистическую обработку результатов и их анализ.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Характеристика обследованных больных ишемической болезнью сердца.

Обследовано 100 больных с ИБС (88 мужчин и 12 женщин) в возрасте от 46 до 68 лет, страдающих стенокардией напряжения III-IV функционального класса и перенесших операцию коронарного шунтирования в условиях ИК, находящихся на лечении в отделении сердечно-сосудистой хирургии ФГБУ «НИИ кардиологии» СО РАМН г. Томска (директор — академик РАМН Р.С. Карпов, руководитель отделения — д-р мед. наук, профессор В.М. Шипулин, заведующий отделением — д-р мед. наук Б.Н. Козлов). Экстракорпоральная перфузия осуществлялась на аппарате ИК «Stokert» (Германия), оснащенный роликовыми насосами, с применением одноразовых мембранных оксигенаторов «Quadrox» (Германия).

Ретроспективно больные ИБС были распределены на 2 группы в зависимости от концентрации свободного гемоглобина в плазме крови после операции: с умеренным гемолизом (гемоглобинемия менее 40 мг/дл, 68 человек) и с выраженным гемолизом (гемоглобинемия 40 мг/дл и более, 32 человека).

Среди больных ИБС лица зрелого возраста (от 45 до 59 лет) составили 79,55%, пациенты старшего возраста (от 60 до 74 лет) — 20,45%. Соотношение мужчин и женщин было 7:1. Длительность ИБС варьировала в пределах от 8 месяцев до 17 лет. Из исследования исключались пациенты с обострением сопутствующей хронической патологии или с патологией гематологического профиля (анемии, хронические лейкозы); лица, перенесшие острое респираторное заболевание менее чем за 1 месяц до хирургического вмешательства; пациенты, которым были выполнены сочетанные с коронарным шунтированием операции (резекция аневризмы аорты или левого желудочка, коррекция пороков сердца, удаление миксомы, операции по восстановлению кровотока через сонные артерии или артерии нижних конечностей), пациенты с ИК более 3-х часов.

Материалом для исследования служила гепаринизированная венозная кровь



(50 Ед/мл) в количестве 10 мл, плазма и сыворотка крови кардиохирургических больных, взятые до операции и через 1 ч после завершения ИК.

В контрольную группу вошли 30 человек в состоянии относительного здоровья, сопоставимых с больными ИБС по полу и возрасту, с отсутствием патологии сердечно-сосудистой системы и острого воспалительного процесса во время исследования и в течение 3-х недель до него, с показателями крови в пределах общепринятой нормы: содержание эритроцитов  $(3,9-5,5) \times 10^{12}/л$ , содержание гемоглобина (121-165) г/л, MCV  $(80-95) \times 10^{-15}$  л, MCHC 30-38%.

В ходе исследования определяли: концентрацию свободного гемоглобина в плазме крови колориметрическим методом с применением бензидина; содержание гемоглобина в гемолизате гемиглобинцианидным методом (ЗАО «ЭКОлаб», Россия); количество ретикулоцитов в мазках крови, окрашенных бриллиантовым крезоловым синим; Резус-фенотип эритроцитов в реакции прямой гемагглютинации на плоскости при использовании коммерческих цоликлонов (ООО «Гематолог», Россия); антигены CD35, CD55 и гликофорины А и В на мембране эритроцитов методом прямой поверхностной иммунофлуоресценции с применением комплементарных моноклональных антител, меченных изотиоцианатом флуоресцеина (ФИТЦ) («Santa Cruz Biotechnology, INC», США); концентрацию терминального комплекса комплемента (ТКК) в сыворотке крови твердофазным иммуноферментным методом с помощью тест-системы «Human terminal complement complex (ТСС)» («НВТ», Нидерланды); проницаемость мембраны эритроцитов для низкомолекулярных гидрофильных веществ методом мочевинового гемолиза; содержание АТФ в эритроцитах методом тонкослойной хроматографии в смеси растворителей диоксан : изопропанол : аммиак : вода; активность  $Na^+/K^+$ -АТФазы мембраны эритроцитов по уровню накопленного неорганического фосфора в среде, содержащей АТФ. Выделение мембран эритроцитов осуществляли путем гипоосмотического гемолиза; липидный экстракт мембран эритроцитов получали с применением хлороформ-метаноловой смеси; содержание белка в пробах оценивали микробиуретовым методом, общее содержание фосфолипидов в липидном экстракте мембран эритроцитов – по содержанию липидного фосфора. При исследовании фосфолипидного спектра мембраны эритроцитов применяли метод тонкослойной хроматографии. Для определения общего холестерина в липидном экстракте мембран эритроцитов ферментативным методом использовали коммерческий набор «Новохол А» (ЗАО «Вектор-Бест», г. Новосибирск).

Статистическую обработку полученных результатов проводили на основе

общепринятых статистических методов. Для проверки гипотезы о нормальном распределении выборочных данных использовали тест Шапиро-Уилка. При нормальном распределении выборочных данных проверку гипотезы о равенстве средних выборочных величин проводили с использованием t-критерия Стьюдента ( $p < 0,05$ ). Для оценки статистической значимости различий между независимыми выборками с ненормальным распределением использовали непараметрический критерий Манна-Уитни ( $p < 0,05$ ). При исследовании динамики показателей в попарно связанных выборках, имеющих ненормальное распределение, применяли тест Вилкоксона ( $p < 0,05$ ). С целью установления взаимосвязей между изучаемыми показателями вычисляли коэффициент корреляции Спирмена ( $p < 0,05$ ).

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

По данным литературы известно, что циркуляция крови в аппарате ИК приводит к травматизации ее форменных элементов, главным образом, эритроцитов [Wright G. et al., 2001; Vercaemst L., 2008; Windsant I.C.V. et al., 2010]. Основными причинами гемолиза во время проведения ИК являются механическая травма форменных элементов крови, контактная активация комплемента в экстракорпоральном контуре, гипероксемия и гипотермия [Аверина Т.Б., Самуилова Д.Ш., 2007]. Однако в литературе не отображена роль исходных (до операции) нарушений структурно-функционального состояния эритроцитов, характерных для сердечно-сосудистой патологии, в патогенезе гемолитических реакций при ИК. Так, например, показано увеличение коэффициента холестерол/фосфолипиды (ХС/ФЛ) в мембране эритроцитов при атеросклерозе [Солоха Л.Н., Пушников А.А., 2007], ассоциированность атеросклероза с Резус-фенотипом красных клеток крови [Симчук А.П., Гао С., 2012], снижение активности  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФазы мембраны эритроцитов у больных ИБС [Новицкий В.В. и соавт., 2004]. При ИК нарушения структурной организации мембраны эритроцитов, безусловно, способствуют усилению гемолитических реакций. При этом свободный гемоглобин, высвобождающийся при гибели эритроцитов у кардиохирургических больных, является причиной развития у них различных органических нарушений [Vercaemst L., 2008; Бабаев М.А., 2011].

Результаты проведенного исследования показали, что содержание свободного гемоглобина и ретикулоцитов в крови у больных ИБС до операции было повышенным по сравнению с таковым у здоровых доноров (табл. 1). После операции у больных ИБС данные показатели увеличивались еще больше, превышая как контрольные, так и дооперационные значения. При этом величина

их была больше у больных с выраженным гемолизом (чем с умеренным) как до, так и после операции (за исключением сопоставимых между группами больных значений ретикулоцитоза в послеоперационном периоде) (табл. 1).

Изменения концентрации свободного гемоглобина и числа ретикулоцитов в крови у больных ИБС до операции сопряжены, по всей видимости, с атерогенезом, сопровождающимся нарушениями структуры мембраны красных клеток крови, приводящими к гемолизу и, вследствие этого, к активации эритропоэза и выходу ретикулоцитов в кровоток [Ройтман Е.В. и соавт., 2001]. Послеоперационное потенцирование изменений данных показателей связано с негативным воздействием факторов ИК на форменные элементы крови, о чем указывалось выше. Выявленные различия в содержании свободного гемоглобина и ретикулоцитов между группами пациентов с умеренным и выраженным интраоперационным гемолизом, вероятно, связаны с исходными (предсуществующими) дефектами структурно-метаболического статуса эритроцитов, предрасполагающими красные клетки крови к гемолизу в условиях ИК, поскольку операция коронарного шунтирования у всех обследованных больных ИБС проводилась с применением идентичного оборудования.

Таблица 1

Содержание свободного гемоглобина в плазме и ретикулоцитов в крови у больных ишемической болезнью сердца до (числитель) и после (знаменатель) операции в условиях искусственного кровообращения ( $\bar{X} \pm m$ )

Показатели	Здоровые доноры (n=30)	Кардиохирургические больные с умеренным постперфузионным гемолизом (n=68)	Кардиохирургические больные с выраженным постперфузионным гемолизом (n=32)
Содержание свободного гемоглобина в плазме крови, мг/дл	7,67±0,43	10,31±0,65 $p_k < 0,05$	13,47±0,88 $p_k < 0,001$ ; $p_2 < 0,05$
		24,55±5,76 $p_k < 0,05$ ; $p_1 < 0,001$	57,41±3,69 $p_k < 0,001$ ; $p_1 < 0,01$ $p_2 < 0,001$
Содержание ретикулоцитов в крови, ‰	7,41±0,44	10,00±0,42 $p_k < 0,001$	11,88±0,44 $p_k < 0,001$ ; $p_2 < 0,05$
		18,72±0,76 $p_k < 0,001$ ; $p_1 < 0,05$	16,69±1,34 $p_k < 0,001$ ; $p_1 < 0,01$

*Примечание.* Здесь и далее в таблице 2,  $p_k$  – уровень статистической значимости различий по сравнению с показателями у здоровых доноров (в контроле);  $p_1$  – у кардиохирургических больных до операции;  $p_2$  – между показателями у кардиохирургических больных с умеренным и выраженным гемолизом на соответствующем этапе исследования.

Показано, что антигенные свойства эритроцитов, являющиеся индивидуальными наследуемыми признаками, определяют особенности структурной организации их мембраны [Daniels G., 2006; Веснина Н.В., 2008; Кузник Б.И., 2010; Симчук А.П., Гао С., 2012]. Частота встречаемости Резус-антигенов D, C, c, E, e и неполных Резус-фенотипов красных клеток крови у кардиохирургических больных с умеренной и выраженной послеоперационной гемоглобинемией, в целом, была сопоставимой. Между тем, у больных ИБС с умеренным интраоперационным гемолизом была установлена более частая встречаемость C-антигена эритроцитов (у  $80,39 \pm 5,62\%$ ) при более низкой частоте регистрации cc-фенотипа (у  $19,61 \pm 5,62\%$ ) по сравнению с группой сравнения (у  $61,29 \pm 6,00\%$  и  $38,61 \pm 6,90\%$  соответственно,  $p_2 < 0,05$ ). Согласно полученным данным, прогностически благоприятным является наличие на эритроцитах C-антигена, а cc-фенотип предрасполагает к выраженному постперфузионному гемолизу. В литературе имеются данные об увеличении частоты встречаемости ccc-фенотипа эритроцитов у больных атеросклерозом сосудов нижних конечностей, что отражает его негативное влияние в отношении предрасположенности к сосудистой патологии [Турбасова Н.В. и соавт., 2009]. Однако механизмы снижения гемолитической стойкости эритроцитов в отсутствие C-антигена и протективного его влияния в отношении гемолиза в современной литературе не определены.

Антигены системы MNSs эритроцитов ассоциированы с гликофоринами A и B, содержащими сиаловые кислоты, которые придают отрицательный заряд клеткам. Снижение содержания сиаловых кислот в мембране эритроцитов приводит к разрушению клеток макрофагами печени и селезенки, сопровождается их агрегацией и последующим гемолизом [Nigam P.K. et al., 2006].

Количество гликофорин A<sup>+</sup> и гликофорин B<sup>+</sup> эритроцитов в крови у больных ИБС с умеренной послеоперационной гемоглобинемией на дооперационном этапе ( $(87,40 \pm 1,47)\%$  и  $(68,86 \pm 1,54)\%$ ) оказалось достоверно ниже соответствующих значений в контроле (соответственно  $(93,70 \pm 1,21)\%$ ,  $p_k < 0,05$  и  $(79,60 \pm 1,90)\%$ ,  $p_k < 0,01$ ), в то время как у пациентов с выраженным интраоперационным гемолизом на аналогичном этапе исследования данные параметры были сопоставимыми с группой здоровых доноров. После операции количество гликофорин A<sup>+</sup> и гликофорин B<sup>+</sup> эритроцитов в крови у больных с умеренным гемолизом достигало значений контроля, в то время как у пациентов с выраженной гемоглобинемией достоверных изменений величины этого показателя выявлено не было.

Как известно, одной из причин разрушения эритроцитов в аппарате ИК

является активация системы комплемента и ее действие на клетки крови [Bruins P. et al., 2008]. В связи с этим была изучена экспрессия молекул-ингибиторов комплемента (CD35 и CD55) на красных клетках крови, содержание терминального комплекса комплемента (ТКК) в сыворотке крови и проницаемость мембраны эритроцитов для низкомолекулярных веществ. Согласно полученным данным, число CD35<sup>+</sup> эритроцитов в крови у больных ИБС варьировало в пределах нормы в обеих группах сравнения и на обоих этапах исследования. Исследование экспрессии другой ингибиторной молекулы системы комплемента – CD55 – выявило снижение доли CD55-несущих эритроцитов в крови у больных ИБС с выраженной послеоперационной гемоглобинемией по сравнению со здоровыми донорами как до, так и после операции с ИК. У пациентов с умеренным гемолизом количество CD55<sup>+</sup> эритроцитов в до- и послеоперационном периодах было сопоставимым с таковым у здоровых доноров (табл. 2).

Таблица 2

Содержание CD55<sup>+</sup> эритроцитов, терминального комплекса комплемента в крови и характеристика мочевинового гемолиза эритроцитов у больных ишемической болезнью сердца до (числитель) и после (знаменатель) операции в условиях искусственного кровообращения ( $\bar{X} \pm m$ )

Показатели	Здоровые доноры (n=12)	Кардиохирургические больные с умеренным постперфузионным гемолизом (n=40)	Кардиохирургические больные с выраженным постперфузионным гемолизом (n=18)
CD55 <sup>+</sup> эритроциты, %	81,45±4,93	74,18±5,82	60,09±5,22 p <sub>к</sub> <0,05
		79,31±6,10	62,15±4,77 p <sub>к</sub> <0,05
Терминальный комплекс комплемента, ×10 <sup>-3</sup> Ед/мл	235,12±26,31	302,12±32,43 p <sub>к</sub> <0,05	385,66±40,00 p <sub>к</sub> <0,01; p <sub>2</sub> <0,05
		1872,51±358,84 p <sub>к</sub> <0,001; p <sub>1</sub> <0,001	1794,86±351,09 p <sub>к</sub> <0,001; p <sub>1</sub> <0,001
Уровень мочевинового гемолиза 50% эритроцитов, % мочевины	1,026±0,012	1,003±0,008	0,971±0,014 p <sub>к</sub> <0,05
		0,984±0,008 p <sub>к</sub> <0,05; p <sub>1</sub> <0,05	0,981±0,013 p <sub>к</sub> <0,05

Примечание: см. табл. 1.

Согласно данным A. Griscelli-Bennaceur et al. [1995], причина дефицита CD55 часто заключается в нарушении биосинтеза гликозилфосфатидинозитол-связанных белков. С другой стороны, массивная гибель эритроцитов, отмечаемая

при ИК, сопровождается не только мобилизацией костномозгового пула молодых эритроидных клеток, но и активацией эритропоэза при сокращении генерационного времени эритроидных клеток-предшественниц, что сопряжено с нарушениями процессов белкового синтеза и поступлением в кровь клеток с дефицитом поверхностных белков [Воробьев А.И., 2005]. К подобным белковым молекулам, по-видимому, относится и CD55.

Содержание ТКК в сыворотке крови до операции у больных ИБС в обеих группах исследования было выше такового в контроле, при этом у пациентов с выраженной послеоперационной гемоглобинемией величина его оказалась больше, чем в другой группе исследования (табл. 2). По данным W.C. Speidl et al. [2011], усиление активности комплемента наблюдается при атеросклерозе. Иммунные комплексы, взаимодействуя с компонентом C1q, индуцируют классический путь активации комплемента, заканчивающийся формированием мембраноатакующего комплекса [Pepys M.B., Hirschfield G.M., 2003].

После операции у кардиохирургических больных обеих исследуемых групп содержание ТКК в сыворотке крови было сопоставимым и существенно повышалось в сравнении с дооперационными его значениями (табл. 2), но только у пациентов с умеренным гемолизом оно коррелировало с уровнем гемоглобинемии ( $r=0,61$ ;  $p<0,05$ ).

Как известно, генерирование ТКК вследствие активации комплемента и внедрение мембраноатакующего комплекса в мембрану клетки приводит к образованию в ней пор, что увеличивает ее проницаемость [Glovsky M. et al., 2004]. Уровень мочевинового гемолиза (концентрация мочевины в растворе, при которой лизируется 50% эритроцитов) обратно пропорционален проницаемости мембраны эритроцитов. Так, у кардиохирургических больных с выраженной гемоглобинемией величина мочевинового гемолиза была ниже значений группы контроля на обоих этапах исследования; у больных с умеренным гемолизом до операции показатель был в норме и снижался только в послеоперационном периоде (табл. 2). При этом величина мочевинового гемолиза у больных ИБС до операции была отрицательно взаимосвязана с уровнем дооперационной гемоглобинемии ( $r= -0,39$ ;  $p<0,05$ ). Следовательно, при умеренной гемоглобинемии проницаемость мембраны эритроцитов нарастает во время операции, а при выраженном гемолизе – уже предшествует таковой.

На проницаемость липидного бислоя оказывает влияние также содержание в нем холестерина (ХС) [Новицкий В.В. и соавт., 2004]. Согласно полученным данным, общее содержание ХС и величина ХС/ФЛ-соотношения в мембране

красных клеток крови были выше значений нормы как у больных ИБС с умеренным, так и с выраженным гемолизом на обоих этапах исследования. При этом до операции более высокие значения концентрации ХС и ХС/ФЛ-соотношения в мембране эритроцитов были у кардиохирургических больных с умеренной гемоглобинемией ( $0,66 \pm 0,02$  ммоль/мг белка и  $1,38 \pm 0,03$  соответственно,  $p_2 < 0,05$ ), а после операции – наоборот, при выраженном гемолизе (только для ХС/ФЛ-соотношения –  $1,40 \pm 0,06$ ,  $p_2 < 0,05$ ). Важно отметить, что у больных ИБС значение ХС/ФЛ-соотношения в мембране эритроцитов до операции коррелировало с уровнем гемоглобинемии после ИК ( $r = -0,55$ ;  $p < 0,05$ ).

Согласно данным литературы, при ИБС отмечается повышение содержания ХС в мембране эритроцитов [Солоха Л.Н., Пушников А.А., 2007; Рагино Ю.И. и соавт., 2009; Шевченко О.Г., 2010]. Вследствие гиперлипидемии и гиперхолестеролемии при ИБС эритроциты, циркулируя в кровотоке, сорбируют ХС на поверхности мембраны, что отражается в увеличении его содержания в плазмолемме красных клеток крови [Смирнова И.П. и соавт., 2005; Мешков А.Н., 2010].

Общее содержание ФЛ в мембране эритроцитов у больных ИБС оказалось пониженным вне зависимости от выраженности гемоглобинемии и этапа исследования. Между тем, соотношение их фракций существенно различалось в группах обследуемых лиц (рис. 1). Так, у больных с умеренной гемоглобинемией до операции отмечалось увеличение доли лизофосфатидилхолина (ЛФХ) при снижении содержания фосфатидилинозитола (ФИ), концентрация которого после ИК нормализовалась. У больных ИБС с выраженным гемолизом до операции фосфолипидный спектр мембраны эритроцитов (т.е. процентное соотношение различных фракций ФЛ) был в норме, но изменялся в послеоперационном периоде вследствие увеличения доли ЛФХ, снижения количества ФИ и фосфатидилхолина (ФХ). Между тем, содержание последнего в мембране эритроцитов после операции у больных ИБС негативно коррелировало с уровнем постперфузионной гемоглобинемии ( $r = -0,66$ ;  $p < 0,05$ ). При этом относительное содержание фосфатидной кислоты (ФК) в мембране эритроцитов после операции нарастало вне зависимости от выраженности гемоглобинемии (рис. 1).

Повышение содержания ЛФХ и дефицит ФИ в мембране эритроцитов у кардиохирургических больных с умеренным гемолизом до операции и у пациентов с выраженной гемоглобинемией после операции, вероятно, обусловлены активацией фосфолипазы  $A_2$ , гидролизующей ФЛ [Namgaladze D., Brüne B., 2006]. Снижение содержания ФЛ в мембране красных клеток крови у больных ИБС с

выраженным гемолизом после операции может быть связано также с активацией ПОЛ и фосфолипазы D [Krzystanek M. et al., 2010], а увеличение содержания ФК вне зависимости от выраженности гемоглобинемии на послеоперационном этапе – с активацией фосфолипаз С и D [Liscotovich M. et al., 2000; Nogaroli L. et al., 2005].

Динамика изменений абсолютного содержания фракций ФЛ была аналогичной таковой при оценке относительного их количества, за исключением показателей ФХ и фосфатидилэтаноламина (ФЭА): их абсолютное содержание в плазмолемме эритроцитов у больных ИБС было ниже значений у здоровых доноров до и после операции с ИК независимо от выраженности постперфузионного гемолиза.

Низкие показатели содержания ФХ и ФЭА в мембране эритроцитов у больных ИБС, очевидно, обусловлены потенцированием естественного метаболизма арахидновой кислоты, входящей в состав данных ФЛ [Коновалова Т.Т., Смирнова И.П., 2005]. Кроме того, снижение концентрации ФХ в мембране красных клеток крови может быть следствием активации ПОЛ и окисления ФХ, содержащего жирные кислоты с большим количеством ненасыщенных связей [Matsumoto T. et al., 2007].

Содержание сфингомиелина и фосфатидилсерина в мембране красных клеток крови у кардиохирургических больных достоверных различий по сравнению с соответствующими показателями у здоровых доноров не имело и было сопоставимым в обеих группах исследования как до, так и после операции (рис. 1).

Нарушение липидного спектра, как известно, значительным образом сказывается на состоянии трансмембранного ионного транспорта, в частности на активности  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФазы [Новицкий В.В. и соавт., 2004; Смирнова И.П. и соавт., 2005; Chen Y. et al., 2009]. Активность данного фермента в эритроцитах у пациентов с умеренной гемоглобинемией была пониженной по отношению к здоровым донорам как до-, так и после ИК (рис. 2), что может быть связано с увеличением доли ХС в мембране красных клеток крови [Смирнова И.П. и соавт., 2005], а также с активацией свободнорадикального окисления при ИБС и повреждением белковых молекул, в том числе АТФаз [Коробейникова Э.Н. и соавт., 2006].

В группе больных с выраженным гемолизом изучаемый показатель до операции был сопоставимым со значениями группы контроля и снижался после хирургического вмешательства, очевидно, вследствие интраоперационной интенсификации свободнорадикального окисления [Чумакова С.П. и соавт., 2012].



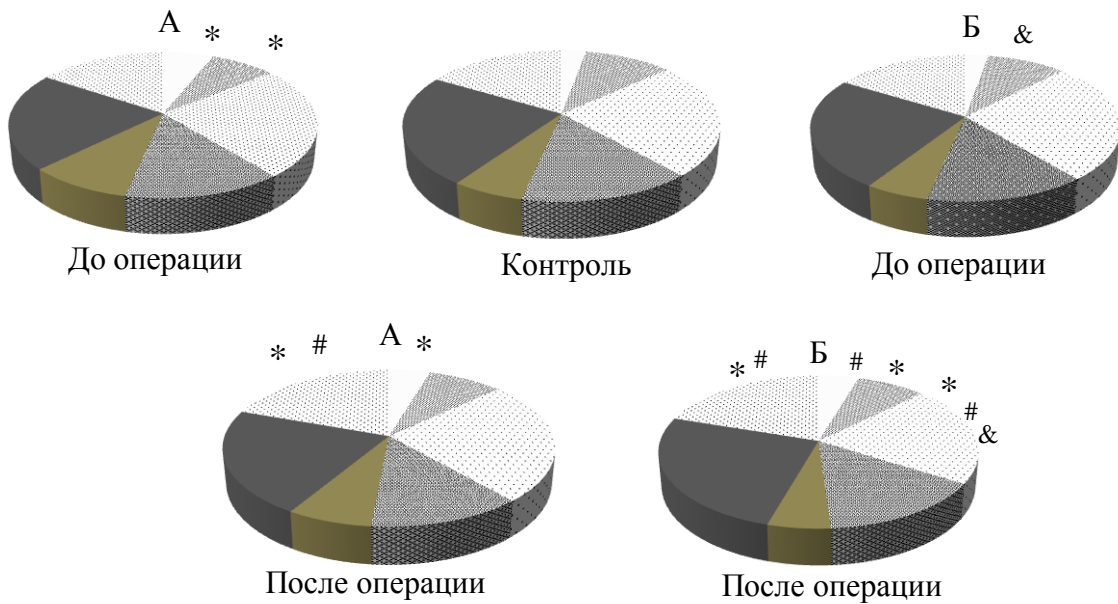


Рис. 1. Относительное содержание различных фракций фосфолипидов в мембране эритроцитов у кардиохирургических больных с умеренным и выраженным постперфузионным гемолизом: А – пациенты с умеренным гемолизом, Б – пациенты с выраженным гемолизом.

*Примечание:* □ ЛФХ, ■ ФИ, □ ФХ, ■ СФМ, ■ ФС, ■ ФЭА, □ ФК, \* - статистически значимые различия по сравнению с показателями у здоровых доноров; # - по сравнению с показателями у больных ИБС до операции, & - между показателями у кардиохирургических больных с умеренным и выраженным гемолизом на соответствующем этапе исследования.

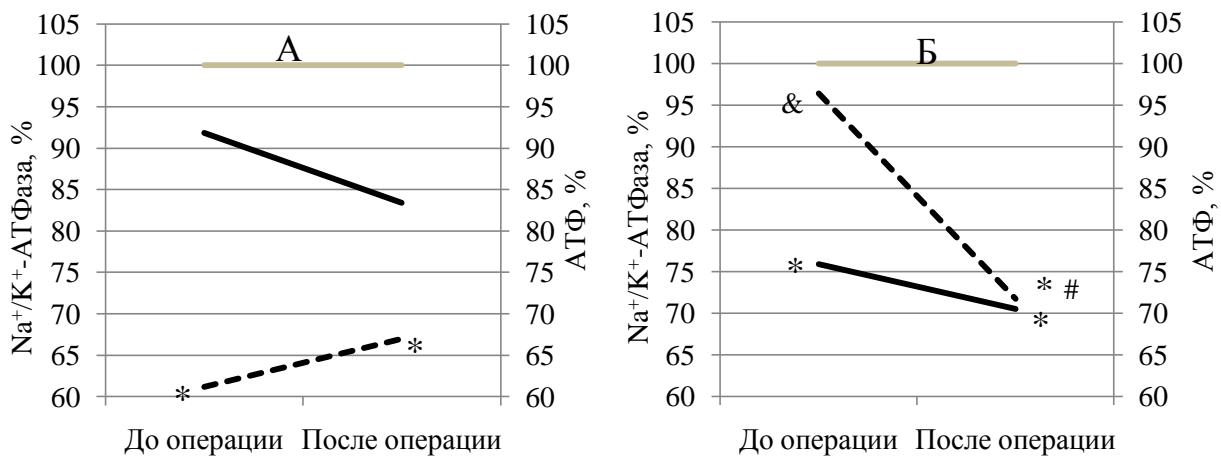


Рис. 2. Активность  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФазы мембраны эритроцитов и содержание АТФ в эритроцитах у кардиохирургических больных, оперированных в условиях ИК, по отношению к здоровым донорам (100%): А – пациенты с умеренным гемолизом, Б – пациенты с выраженным гемолизом.

*Примечание:* - - - активность  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФазы мембраны эритроцитов; — содержание АТФ в эритроцитах; \* - статистически значимые различия по сравнению с показателями у здоровых доноров; # - по сравнению с показателями у больных ИБС до операции, & - между показателями у кардиохирургических больных с умеренным и выраженным гемолизом на соответствующем этапе исследования.

Таким образом, активность  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФазы мембраны эритроцитов у пациентов в послеоперационном периоде была одинаково низкой, но при умеренной гемоглобинемии это сочеталось с нормальным содержанием АТФ в клетке, а при выраженном – с дефицитом такового (рис. 2).

На основании представленных результатов сформированы следующие схемы патогенеза умеренного и выраженного постперфузионного гемолиза – рис. 3 и 4:

**Патогенез умеренного гемолиза.** В процессе атерогенеза при ИБС происходит активация системы комплемента, что сопровождается образованием в крови растворимого ТКК. Генерирование ТКК способствует образованию пор в мембране эритроцитов, однако экспрессия CD55 на их мембране обуславливает ограничение сборки ТКК на поверхности эритроцитов. Благодаря этому и высокому содержанию в мембране эритроцитов ХС, снижающего проницаемость липидного бислоя, в целом проницаемость мембраны эритроцитов остается нормальной.

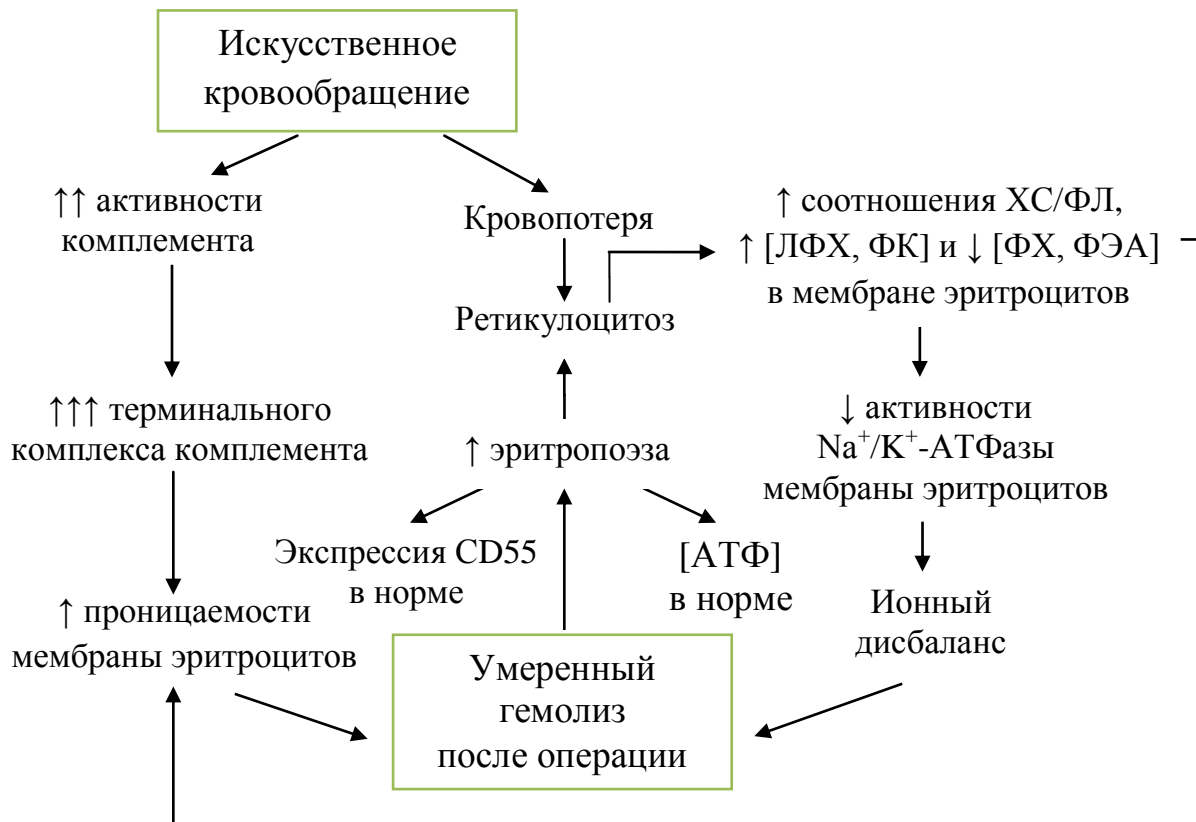


Рис. 3. Схема патогенеза умеренного постперфузионного гемолиза у больных ишемической болезнью сердца после операции с искусственным кровообращением.

*Примечание.* Здесь и в рис. 4: АТФ – аденозинтрифосфат, ХС – холестерол, ФЛ – фосфолипиды, ЛФХ – лизофосфатидилхолин, ФК – фосфатидная кислота, ФХ – фосфатидилхолин, ФЭА – фосфатидилэтаноламин.

Кроме того, повышенное содержание ХС в мембране красных клеток крови оказывает ингибирующее действие на активность  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФазы, что является причиной ионного дисбаланса в эритроцитах и вызывает повышенный их лизис до операции, компенсируемый активацией эритропоэза.

Во время операции (рис. 3) контакт крови с нефизиологическим контуром аппарата ИК еще более активизирует систему комплемента, вызывая генерацию большого количества ТКК. Далее ТКК преобразуется в мембраноатакующий комплекс, который фиксируется на мембране эритроцитов, образует в ней поры и повышает проницаемость мембраны красных клеток крови, что опосредует умеренный постперфузионный гемолиз преимущественно по комплемент-зависимому механизму. Ионный дисбаланс после операции, по-видимому, не усугубляется, так как активность  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФазы и содержание АТФ в эритроцитах остаются на уровне дооперационных значений.

**Патогенез выраженного гемолиза.** Механизм развития внутрисосудистого гемолиза до операции у больных с выраженной гемоглобинемией сходен с таковым у пациентов с умеренным гемолизом на аналогичном этапе исследования. По всей видимости, более интенсивный гемолиз сопровождается сокращением времени созревания эритрокариоцитов в костном мозге, что делает недостаточным синтез в клетках белковых структур (ферментов гликолиза и поверхностных антигенов), опосредует дефицит CD55 и снижение образования АТФ в красных клетках крови. Последнее связано с угнетением функционирования  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФазы, которое компенсируется выходом в кровь молодых форм эритроцитов, опосредуя, как и в первом случае, внутриклеточный ионный дисбаланс, но обусловленный другим механизмом (дефицитом макроэрга). Уменьшение экспрессии ингибиторной молекулы CD55 способствует активации системы комплемента и увеличению проницаемости мембраны эритроцитов еще до операции.

Влияние ИК при развитии выраженного постперфузионного гемолиза (рис. 4) ассоциировано с выраженной активацией эритропоэза до его проведения (по сравнению с больными группы сравнения на соответствующем этапе исследования) и ПОЛ во время экстракорпоральной перфузии [Чумакова С.П. и соавт., 2012]. Интраоперационная интенсификация ПОЛ обуславливает окисление и гидролиз ФХ с последующим образованием ЛФХ, а также рост соотношения ХС/ФЛ, что приводит к нарушению структуры липидного бислоя и снижению гемолитической стойкости эритроцитов. Кроме того, это сопровождается снижением активности  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФазы мембраны эритроцитов, которая функционирует теперь в условиях дефицита АТФ (в отличие от больных с

умеренным гемолизом), что становится причиной выраженного ионного дисбаланса в клетке и ее ускоренной гибели. Роль дефицита поверхностных молекул CD55 в потенцировании сборки ТКК на эритроцитах в условиях ИК становится менее значимой в связи активацией комплемента при контакте с чужеродной поверхностью экстракорпорального контура.

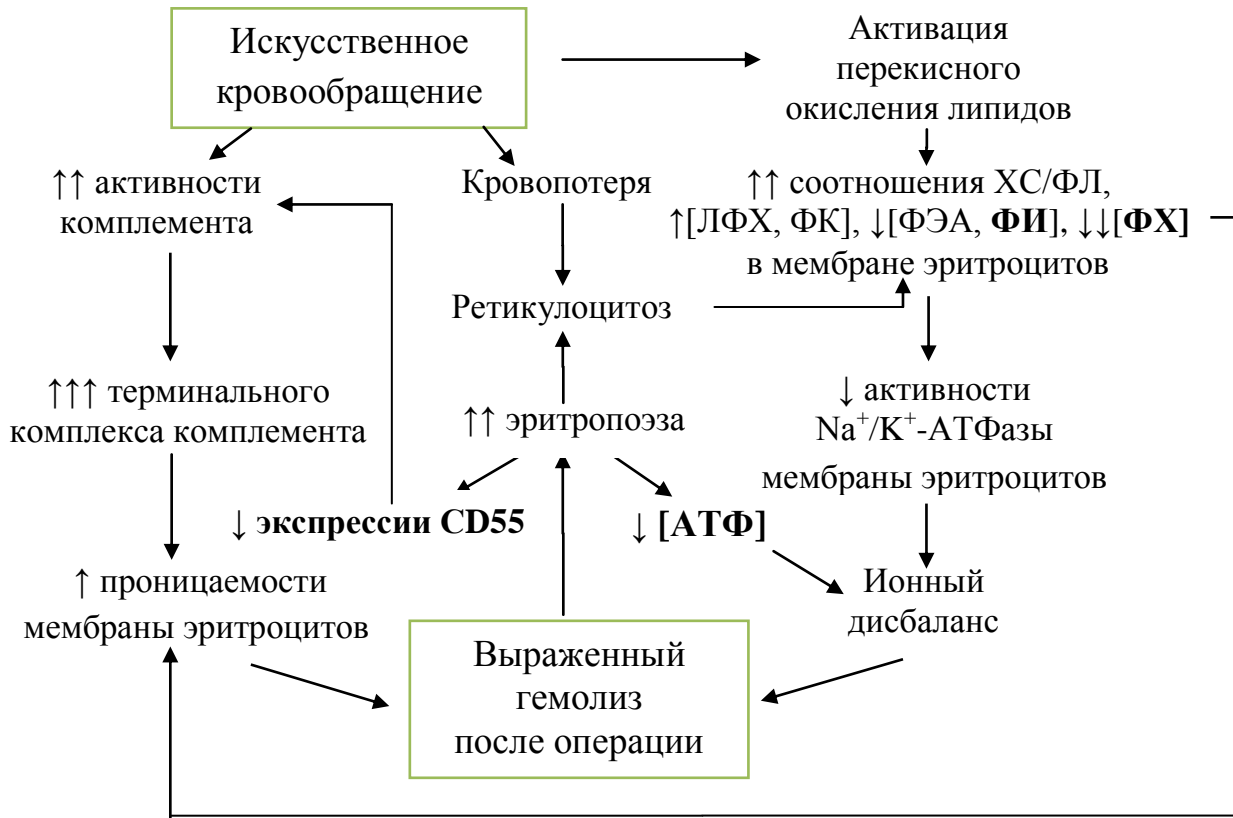


Рис. 4. Схема патогенеза выраженного постперфузионного гемолиза у больных ишемической болезнью сердца после операции с искусственным кровообращением.

*Примечание:* См. рис.3, ФИ – фосфатидилинозитол.

## ВЫВОДЫ

1. Уровень экспрессии молекул-ингибиторов комплемента CD35 на эритроцитах у больных ишемической болезнью сердца не влияет на интенсивность гемолиза во время операции в условиях искусственного кровообращения, в то время как исходный (до операции) дефицит молекул CD55 и высокая проницаемость мембраны эритроцитов обуславливают выраженный интраоперационный гемолиз.
2. Искусственное кровообращение потенцирует активацию системы комплемента у больных ишемической болезнью сердца во время операции аортокоронарного шунтирования, при этом исходно (до операции) она существенно выше у пациентов с выраженной послеоперационной гемоглобинемией, чем при

умеренном интраоперационном гемолизе.

3. Фенотип *сс* Резус-системы эритроцитов у кардиохирургических больных предрасполагает к развитию выраженной постперфузионной гемоглобинемии. Исходный (до операции) дефицит эритроцитов, экспрессирующих гликофорины  $A^+$  и  $B^+$ , у больных ишемической болезнью сердца с умеренной гемоглобинемией компенсируется после операции поступлением в кровоток эритроцитарных клеток костномозгового резерва; у пациентов с выраженным гемолизом их количество сохраняется в пределах нормы в связи с ретикулоцитозом до и после операции.
4. При умеренной постперфузионной гемоглобинемии у больных ишемической болезнью сердца повышение концентрации холестерина и дефицит общих фосфолипидов в мембране эритроцитов до и после операции сочетаются с предшествующими перфузии изменениями ее фосфолипидного спектра – низким абсолютным содержанием фосфатидилинозитола, фосфатидилхолина и фосфатидилэтаноламина при избытке лизофосфатидилхолина. В послеоперационном периоде они сохраняются на фоне нормализации концентрации фосфатидилинозитола и повышения содержания фосфатидной кислоты.
5. Выраженная постперфузионная гемоглобинемия у больных ишемической болезнью сердца после оперативного вмешательства в условиях искусственного кровообращения сопровождается аналогичными, как и при умеренном гемолизе, нарушениями спектра фосфолипидов мембраны эритроцитов (при исходном нормальном их долевым распределении), а также (в отличие от умеренного гемолиза) понижением относительного и абсолютного содержания фосфатидилинозитола и фосфатидилхолина при прогрессирующем увеличении соотношения «холестерол-фосфолипиды».
6. Низкая активность  $Na^+/K^+$ -аденозинтрифосфатазы мембраны эритроцитов у больных ишемической болезнью сердца с выраженным гемолизом после экстракорпоральной перфузии ассоциирована с дефицитом внутриклеточного аденозинтрифосфата до и после операции, а при умеренном постперфузионном гемолизе – с нормальным его содержанием в эритроцитах.

#### ПЕРЕЧЕНЬ НАУЧНЫХ РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Детерминирующая роль резус-фенотипа эритроцитов в реализации гемолитической стойкости клеток красной крови при операциях с искусственным кровообращением / О.А. Хохлов, С.П. Чумакова, И.В. Мальцева, О.В. Юрлова // Сборник статей по материалам XII конгресса молодых ученых и специалистов «Науки о человеке», 28-29 мая 2011 г. (г.

- Томск) / под редакцией Л.М. Огородовой, Л.В. Капилевича. – Томск: СибГМУ, 2011. – С. 41-42.
2. Механическая резистентность эритроцитов у кардиохирургических больных при умеренном и выраженном постперфузионном гемолизе / И.В. Мальцева, С.П. Чумакова, О.А. Хохлов // Сборник статей по материалам XII конгресса молодых ученых и специалистов «Науки о человеке», 28-29 мая 2011 г. (г. Томск) / под редакцией Л.М. Огородовой, Л.В. Капилевича. – Томск: СибГМУ, 2011. – С. 66-67.
  3. Влияние агрегации эритроцитов на выраженность внутрисосудистого гемолиза при операциях в условиях искусственного кровообращения / С.П. Чумакова, И.В. Мальцева, О.И. Уразова, В.В. Новицкий, В.М. Шипулин, О.А. Хохлов, С.Е. Одинцова // **Гематология и трансфузиология**. – 2011. – №6. – С. 28-32.
  4. Состояние путей активации системы комплемента у кардиохирургических больных с различной степенью выраженности интраоперационного гемолиза / С.П. Чумакова, О.И. Уразова, В.В. Новицкий, В.М. Шипулин, О.А. Хохлов, О.Л. Терещенкова // Успехи современного естествознания. – 2011. – №10. – С. 51-52. (Материалы IV международной научной конференции «Фундаментальные и прикладные исследования в медицине», 22-25 сентября 2011 г., г. Сочи).
  5. Роль аденозинтрифосфата эритроцитов в развитии постперфузионного гемолиза и его влияние на тяжесть анемии после кардиохирургических операций / С.П. Чумакова, О.И. Уразова, В.В. Новицкий, В.М. Шипулин, О.А. Хохлов, О.В. Юрлова // Сборник материалов межрегиональной научно-практической конференции «Диагностика и лечение анемий в XXI веке», г. Рязань, 2011. – С. 30-31.
  6. Влияние АВ0-фенотипа эритроцитов на выраженность гемолиза и степень тяжести анемии у больных после операций с искусственным кровообращением / С.П. Чумакова, О.И. Уразова, В.В. Новицкий, О.А. Хохлов, И.В. Мальцева // Патогенез. – 2011. – Т. 9, №3. – С. 70. (Материалы VI Российской конференции с международным участием «Гипоксия: механизмы, адаптация, коррекция», 11–13 октября 2011 г., г. Москва).
  7. Цитологические критерии прогноза гиповентиляционных осложнений у кардиохирургических больных после операций на остановленном сердце / С.П. Чумакова, О.И. Уразова, В.В. Новицкий, В.М. Шипулин, Т.В. Емельянова, О.А. Хохлов, О.В. Юрлова // **Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия**. – 2011. – №6. – С. 64-67.
  8. Фенотипические особенности эритроцитов и активность эритропоэза у кардиохирургических больных с различной степенью выраженности постперфузионного гемолиза / В.В. Новицкий, С.П. Чумакова, О.И. Уразова, В.М. Шипулин, О.А. Хохлов, Ю.В. Колобовникова // **Бюллетень сибирской медицины**. – 2012. – №6. – С. 69-75.
  9. Механизмы регуляции объема эритроцитов у кардиохирургических больных с умеренным и выраженным гемолизом после операций на остановленном сердце / С.П. Чумакова, В.В. Новицкий, О.И. Уразова, И.В. Петрова, В.М. Шипулин, Э.В. Сапрыкина, О.А. Хохлов // **Бюллетень сибирской медицины**. – 2012. – №6. – С. 106-110.
  10. Факторы внутрисосудистого гемолиза у кардиохирургических больных после операций с искусственным кровообращением / С.П. Чумакова, О.И. Уразова, В.В. Новицкий, В.М. Шипулин, И.В. Мальцева, О.А. Хохлов, Т.В. Емельянова // **Вестник РАМН**. – 2012. – №7. – С. 15-19.
  11. Неравномерная оксигенация крови как причина развития выраженного

постперфузионного гемолиза у кардиохирургических больных после операций коронарного шунтирования / С.П. Чумакова, В.М. Шипулин, О.И. Уразова, В.В. Новицкий, И.В. Мальцева, О.А. Хохлов // *Материалы XVIII Всероссийского съезда сердечно-сосудистых хирургов*, 25-28 ноября 2012 г. (г. Москва). – М., 2012. – С. 55.

12. Показатели эритропоза у кардиохирургических больных с умеренным и выраженным постперфузионным гемолизом / С.П. Чумакова, О.И. Уразова, В.В. Новицкий, В.М. Шипулин, И.В. Мальцева, О.А. Хохлов, Ю.В. Колобовникова // *Гематология и трансфузиология*. – 2012. – №3, Приложение. – С. 43. (Материалы Конгресса гематологов России, 2-4 июля 2012 г., г. Москва).

13. Роль эритропэтина и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы эритроцитов в развитии постперфузионного гемолиза различной степени выраженности / С.П. Чумакова, О.И. Уразова, В.В. Новицкий, В.М. Шипулин, И.В. Мальцева, О.А. Хохлов // *Современные наукоемкие технологии*. – 2012. - №8. – С. 38-39 (Материалы V международной научной конференции «Фундаментальные и прикладные исследования в медицине», 27 сентября – 1 октября 2012 г., г. Сочи).

14. Коррекция энергетического метаболизма эритроцитов может снизить выраженность постперфузионного гемолиза и степень тяжести анемии после операций на остановленном сердце / С.П. Чумакова, В.М. Шипулин, О.И. Уразова, В.В. Новицкий, О.А. Хохлов, О.Ю. Юрлова // *Сборник научных трудов по материалам Всероссийской конференции хирургов, посвященной 10-летию медицинского центра им. Р.П. Аскерханова*, 12-13 октября 2012 (г. Махачкала) – Махачкала: ДагПресМедиа, 2012. – С. 128-129.

15. Характеристика системы комплемента у больных ишемической болезнью сердца при умеренном и выраженном гемолизе после операций с искусственным кровообращением / С.П. Чумакова, О.И. Уразова, В.В. Новицкий, В.М. Шипулин, О.А. Хохлов, Т.В. Емельянова, М.А. Михайлова // *Кардиология*. – 2013. – №2. – С. 4-9 .

16. Связь АВ0- и резус-фенотипов эритроцитов с выраженностью интраоперационного гемолиза у кардиохирургических больных / С.П. Чумакова, О.И. Уразова, В.В. Новицкий, В.М. Шипулин, О.А. Хохлов, И.В. Мальцева, Т.В. Емельянова // *Клиническая лабораторная диагностика*. – 2013. – №1. – С. 40-42.

17. Структура липидной фазы мембраны эритроцитов у больных с выраженным гемолизом после операций с искусственным кровообращением / О.А. Хохлов // *Бюллетень сибирской медицины*. – 2013. – Т. 12, №1. – С. 75-79.

18.

#### СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АТФаза – аденозинтрифосфатаза	ФК – фосфатидная кислота
ИБС – ишемическая болезнь сердца	ФЛ – фосфолипиды
ИК – искусственное кровообращение	ФС – фосфатидилсерин
ЛФХ – лизофосфатидилхолин	ФХ – фосфатидилхолин
МКАТ – моноклональные антитела	ФЭА – фосфатидилэтаноламин
СФМ – сфингомиелин	ХС – холестерол
ТКК – терминальный комплекс комплемента	CD – cluster of differentiation
ПОЛ – перекисное окисление липидов	МСНС – mean corpuscular hemoglobin concentration
ФИ – фосфатидилинозитол	МСV – mean corpuscular volume