
**А.М.ГОЛУБЕВ, Ф.Ф.БЕЛОЯРЦЕВ
А.Э.ВАСИЛЬЕВ, Ю.Э.ПОКРОВСКИЙ**

**РЕАКЦИИ
БИОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМ
ПРИ ЗАМЕЩЕНИИ КРОВИ
ЭМУЛЬСИЯМИ
ФТОРУГЛЕРОДОВ**

1993

Глава I. Использование газопереносящих фторуглеродных эмульсий в качестве кровезаменителей

Одной из актуальных проблем современной медицины является лечение острой кровопотери и шока. Традиционное средство лечения этих состояний — консервированная кровь донора. Потребности в ней очень велики и продолжают возрастать с прогрессом в лечении многих заболеваний. Наряду с неоспоримыми преимуществами, консервированная донорская кровь обладает и рядом недостатков, ее резервы и срок хранения ограничены. Это заставляет искать пути создания препаратов, заменяющих функцию крови.

Существующие в медицинской практике кровезаменители представляют собой фактически заменители плазмы крови, они не способны выполнять главную функцию эритроцитов — перенос кислорода и углекислого газа. Поэтому в последние годы проводятся интенсивные исследования по созданию комплексных, полифункциональных кровезаменителей, способных обратимо связывать кислород и углекислый газ, то есть с функцией переноса газов. Этому вопросу посвящено значительное количество исследований, существует несколько подходов к решению данной проблемы.

Предпринимались попытки использовать в качестве заменителя эритроцитов раствор гемоглобина, который может обратимо связываться с кислородом. При этом было показано, что гемоглобин быстро (через 2—4 ч) выводится из кровотока (Rabiner с соавт., 1967), а его присутствие в значительной концентрации может вызвать повреждение почек. Раствор нативного внеэритроцитарного гемоглобина имеет еще один недостаток: ввиду большего к нему сродства кислорода по сравнению с внутриэритроцитарным гемоглобином, он обладает примерно в 2 раза меньшей способностью к переносу кислорода (Sunder-Plassman с соавт., 1975). Возможным путем преодоления этих препятствий является предложенное Chang (1964) заключение раствора гемоглобина в полупроницаемые микрокапсулы. Серьезной проблемой использования микрокапсул является окисление гемоглобина в метгемоглобин, не обладающего кислородтранспортной способностью. Этот процесс происходит и в эритроцитах, но находящаяся в них метгемоглобин-редуктаза быстро возвращает метгемоглобин в первоначальное состояние. В последние годы некоторые исследователи пытаются микрокапсулировать гемоглобин с целью создания искусственных эритроцитов (Kondo с соавт., 1976; Vigneron с соавт., 1977).

Другой подход заключается в разработке синтетических заменителей гемоглобина. Wang (1958) показал, что некоторые компоненты гема и имидазол, растворенные в органической жидкости, способны

обратимо связывать кислород. Однако, в водных растворах эта способность исчезает. Японские авторы провели обширные исследования по созданию искусственного гемоглобина на основе полимеров имидазола и других соединений, сочетаемых с гемом (Toyo et al., 1963). Minoshima (1965) исследовал водорастворимый бис-гистидинкобальтовый комплекс и показал, что в течение часа он при температуре 37°C обратимо сорбирует кислород. Введение этого комплекса обескровленным кроликам поддерживало их жизнь около 1 часа. Однако, как и естественный гемоглобин в водных растворах, эти вещества быстро выводятся из организма с мочой.

Еще одно направление — изучение различных хелатных соединений как переносчиков кислорода (Raldwin, 1975).

В последние годы достигнут определенный успех в создании искусственных кровезаменителей, моделирующих кислородтранспортную функцию эритроцитов, на основе органических соединений с высокой растворимостью в них кислорода и других газов. Такими соединениями являются силиконы (полисиликоны) и фторуглероды. Силиконы состоят из органических групп, присоединяемых к кремниевому скелету и существуют в виде жидкостей, смол и резин. Фторуглероды (перфторуглероды) представляют собой органические соединения, у которых все атомы водорода замещены атомами фтора.

Фторуглероды не существуют в природе. Первые попытки получить их были предприняты французским химиком А.Муассаном, открывшим элементарный фтор в 1886 году. Он получил тетрафторметан и гексафторэтан. Однако, перфторуглероды были синтезированы лишь в 1937 году американским химиком Джозефом Саймонсом в ходе работ на урановом реакторе. Возникла необходимость в создании химически инертного материала, устойчивого к действиям образующегося в реакторе крайне агрессивного соединения — гексафторида урана. Так были синтезированы перфторорганические соединения (ПФОС), область применения которых с каждым годом расширяется: их используют для приготовления смазочных материалов, охлаждающих жидкостей в трансформаторах, электромоторах, авиационных двигателях, радарных установках. Эти соединения чрезвычайно инертны, устойчивы к окислению и действию различных агрессивных сред, малотоксичны. Фторуглероды представляют собой бесцветные, тяжелые, не смешивающиеся с водой жидкости без запаха, с высокой температурой кипения и низкой точкой замерзания, с очень низким поверхностным натяжением, в которых растворяется до 50 об. % кислорода (в воде при одинаковых условиях растворяется около 2,5 об. % кислорода).

Синтезировано множество различных ПФОС, отличающихся по свойствам, давлению паров, периоду полувыведения из организма, стабильности приготовляемых из них эмульсий. Наиболее часто употребляемыми для исследований являются перфторбутилтетрагидрофуран (FX-80), перфтортрипропиламин (ПФТПА), перфтортрибутиламин

(ПФТБА, FC-43, FC-47), перфтордекалин (ПФД), перфторпара-метилциклогексилпиперидин (ПМЦП).

Одним из препятствий к использованию ПФОС в качестве искусственного кровезаменителя является задержка их в тканях животных в течение длительного времени. Для решения этой проблемы было исследовано более 20 видов ПФОС (Clark, 1966, 1974; Gollan, Clark, 1968; Geyer, 1973; Yokoyama, 1975; Rosenblum, 1976).

Наиболее стабильными являются эмульсии ПФТБА, ПФТПА, однако период полувыведения из организма первого составляет 900 дней, второго — 64,7 дня. Эмульсия ПФД быстро выводится из организма (период полувыведения — 7,2 дня), но она нестабильна. Очень важен размер частиц эмульсии, так как от него зависит токсичность: чем крупнее частицы, тем токсичнее эмульсия. Вместе с тем, более крупные частицы быстрее покидают кровоток при внутривенном введении (Geyer, 1975; Okamoto, 1975).

Еще до первого использования органических жидкостей для жидкостного дыхания Kylstra (1966) показал, что животные могут быть помещены в физиологический раствор и оставаться живыми, если растворимость кислорода в водной среде будет значительно повышена посредством повышения давления кислорода над раствором.

Gollan и Clark (1966) первые показали, что жидкое ПФОС может переносить кислород в количествах, необходимых для функционирования органа: они перфузировали изолированные сердца крыс оксигенированным FX-80 и обнаружили, что сердца продолжают сокращаться в течение некоторого времени. Так как вода, глюкоза (или другой метаболический субстрат) и соли фактически нерастворимы во фторсоединении, во время перфузии жидким ПФОС ткань сердца не обеспечивается питательными веществами, вредные продукты обмена не удаляются и не поддерживается ионное равновесие. Так, выяснилось, что фторсоединение может выполнять газотранспортную функцию эритроцитов, но функции плазмы крови — нет (Sloviter, 1970). Для поддержания достаточного коллоидно-осмотического давления в состав эмульсий ПФОС стали вводить альбумин и электролиты с глюкозой. В качестве эмульгаторов используют фосфолипид яичного желтка, различные проксанолы, Плюроник-F-68.

В 1967 г. Sloviter сообщил о перфузии изолированного мозга эмульсией FX-80. При этом в мозге поддерживалась самостоятельная электрическая и метаболическая активность.

В 1968 г. Geyer осуществил полную замену крови крыс эмульсией FC-43. Животные после этого жили 5—6 ч в атмосфере 100% кислорода, сохраняя чувствительность к внешним раздражителям. Смерть наступала вследствие поражения легких. Trinder (1970) в течение 2 ч, перфузировал изолированную печень крысы эмульсиями FX-80 и FC-43 и при этом никаких признаков ее повреждения не обнаружил. В ряде работ рассмотрено состояние транспорта кислорода при замещении

крови эмульсиями ПФОС. Так, в опытах на кошках с замещением крови 10%-ной эмульсией ПФТБА до гематокрита 3% показано, что содержание кислорода в артериальной «Крови» снижалось с 15 до 3,1 об.%. При этом на долю эмульсии приходилось 2 об.% кислорода. Общее потребление кислорода в ближайшее время после замещения обеспечивалось кислородом, растворенным в эмульсии. Оказалось, что содержание кислорода в оставшихся эритроцитах было одинаковым в артериальной и венозной крови. Последнее обстоятельство указывает на то, что эритроциты были выключены из активного переноса кислорода, и он осуществлялся только за счет эмульсии ПФОС (Федоров с соавт., 1980).

Несмотря на свою полную химическую инертность (Макаров с соавт., 1980; Clark, 1977; Мооге, 1978) перфторорганические соединения не являются биологически инертными веществами, имеются данные, свидетельствующие об активном влиянии ПФОС на некоторые процессы жизнедеятельности клеток и тканей (Маевский, 1980). Многими исследованиями, посвященными количественному содержанию и распределению ПФОС, захваченного тканями из кровотока, показано, что с течением времени, индивидуальным для каждого вида фторуглерода количество его в органах и тканях экспериментальных животных уменьшается. Основной путь выведения ПФОС — через легкие, значительно меньше частиц фторуглерода выделяется с желчью и потом (Clark, 1977; Сeyer, 1978).

В марте 1979 г. в Японии двенадцати здоровым добровольцам было перелило от 20 до 500 мл «Флюозола-ДА» (смесь ПФТПА и ПФД) после кровопускания и без него с последующим исследованием кровяного давления, электрокардиограммы, функций печени и почек, гематологических показателей и систем свертывания крови. Ни в одном случае при этом не наблюдалось отрицательного действия препарата (Naito, 1980). В мае 1979 г. в Японии 185 пациентам (133 больных с кровотечением, 49 без кровотечения) было введено от 500 до 1500 мл «Флюозола-ДА». Причины назначения этого препарата вместо переливания крови: а) перед операциями — для устранения опасности заболевания сывороточным гепатитом, б) для устранения гипоксии мозга, в) отказ от переливания крови по религиозным соображениям. Незначительное снижение гематокрита, гемоглобина, количества эритроцитов и тромбоцитов, небольшое увеличение числа лейкоцитов были обнаружены только у больных с кровотечениями, причем все эти показатели в течение недели возвращались к норме. Эти изменения, очевидно, не были вызваны прямым действием «Флюозола-ДА», так как отсутствовали в группе больных без кровотечений.

В последние годы показана важная роль перфторуглеродов в противошоковой защите миокарда и других органов (Н.И. Афонин и соавт., 1989, и соавт., 1986, Г.Р. Иваницкий и соавт., 1986, Б.И. Исламов, 1983, М.Г. Маджидов, 1988, L.Clark, 1989;

N.Faithfull et al., 1988; T.Floyd et al., 1987; K.Kent et al., 1990; M.Kern et al., 1989; N.Soberman et al., 1989; R.Virmani et al., 1988; H.Vogel et al., 1989).

Изучается состояние микроциркуляторного русла, реологических свойств крови (Ф.М. Гусенова и соавт., 1986, С.М. Панченко, Н.И.Афонин, 1986, Л.А. Седова и соавт., 1988), сорбирующие свойства эмульсий ПФОС (Е.В. Терешина, И.Н. Доронина, 1986), возможность их применения при лечении шока (K.Kretschmar et al., 1989; H.Reichelt et al., 1989), газотранспортная функция (К.П. Иванов, 1989, С.С. Соколов и соавт., 1986, G.Biro et al., 1987; T.Chand et al., 1987; B.Fuhrmap, 1990; R.Geyer, 1988; P.Koen et al., 1988; Y.Mori et al., 1990; M.Waldrop, 1989), иммуномодулирующие свойства эмульсий фторуглеродов (О.С.Смелова и соавт., 1988). Исследуется возможность применения в акушерской и педиатрической практике (А.Ambrose et al., 1986; N.Faithfull et al., 1989; J.Greenspan, 1990), офтальмологии (S.Chand et al., 1989), онкологии и лучевой терапии (Т.Насегавы et al., 1988; R.Lustig et al., 1986, 1989; K.Sasai et al., 1989), трансплантологии (А.Lehtola et al., 1990; K.Ogino et al., 1988).

Приведенные выше результаты исследований свидетельствуют о перспективности дальнейших работ по созданию искусственных кровезаменителей на основе ПФОС. Такие кровезаменители, обладающие газотранспортной функцией, найдут широкое применение в клинике при лечении различных патологических состояний.

При тяжелом кровотечении очень важно быстрое восстановление объема крови. Так как не требуется типирования, искусственный кровезаменитель может быть незамедлительно введен больному, а сэкономленное время использовано для последующих жизненно необходимых мероприятий, таких, как введение натуральной крови соответствующей группы.

По мнению Geyer (1975) подобный кровезаменитель, кроме основных показаний при кровопотере и шоке, можно будет применять в лечении анемий, особенно апластических, когда снижен или отсутствует эритропоэз и необходим дополнительный переносчик кислорода и углекислого газа. Такие больные нуждаются в повторных переливаниях крови, и у них часто развивается к ней непереносимость. Использование искусственного кровезаменителя до развития непереносимости может позволить длительное время использовать натуральную кровь, особенно когда ее необходимость более выражена, чем на ранних стадиях заболевания.

При серповидноклеточной анемии также желательно использовать искусственный кровезаменитель, способный поддерживать повышенное парциальное давление кислорода. Это снижает тенденцию превращения эритроцитов в серповидные и может устранить периодически возникающие кризисы. Этот способ контролирования заболевания предпочтительнее воздействия на клетки химическими агентами. Эти

соединения должны будут вводиться постоянно для поддержания желаемого эффекта и для «лечения» новых клеток, поступающих в кровоток.

При усиленном распаде эритроцитов искусственный кровезаменитель может быть использован для уменьшения разрушения эритроцитов.

Достижимое с помощью кровезаменителя повышенное парциальное давление повышает эффективность ионизирующей лучевой терапии больных раком и позволяет уменьшить дозу облучения.

Анаэробная инфекция, например, столбняк, не поддающаяся лечению другими средствами, может быть чувствительна к повышенному PO_2 , обеспечиваемому искусственным кровезаменителем.

В случаях частичной артериальной или венозной закупорки возникает местный дефицит кислорода и питательных веществ, что является серьезной проблемой. Свойства искусственных кровезаменителей (на основе ПФОС) позволяют им проникать в подобные участки аноксии и переносить туда кислород.

Сложность вопросов транспорта и метаболизма гормонов хорошо известна. Используя искусственные кровезаменители для перфузии *in vitro* или *in vivo* можно вывести из кровотока гормоны и белки, а затем изучить кинетику их продукции. В отсутствие в кровотоке гормонов введение одного из них позволяет исследовать его индивидуальное действие, без конкуренции со стороны других гормонов.

Искусственные кровезаменители необходимы в ветеринарии.

Банков крови животных не существует, в то же время лечение может понадобиться домашним животным, животным зоопарков и другим редким животным, подобрать кровь которым может быть очень сложно.

Таким образом, значение искусственного кровезаменителя с функцией переноса кислорода и углекислого газа очень велико, разнообразны области его возможного применения.

Глава II. Биологические системы при плеторическом введении фторуглеродных эмульсий

Одним из наиболее важных разделов исследования ПФОС является изучение их токсичности. Вопросы токсичности FC-43, FC-47, FX-80 рассматривались рядом исследователей: Y.Nose et al. (1970); H.Sloviter (1970); D.Long et al. (1972); L.Clark et al. (1975). Особый интерес представляет изучение токсичности японского препарата «Флюозол-ДА» (T.Matsumoto et al., 1980).

Подострая токсичность «Флюозола-ДА» изучалась в течение 2 месяцев на крысах линии Вистар. Животные были разделены на группы по 15 крыс в каждой. Препарат вводился внутривенно в дозах 20, 10, 5 и 2 мл/кг массы тела в течение 30 дней. Контрольным крысам вводился 10% раствор Плуороника Ф-68 (эмульгатор) и физиологический раствор в дозе 20 мл/кг также ежедневно. После 30 дней введения 10 животных из каждой группы подвергали исследованию: производилось биохимическое исследование мочи, крови, функции почек и печени, патологоанатомическое исследование. Оставшиеся 5 животных в каждой группе содержались в клетках еще 30 дней (без вливаний) для наблюдения за восстановлением функций организма после 30-дневного периода введений.

В результате все животные во всех группах выживали до аутопсии, кроме животных в группе с высшей дозой введения (20 мл/кг), где по одному из 15 животных погибло. (У этих крыс наблюдались признаки интоксикации и кровоточивость). При исследовании мочи и крови, включая число эритроцитов, тромбоцитов, гематокрит, гемоглобин не отмечалось значительных изменений. Функция почек не ухудшалась. На аутопсии обнаружено значительное увлечение веса, селезенки и печени во всех группах с введением «Флюозола-ДА» по сравнению с контролями. При исследовании эти органы выглядели отечными с беловатым оттенком. К концу восстановительного периода внешний вид органов возвращался к первоначальному. Гистологические изменения складывались из пролиферации купферовских и ретикулярных клеток, которые выглядели увеличенными, с крупновacuолизированной, «пенистой» цитоплазмой. Клетки паренхимы обоих органов были без изменений. Интенсивность этих изменений была пропорциональна введенной дозе «Флюозола-ДА».

Исходя из полученных данных, сделано заключение, что ежедневная доза 2,5 мл/кг «Флюозола-ДА» является безопасной для длительных исследований на крысах, хотя все животные хорошо переносили даже дозу 10 мл/кг.

Описанным выше способом изучалась токсичность «Флюозола-ДА» на собаках. Существенных изменений гематологических показателей при этом не обнаружено.

Таблица 1

Клеточный состав периферической крови крыс
в различные сроки после плеторического введения эмульсии
ПФД/ПМЦП — острая токсичность ($M \pm m$)

Срок после введения	Эритроциты $\times 10^9$ /мкл	Лейкоциты $\times 10^9$ /мкл	Тромбоциты $\times 10^9$ /мкл
Исходные — до введения	$5,28 \pm 0,36$	$5,35 \pm 0,64$	$305,4 \pm 30,6$
4 часа — контроль	$5,40 \pm 0,31$	$4,95 \pm 0,33$	$242,3 \pm 35,8$
4 часа — опыт	$5,22 \pm 0,65$	$5,03 \pm 0,82$	$281,5 \pm 26,3$
1 сутки — контроль	$6,23 \pm 0,34$	$5,10 \pm 0,78$	$346,2 \pm 47,0$
1 сутки — опыт	$5,59 \pm 0,43$	$5,63 \pm 0,20$	$216,0 \pm 28,6$
10 суток — контроль	$6,18 \pm 0,45$	$5,10 \pm 1,63$	$443,1 \pm 30,7^*$
10 суток — опыт	$5,98 \pm 0,27$	$5,70 \pm 0,80$	$229,9 \pm 12,8$
1 месяц — контроль	$6,00 \pm 0,56$	$5,68 \pm 0,78$	$341,3 \pm 40,7$
1 месяц — опыт	$5,86 \pm 0,72$	$6,08 \pm 0,85$	$322,0 \pm 23,0$

Примечание: * Достоверно по отношению к исходному ($P \leq 0,05$).

Через 24 ч в костном мозге контрольных животных сохранялось повышенное содержание недифференцированных бластов, процент сегментоядерных нейтрофилов в обеих группах животных оставался в 2 раза выше первоначального. Содержание вакуолизированных клеток (у крыс опытной группы) сократилось до 0,3%.

Через 10 суток достоверно снижено процентное содержание недифференцированных бластов, а также молодых и зрелых форм белого ряда у контрольных крыс, процент сегментоядерных нейтрофилов в обеих группах составил 70 от исходного, на 30% повышено содержание нормобластов. Содержание лимфоцитов у крыс контрольной группы в 1,8 раза выше первоначального.

Через 1 месяц в клеточном составе костного мозга достоверных изменений не выявлено (табл. 3).

в) Цитохимическая характеристика палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов периферической крови. Содержание гликогена в нейтрофилах достоверно не отличалось от исходного. Активность неспецифических эстераз (НЭ) была на 13% выше первоначальной у крыс опытной группы через 4 ч и на 17% — у контрольных крыс через 24 ч. В остальные сроки без существенных изменений. Активность щелочной фосфатазы (ШФ) через 4 ч была в обеих группах животных несколько ниже исходной ($P > 0,05$), в последующие дни — в пределах нормы. Активность пероксидазы у контрольных животных снижалась на 14%, у опытных — на 20%. К концу I суток активность фермента в обеих группах нормализовалась и сохранялась на этом уровне в последующие сроки наблюдения.

§ II. I. Изменения крови и костного мозга крыс

а) Клеточный состав периферической крови

После плеторического введения эмульсий ПФД/ПМЦП количество эритроцитов и лейкоцитов в течение месяца наблюдений достоверно не отличалось от таковых контрольных животных (которым в той же дозе вводили белково-солевой раствор) и интактных крыс. На 10 сутки у контрольных животных отмечался тромбоцитоз (число тромбоцитов в 1 мкл крови увеличивалось по сравнению с исходным на 45%). В остальные сроки наблюдения содержание тромбоцитов колебалось в пределах нормы ($P < 0,05$) (табл. 1).

В лейкограмме через 4 ч отмечался нейтрофилез, процент палочкоядерных нейтрофилов возрастал у крыс опытной группы в 1,9 раза, у контрольных — в 2,6 раза; сегментоядерных форм у опытных и контрольных крыс — в 1,7 раза. Содержание лимфоцитов снижалось в обеих группах животных в равной степени — в 1,4 раза. Процент моноцитов у крыс опытной группы был в 10 раз выше исходного и в 2,5 раза выше, чем в контроль. После введения эмульсии в периферической крови обнаруживались нейтрофилы и моноциты с вакуолизированной цитоплазмой — $2,0 \pm 0,34\%$. Через 24 ч процент сегментоядерных нейтрофилов снизился в обеих группах крыс в среднем в 1,7 раза, у крыс опытной группы было снижено содержание и палочкоядерных форм. Сохранялся моноцитоз, процент вакуолизированных клеток составил $3,16 \pm 0,61$.

На 10 сутки в лейкоцитарной формуле сохранялся лишь незначительный моноцитоз.

Через 1 месяц клеточный состав периферической крови крыс обеих групп не отличался от исходного (табл. 2).

б) Клеточный состав костного мозга

Через 4 ч после введения белково-солевого раствора содержание недифференцированных бластов у контрольных крыс возросло в 1,6 раза, у крыс опытной группы — не отличалось от первоначального ($P < 0,05$). В обеих группах животных отмечались относительная нейтропения (процент палочкоядерных нейтрофилов снизился в среднем в 1,5 раза, сегментоядерных — в 4,4 раза) и нормобластоз — повышение в среднем в 1,5 раза. Процент лимфоцитов в обеих группах повысился в 1,5 раза, моноцитов (у крыс опытной группы) — в 6,3 раза. Введение эмульсии приводило к появлению в костном мозге макрофагов с вакуолизированной цитоплазмой — $1,6 \pm 0,2\%$. Содержание других клеток костного мозга достоверно не отличалось от исходного.

Продолжение табл. 3

Показатель миелограммы, %	Исходные — до введения	4 часа — контроль	4 часа — опыт	1 сутки — контроль	1 сутки — опыт	10 суток — контроль	10 суток — опыт	1 месяц — контроль	1 месяц — опыт
Эритробласты	3,6 ± 0,4	3,5 ± 0,1	2,3 ± 0,4	3,3 ± 0,6	2,5 ± 0,4	4,0 ± 0,2	3,0 ± 0,3	2,9 ± 0,3	3,5 ± 0,6
Нормобласты	22,7 ± 1,3	36,8 ± 2,2*	34,6 ± 4,4*	27,6 ± 3,2	26,8 ± 5,3	31,2 ± 1,8*	30,5 ± 2,5*	25,0 ± 4,4	26,6 ± 3,7
Лимфоциты	16,5 ± 2,0	25,5 ± 3,3	24,2 ± 3,6	23,0 ± 2,9	19,8 ± 3,0	30,3 ± 3,0*	16,8 ± 2,3	20,1 ± 3,8	18,1 ± 2,9
Моноциты	0,4 ± 0,1	0,8 ± 0,3	2,6 ± 0,6*	1,1 ± 0,2*	1,2 ± 0,3*	-	0,8 ± 0,3	0,6 ± 0,2	-
Эозинофилы	1,0 ± 0,2	3,0 ± 0,6	3,8 ± 0,7	3,0 ± 0,5	1,8 ± 0,4	-	0,3 ± 0,1	-	-
Вакуолизированные клетки	-	-	1,6 ± 0,2*	-	0,3 ± 0,1	-	-	-	-

Примечание: * Достоверно по отношению к исходному ($P \leq 0,05$).

г) Цитохимическая характеристика палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов костного мозга: содержание гликогена в течение 1 месяца в обеих группах животных не выходило за пределы достоверных изменений. Активность НЭ превысила исходную на 10 суток на 11%, в остальные сроки активность фермента как у контрольных так и опытных крыс не отличалась от первоначальной. Через 4 ч после введения эмульсии и белково-солевого раствора активность ЩФ снижалась на 30%, в последующие сроки ферментативная активность сохранялась на первоначальном уровне. Как и в нейтрофилах крови, через 4 ч в обеих группах животных отмечалось снижение активности пероксидазы на 12—14% с последующей нормализацией к концу 1 суток (рис. 1 г, д, е).

§ II. 2. Изменения крови и костного мозга кроликов

а) Клеточный состав периферической крови

Количество эритроцитов и лейкоцитов в 1 мкл крови оставалось на протяжении 30 суток в пределах нормы ($P > 0,05$). Со стороны тромбоцитов наблюдалось снижение их числа в контрольной группе животных: через 4 ч — на 38%, через 24 ч — на 23%. На 10 суток содержание тромбоцитов было ниже исходного в контрольной и опытной группах животных соответственно на 24 и 33%. Через 1 месяц содержание тромбоцитов в обеих группах достоверно не отличалось от исходного (табл. 4).

В лейкоцитарной формуле с первых часов после введения эмульсии и белково-солевого раствора наблюдалось повышение процента сегментоядерных псевдоэозинофилов и лимфоцитопения, достоверное только у животных опытной группы.

Таблица 4

Клеточный состав периферической крови кроликов в различные сроки после плеторического введения эмульсии ПФД/ПМЦП — острая токсичность ($M \pm m$)

Срок после введения	Эритроциты $\times 10^6$ /мкл	Лейкоциты $\times 10^3$ /мкл	Тромбоциты $\times 10^3$ /мкл
Исходные — до введения	5,42 ± 0,32	6,39 ± 0,74	375,0 ± 19,5
4 часа — контроль	4,75 ± 0,56	4,63 ± 0,85	233,3 ± 24,8*
4 часа — опыт	5,07 ± 0,36	7,16 ± 0,95	365,2 ± 39,5
1 сутки — контроль	5,26 ± 0,51	5,20 ± 0,90	291,6 ± 23,7*
1 сутки — опыт	4,99 ± 0,32	5,93 ± 1,80	432,0 ± 24,2
10 суток — контроль	5,19 ± 0,33	6,00 ± 1,21	286,0 ± 10,9*
10 суток — опыт	6,04 ± 0,12	4,83 ± 0,87	253,7 ± 34,1*
1 месяц — контроль	5,60 ± 0,75	6,25 ± 0,46	344,0 ± 52,7
1 месяц — опыт	5,89 ± 0,54	5,96 ± 0,72	316,8 ± 47,1

Примечание: * Достоверно по отношению к исходному ($P \leq 0,05$).

Через 24 ч у кроликов обеих групп содержание сегментоядерных форм достигло исходного, но снизился процент палочкоядерных псевдоэозинофилов (у контрольных животных — на 66%, у опытных — на 50%). В крови животных после введения эмульсии обнаруживались единичные моноциты с вакуолизированной цитоплазмой. Содержание других клеток крови было на уровне исходного. В остальные сроки наблюдения клеточный состав периферической крови кроликов обеих групп не отличался от первоначального (табл. 5).

б) Клеточный состав костного мозга

Через 4 ч после введения эмульсии отмечалось снижение процента недифференцированных бластов на 50%. В миелограмме кроликов контрольной и опытной групп снижалось содержание сегментоядерных псевдоэозинофилов (соответственно на 53 и 61%) и лимфоцитов (на 62 и 37%); отмечался выраженный нормобластоз. В костном мозге кроликов опытной группы обнаруживались единичные вакуолизированные макрофаги. Через 24 ч у животных обеих групп сохранялись вышеописанные изменения. На 10 суток у кроликов контрольной и опытной групп все еще наблюдались относительная лимфопения и нормобластоз, процентное содержание других клеток оставалось в пределах исходного. Через 1 месяц клеточный состав костного мозга кроликов обеих групп не отличался от такового интактных животных.

в) Цитохимическая характеристика палочкоядерных и сегментоядерных псевдоэозинофилов периферической крови.

Через 4 ч после введения полиглюкина и эмульсии наблюдалось повышение содержания гликогена в псевдоэозинофилах соответственно на 41 и 127%, сохранявшееся в группе опытных животных до конца 1 суток; на 10 суток средний цитохимический коэффициент был повышен в обеих группах. Через 1 месяц содержание гликогена было в пределах нормы.

Активность НЭ и пероксидазы в клетках крови обеих групп животных достоверно не отличалась от первоначальной. У кроликов опытной группы через 4 и 24 ч в среднем на 20% снижалась активность ЩФ, в остальные сроки наблюдения активность фермента в псевдоэозинофилах крови животных обеих групп не отличалась от исходной (рис. 2 а, б, в).

г) Цитохимическая характеристика псевдоэозинофилов костного мозга.

Колебания в содержании гликогена, активности НЭ, ЩФ и пероксидазы в клетках костного мозга контрольной и опытной групп животных не выходили за пределы достоверных изменений (рис. 2 г, д, е).

Таким образом, плеторическое введение эмульсии ПФД/ПМЦП крысам и кроликам достоверно не изменялось содержание эритроцитов, лейкоцитов и тромбоцитов в 1 мкл крови. Лейкограмма животных характеризовалась нейтрофилезом, лимфопенией (в контроле — аналогичные изменения) и моноцитозом. В 1 сутки в периферической крови крыс обнаруживались вакуолизированные нейтрофилы и моноциты.

Таблица 5

Лейкограмма периферической крови кроликов в различные сроки после плеторического введения эмульсии ПФД/ПМЦП — острая токсичность (M±m)

Срок после введения	Нейтрофилы, %			Лимфоциты, %	Моноциты, %	Базофилы	Вакуолизированные клетки, %
	миелоциты	мета-миелоциты	палочко-ядерные сегментоядерные				
До введения	-	-	5,4±0,8	22,5±2,7	70,2±3,3	1,7±0,2	-
Контроль — 4 часа	-	-	5,6±1,2	34,0±6,5	59,2±6,1	0,7±0,2	-
Опыт — 4 часа	-	-	9,5±1,6	38,0±5,0*	51,5±5,9*	1,6±0,3	-
Контроль — 1 сутки	-	-	1,8±0,3*	22,1±2,8	73,9±5,4	2,1±0,3	-
Опыт — 1 сутки	-	-	2,7±0,4*	21,8±2,7	73,3±4,0	1,7±0,2	0,8±0,2
Контроль — 10 суток	-	-	4,8±0,2	18,6±2,5	77,1±6,4	1,0±0,2	-
Опыт — 10 суток	-	-	3,8±0,6	20,0±3,2	74,5±8,3	1,8±0,3	-
Контроль — 1 месяц	-	-	4,8±0,4	19,3±4,2	74,0±5,1	2,0±0,4	-
Опыт — 1 месяц	-	-	5,2±0,6	21,1±3,7	71,2±6,7	1,8±0,5	-

Примечание: * Достоверно по отношению к исходному (до введения) — $P \leq 0,05$.

Костномозговая реакция выражалась в нейтропении, нормобластозе, моноцитозе и появлении макрофагов с вакуолизированной цитоплазмой. У контрольных животных также наблюдались нейтропения и нормобластоз. Реакция костного мозга кроликов отличалась от таковой крыс развитием лимфопении (у опытных и контрольных животных) в первые 10 суток. Через 1 месяц миелограммы крыс и кроликов не отличались от первоначальных.

Содержание гликогена в палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилах периферической крови и костного мозга крыс достоверно не изменялось, в клетках крови в первые 4 ч повышалась активность НЭ, в этот же срок снижалась активность ЩФ (в нейтрофилах костного мозга) и пероксидазы (в нейтрофилах крови и костного мозга).

В псевдоэозинофилах периферической крови кроликов в первые 10 суток повышалось содержание гликогена, активность ЩФ (в 1 сутки) снижалась. Активность пероксидазы оставалась на уровне исходной. Цитохимические показатели псевдоэозинофилов костного мозга существенно не изменялись.

§ II.3. Изменение внутренних органов

Морфологические изменения внутренних органов при постановке теста на острую и хроническую токсичность освещены в работах Л.А.Седовой и соавт., (1980, 1981). Авторы исследовали острую токсичность фторуглеродных эмульсий на основе ПФТБА и ПФД. Они выделяют три периода: период выраженных патологических изменений (некробиотические и дистрофические изменения внутренних органов), период стабилизации изменений и восстановительный период, связанный с полным восстановлением поврежденной структуры. При этом эмульсия ПФТБА рассматривается ими как неперспективная, вызывающая тяжелые необратимые изменения. В то же время фторуглеродная эмульсия на основе ПФД не вызывает тяжелых изменений и рекомендуется авторами в качестве кровезаменителя. Мы производили исследования эмульсий на основе ПФТБА, ПФД и ПМЦП (Голубев и соавт., 1983) и не нашли признаков грубого повреждающего действия на жизненно важные органы. R.E. Moore (1977), исследуя 100 различных, синтезированных в лаборатории, фторуглеродных эмульсий на острую токсичность, пришел к выводу, что большинство их обладает очень малой токсичностью и только некоторые фторуглероды вызывают повреждение печени (перфторбициклодекан). В целом же токсичность фторуглеродных эмульсий определяется содержанием свободного иона фтора (Riess, Le Blanc, 1978), величиной частиц фторуглерода в эмульсии и степенью очистки детергентов, входящих в состав препарата (Clark, 1977). При хорошо очищенных составных частях токсичность фторуглеродных эмульсий, по мнению авторов, не превышает токсичность физиологического раствора.

При детальном исследовании крыс и кроликов в течение трех стандартных сроков: 4 часа, 24 часа и 10 суток мы обратили внимание на выраженное общее полнокровие внутренних органов через 4 часа после

гисторического введения эмульсии; ПФД/ПМЦП. При гистологическом исследовании структура многих органов: головного мозга, щитовидной железы, надпочечников, половых желез, органов желудочно-кишечного тракта — практически не отличалась от интактных животных. В сердце структура мышечных волокон сохраняла поперечную исчерченность и окраску ядер кардиомиоцитов, однако обращало внимание явление инфильтрации перикапиллярных пространств нейтрофильными лейкоцитами, эозинофилами и единичными лимфоцитами. Инфильтрированными также выглядели стенки мелких артерий и вен. В сердце контрольных животных этого не наблюдалось. Легкие как опытных, так и контрольных животных в первые 4 часа эксперимента были пятнисты из-за множественных мелких ателектазов и участков викарной эмфиземы. В просвете некоторых альвеол выявлялись эритроциты. Только у опытных крыс в этот период времени в просвете альвеол появлялись макрофаги с мелкими оптически прозрачными включениями. В печени опытных животных отмечалась мелкая вакуолизация гепатоцитов периферических отделов долек и нерезко выраженная полинуклеарная инфильтрация синусоидов. Вакуоли в клетках были оптически прозрачны, различной величины. В некоторых клетках Купфера также обнаруживались крупные прозрачные вакуоли, отчего сами клетки выглядели крупнее обычного, неправильной формы. У контрольных животных структура печени была не изменена. В почках как опытной, так и контрольной групп эпителий извитых канальцев выглядел несколько набухшим, в просвете большое количество эозинофильных белковых масс. В селезенке отмечались признаки гиперплазии лимфоцитов в «В»-зависимых зонах, были хорошо сформированы вторичные лимфатические фолликулы с широкими центрами размножения. В опытной группе была выражена макрофагальная реакция в синусах красной пульпы. Среди макрофагов выделялись довольно крупные клетки с мелкими светлыми вакуолями в цитоплазме. Аналогичные изменения наблюдались в синусах мозговой зоны лимфатических узлов шеи и бифуркации трахеи.

Через 24 часа эксперимента в сердце более выражена плиморфноклеточная реакция между мышечными волокнами и в периваскулярных пространствах. В легких сохранялись участки дистелектаза и эритроциты в отдельных альвеолах. В этот период времени межальвеолярные перегородки утолщены из-за выраженной инфильтрации полинуклеарами, эозинофилами, лимфоцитами и макрофагами. Среди элементов просматривается довольно большое количество крупных макрофагов с мелковакуолизированной («пенистой») цитоплазмой. В печени опытных животных все гепатоциты заполнены крупными и мелкими прозрачными вакуолями. Увеличено количество крупных «пенистых» макрофагов. В гепатоцитах животных контрольной группы через сутки после внутривенного введения белково-солевого раствора видны мелкие вакуоли, которые при гистохимической реакции на суммарный белок дают положительную реакцию. В селезенке опытных животных через 24 ч эксперимента значительно увеличивается количество макрофагов с «пенистой» цитоплазмой, которые расположены врассыпную в красной пульпе. Среди элементов белой пульпы макро-

фаги, как правило, не появляются. Макрофагальная реакция в синусах лимфатических узлов нарастает. Среди макрофагов появляются крупные вакуолизованные макрофаги, аналогичные описанным в селезенке и печени. В коже вокруг гематом у опытных крыс и кроликов наблюдается скопление крупных макрофагов с «пенистой» цитоплазмой.

Мы провели гистохимический анализ всех органов, где были обнаружены «пенистые» клетки для выявления вещества, содержащегося в их цитоплазме. Для этого ткани окрашивались для выявления четырех основных соединений, входящих в состав биологических систем (Луппа, 1980): суммарных белков, полисахаридов, липидов и нуклеиновых кислот. При проведении указанных реакций вакуоли «пенистых» клеток, обнаруженных нами в легких, печени, селезенке и лимфатических узлах, не окрашивались. Параллельно проводимый в этих органах газохроматографический анализ показал содержание введенного фторуглерода, что дает возможность считать инертное содержимое клеточных вакуолей перфторуглеродом.

Через 10 суток после плеторического введения эмульсии ПФД/ПМЦП все отмечаемые выше изменения почти полностью исчезают. Полиморно-клеточная реакция соединительной ткани сердца не обнаруживается. Легкие выглядят воздушными, инфильтрация межальвеолярных перегородок полностью исчезает, хотя одиночные макрофаги с «пенистой» цитоплазмой встречаются и в эти сроки. Вакуолизация гепатоцитов и Купферовских клеток в печени практически не выявляется. Мы встречали лишь единичные клеточные агрегаты, состоящие из 3—4 вакуолизованных макрофагов вблизи портальных трактов. В селезенке строение белой и красной пульпы не отличалось от интактных и контрольных животных. В периферической зоне лимфоидных скоплений белой пульпы (маргинальной зоне) встречались единичные мелкие агрегаты из «пенистых» макрофагов, окруженных лимфоидно-гистиоцитарными элементами (рис. 36).

При гистоэнзимохимическом исследовании сердца, печени, почек и головного мозга животных опытной и контрольной группы отмечаются во многом сходные изменения активности определяемых окислительно-восстановительных ферментов (НАД-Н и НАДФ-Н тетразолий редуктаз, сукцинатдегидрогеназы (СДГ); лактатдегидрогеназы (ЛДГ)). В течение 24 ч после введения растворов несколько снижается активность СДГ с одновременным повышением ЛДГ в сердечной мышце и почках; повышается активность НАД-Н и НАДФ-Н тетразолий редуктаз. Наиболее значительное снижение активности СДГ и НАД-Н тетразолий редуктазы наблюдается в печени. По-видимому, это явление связано с блокадой гепатоцитов частицами ПФОС и другими детергентами эмульсии (см. главу V). В целом же, снижение активности указанных ферментов не достигает значительной интенсивности (в большинстве случаев $P > 0,05$) и через сутки быстро нормализуется. Через 10 суток эксперимента мы практически не отмечали изменений со стороны активности ферментов по сравнению с контрольными и интактными животными.

Наблюдая кумуляцию макрофагов с частицами ПФОС в некоторых органах, описанных выше, мы обратили внимание на размеры и вес

печени и селезенки как органов, накапливающих наиболее значительное количество фторуглерода. Оценивая изменение массы органов по весовым индексам мы отметили небольшое увеличение массы как печени, так и селезенки крыс и кроликов ($P < 0,05$) через 24 ч и 10 суток эксперимента. Причем, увеличение массы органов у крыс носило более стойкий характер (через 10 суток повышение массы было на том же уровне, в то же время как у кроликов. К этому периоду она начинала снижаться).

Обсуждая полученные результаты, необходимо прежде всего обратить внимание на отсутствие дистрофических изменений в паренхиме жизненно важных органов. Об этом же свидетельствуют результаты гистоэнзимохимического исследования. Изменения со стороны органов иммуногенеза (гиперплазия лимфоцитов в «В» — зависимых зонах), по-видимому, связаны с присутствием альбумина в составе белково-солевого раствора. Кумуляция частиц ПФОС в органах животных после внутреннего плеторического введения небольшой дозы фторуглеродной эмульсии ПФД/ПМЦП — явление временное. Макрофаги, содержащие частицы фторуглерода, появляются уже через 4 ч после введения, количество их увеличивается через 24 ч эксперимента и резко уменьшается после 10 сут. от начала эксперимента. Появление их в большом количестве в легочной ткани является, вероятнее всего, показателем выведения ПФОС из организма через органы дыхания.

Морфологические изменения органов крыс и кроликов при детальном введении той же дозы фторуглеродной эмульсии в течение десяти дней (тест на хроническую токсичность) дали сходные результаты: дистрофических изменений жизненно-важных органов не наблюдалось: в печени и селезенке через 10 суток после начала эксперимента мы наблюдали единичные мелкие агрегаты из «пенистых» макрофагов, которые полностью исчезали на более поздних сроках наблюдения (через 1 и 3 месяца). При этом структура органов не отличалась от таковой у интактных животных.

Заключение

Морфологическая оценка стандартного теста на острую и хроническую токсичность фторуглеродной эмульсии «ПФД/ПМЦП» показала отсутствие повреждающего действия на ЦНС и паренхиму жизненно-важных органов. Отмеченная нами гиперплазия лимфоцитов «В»-зависимых зон в органах иммуногенеза, вероятнее всего, связана с введением в организм в составе эмульсии альбумина. Макрофагальная реакция и следующая за этим кумуляция элементов системы мононуклеарных фагоцитов частиц ПФОС наиболее выражена через 24 ч эксперимента и почти полностью исчезает через 10 суток. Появление большого количества «пенистых» макрофагов с частицами ПФОС в легких является признаком выведения фторуглерода с выдыхаемым воздухом.

Глава III. Морфологическая характеристика биологических систем при массивной замене крови эмульсиями фторуглеродов

Как отмечалось, возрастающая потребность в донорской крови и некоторые недостатки ее, связанные с потерей ряда ценных свойств при хранении (Гаврилов и соавт., 1982), возможности переноса инфекции и возникновения целого ряда посттрансфузионных осложнений (Петровский и соавт., 1977; Климанский, Рудаев, 1979) заставляют ученых постоянно искать и применять новые типы кровезамещающих препаратов. В последние десятилетия в экспериментальной биологии и медицине сформировалось новое направление, связанное с разработкой методов поддержания газообмена в биологических системах на основе использования полностью фторированных углеродов, обладающих способностью физически растворять кислород и углекислый газ (Белоярцев, 1980; Sloviter, 1970; Clark, 1977; Geyer, 1975).

Создание и экспериментальная апробация новых препаратов, естественно, потребовали применения разнообразных методов исследования, среди которых морфологический занимает одно из ведущих мест, сочетаясь с принципами системного подхода (Автандилов, 1978) на различных уровнях организации и в процессе развития (Голубев, Васильев, 1983). Уже первые исследователи, занимающиеся отбором ПФОС, пригодных для использования в качестве кровезаменителей, использовали морфологический метод при оценке острой токсичности новых препаратов, а также для выявления патологических процессов в органах и тканях (Clark, 1970; Mazuda, Hori, 1973). Благодаря подробному патофизиологическому и морфологическому изучению сердечно-сосудистой и дыхательной систем крыс, погибающих после внутривенного введения эмульсий на основе FX-80, Сассом (D.J. Sass et al., 1976) было установлено, что причиной смерти животных является газовая эмболия главного ствола и ветвей легочной артерии парами фторуглерода, обладающего высокой температурой кипения. Sloviter (1970) и Clark (1970) одними из первых установили, что введенные в организм животных перфторуглероды задерживаются тканями и сохраняются там длительное время в неизменном виде. В то же время в процессе изучения различных внутренних органов: головного мозга, сердца, печени, почек как *in vitro*, так и *in vivo* (в организме животных) — различные исследователи пришли к выводу, что перфторорганические соединения, будучи введенными в организм даже в больших дозах, не вызывают грубых морфологических изменений (Riess, Le Blanc, 1978).

В наших исследованиях эксперименты по однократной кровопотере 60—70% ОЦК с последующим обменным замещением четырьмя различными вторуглеродными эмульсиями у 305 крыс-самцов линии

Все перфторорганические соединения: перфтортрибутиламин (ПФТБА), перфтордекалин (ПФД) и перфторпараметилциклогексилпиперидин (ПМЦП) — различались между собой как строением, так и по физико-химическим свойствам (табл. 7). Различны были и периоды полувыведения указанных ПФОС из организма животных, установленные методом газохроматографического исследования (Vokoyma et al., 1977). Непременным условием низкой токсичности всех эмульсий фторуглеродов является их стабильность в кровеносном русле. Из всех отобранных нами для экспериментов ПФОС наиболее стабильные эмульсии образуются с ПФТБА (Clark et al., 1974), достаточно стабильные с ПМЦП (Маевский, 1983), что же касается ПФД, то все исследователи высказываются об отсутствии стабильности эмульсий на его основе (Маевский и соавт., 1983; Clark, 1974; Geyer, 1983). Для стабилизации быстро выводящегося ПФД мы применяли ПФТБА и ПМЦП в соотношении соответственно 3:1 (ПФД/ПФТБА) и 2:1 (ПФД/ПМЦП). Таким образом, все опытные крысы были разделены на четыре группы, которым произвели однократную массивную замену крови эмульсиями на основе ПФТБА, ПМЦП, ПФД/ПФТБА и ПФД/ПМЦП.

Нервная система. Сравнительно немногие исследователи занимались изучением нервной системы в условиях замены крови фторуглеродными эмульсиями. При этом обращалось основное внимание на состояние центральной нервной системы. В обзоре G.Riess и M.Le Blanc (1978) изложены результаты исследований церебральной микроциркуляции у мышей при болевом кровезамещении эмульсией ПФТБА со снижением гематокрита до 10—15%. При этом было установлено, что ПФОС способствуют поддержанию циркуляции в мозгу и осуществляют доставку кислорода тканям, поддерживая электрическую активность (результаты сравнивались с влиянием раствора Рингера—Локка). Аналогичные данные о защите головного мозга крыс от гипоксии при геморрагическом шоке дает R.P.Geyer (1970). Другие исследователи предпочитали изучать изолированный головной мозг (Sloviter, 1970), перфузированный теплым раствором фторуглеродной эмульсии. Автором были получены положительные результаты высокой биоэлектрической активности мозга, выше на 20%, по сравнению с цельной кровью. Стабилизировались также и другие параметры: метаболическая активность, артерио-венозная разница, pH среды. В настоящее время способность эмульсий ПФОС улучшать кислородное снабжение тканей и кровообращение используется для лечения больных сосудистыми поражениями мозга (Handa et al., 1983; Peerless, 1983). Патогистологические изменения вещества головного мозга описаны А.М. Голубевым и А.Э. Васильевым (1983) после однократного массивного кровезамещения у крыс эмульсиями на основе ПФТБА и ПМЦП. Авторами отмечено малокровие сосудов и тигрозиз отдельных нейронов коры, исчезающие через несколько суток.

Таблица 8

Схема исследования органов крыс после кровезамещения эмульсиями ПФОС и белково-солевым раствором

Вид эмульсии	Сроки эксперимента (час., сут., мес.)											
	12 ч.	24 ч.	3 с.	5 с.	7 с.	14 с.	1 м.	3 м.	6 м.	8 м.	12 м.	24 м.
ПФТБА	8	8	8	5	7	12	5	5	5	5	5	-
ПФД/ ПФТБА	10	5	5	5	5	5	5	7	5	5	5	-
ПМЦП	5	6	6	5	5	12	5	7	8	5	7	5
ПФД/ ПМЦП	10	6	10	6	6	7	6	3	5	-	5	5
Контроль	5	5	5	5	5	5	-	5	-	5	1	-

По нашим данным, при экспериментальном замещении крови всеми эмульсиями ПФОС морфологические изменения были сходными. Наблюдалось выраженное малокровие сосудов всех калибров головного мозга и его оболочек. Среди нейронов коры уже через 12 час. после начала эксперимента встречались отдельные группы клеток с изменениями по ишемическому типу (при окраске по методу Ниссля) и отдельные «клетки-тени». Признаков пролиферации и регрессивных изменений глии не отмечалось. Описанные изменения постепенно исчезают и через 3-е суток лишь в подкорковых ядрах встречаются не-

большие группы клеток и одиночные нейроны в состоянии ишемического изменения. Кровенаполнение сосудов головного и спинного мозга восстанавливается на 5—7 день эксперимента. Впоследствии строение и кровенаполнение головного мозга не отличаются от такого у интактных животных. В контрольной группе через 12 час. после кровезамещения выражено нарушение стратификации слоев коры головного мозга за счет нарушения клеточной ориентации и повреждения большинства нейронов (ишемическое изменение, тяжелое повреждение, цитолиз отдельных клеток) и регрессивные изменения глии за счет образования амeboидных форм глиоцитов и клеточного сателлитоза. В сосудах микроциркуляторного русла (артериолах, капиллярах, венах) наблюдаются резко выраженные признаки расстройства кровообращения по типу стаза и сладжа эритроцитов. Через 24 часа кроме указанных изменений отмечаются некрозы отдельных нейронов в зонах локализации пирамидных клеток коры и подкорковых ядрах. К 12—14 дню указанные изменения головного и спинного мозга не отмечаются.

Метаболические изменения в клетках головного мозга изучались, в основном, биохимическими методами (Sloviter, 1970; Riess and Blanc, 1978). Авторы единодушно отмечают явление снижения активности лактат дегидрогеназы (ЛДГ) и увеличение уровня активности НАДФ-Н тетразолий редуктазы, что говорит о снижении активности гликолитических процессов. Гистохимическое определение активности неспецифической эстеразы в нейронах коры головного мозга свидетельствует о повышении активности фермента на 1—3 сутки после применения эмульсий ПФОС (Голубев, Васильев, 1983). Сравнивая показатели, можно отметить, что у контрольных животных происходит резко выраженное и достоверное ($P < 0,05$) снижение активности НАДФ-Н и НАДФ-Н тетразолий редуктазы в течение 7—10 суток после замены с одновременным повышением активности ЛДГ. В опытной группе умеренно выраженное достоверное снижение тетразолий редуктазы отмечено только в период до 24 часов, а изменения активности ЛДГ не наблюдалось.

Элементы периферической нервной системы, представленные вегетативными ганглиями и интрамуральными нервными сплетениями, не изменялись у животных как контрольной, так и опытной групп во всех сроках эксперимента.

Как видно из перечисленных данных, наибольшие изменения отмечаются в клетках головного мозга крыс контрольной группы, получившей взамен утраченной крови белково-солевой раствор, не обладающий газотранспортной функцией. Сам характер морфологических изменений нейронов по типу «ишемического изменения» и «тяжелого повреждения», который мы наблюдали у крыс, наиболее выражен в контрольной группе. Наконец, характерные изменения активности окислительно-восстановительных ферментов в нейронах, свидетельствующие об активации процессов анаэробного гликолиза и угнетении активности метаболизма. Все это говорит о гипоксическом характере поражений головного мозга, наиболее выраженных у контрольных

животных. Подобные изменения наблюдали И.Р. Петров и Г.Ш. Васадзе (1972); С.А. Козлов и В.Ю. Зиновьев (1976); Шафик У.Ахмед (1980) при незамещенной кровопотере у разных животных. Легкость и обратимость структурных изменений в клетках головного мозга крыс опытной группы свидетельствует о том, что фторуглеродные эмульсии при тяжелой кровопотере защищают ЦНС от гипоксических повреждений.

Сердечно-сосудистая система. Морфологическим изменениям сердца и сосудов в условиях замены крови фторуглеродными эмульсиями посвящено сравнительно небольшое количество исследований. Так, R.P. Geyer (1975), описывая свой знаменитый эксперимент по полному обменному замещению циркулирующей крови крыс на эмульсию ПФОС, пишет об отсутствии изменений сердца. А.М. Голубев и А.Э. Васильев (1983), изучая сердечную мышцу у крыс при кровезамещении фторуглеродными эмульсиями и водно-солевым раствором Рингера, отметили некоторое набухание и эозинофилию мышечных волокон у опытных животных и более тяжелые изменения (по типу микронекрозов) в контроле. Отмечено также выраженное снижение СДГ и тетразолий редуктазы в контроле и незначительное изменение у крыс опытной группы. Размеры и вес сердца были неизменны. Подтверждая эти морфологические данные, У.У. Ахсянов и соавт. (1983) описывают более тяжелые патологические изменения со стороны миокарда (аритмические процессы, падение напряжения кислорода в тканях, метаболический ацидоз) и более длительную нормализацию их в случае применения при геморрагическом шоке раствора альбумина. В опытной группе собак при этом была использована эмульсия на основе ПФД/ПФТПА. Очень наглядно устранение гипоксического действия на миокард фторуглеродных препаратов показано в экспериментальном исследовании В.С. Ярочкина и соавт. (1983), которые перфузировали изолированное сердце кролика эмульсией на основе ПФД/ПФТБА, и одним из первых отечественных клинических исследований в той же области (Кузин, Белоярцев и соавт., 1983) по изолированной коронарной перфузии у тяжелых сердечных больных. Авторы показывают хороший эффект равномерной оксигенации всех участков миокарда субмикронными частицами эмульсии, несущими растворенный кислород.

Наши исследования показали, что в опытной группе животных в первые 5—7 суток эксперимента отмечалось выраженное малокровие полостей сердца, которые содержали светло-красную кровь. Малокровными были и оболочки сердца. Гистологически: в первые 12 часов сосуды типа мелких интрамуральных артерий и вен были резко малокровными. Небольшие скопления эритроцитов адгезивно располагались на эндотелии сосудов. Капилляры выглядели неравномерно кровенаполненными с явлениями стаза эритроцитов (в одних) и полным запустением других. Мышечные волокна сердца крыс, которым были введены все вышеназванные эмульсии ПФОС, большей частью сохраняли поперечную исчерченность, однако среди них встречались отдельные

кардиомиоциты со стертой поперечной исчерченностью, гомогенно эозинофильные. Ядра мышечных клеток одинаковой формы и величины, бледно-эозинофильны с распыленным хроматином. Строма около сосудов и между мышечными волокнами в состоянии небольшого отека. В течение первых суток эксперимента в периваскулярных и перикапиллярных пространствах, а также среди гладкомышечных элементов мелких артерий мы отмечаем диффузно-очаговую инфильтрацию полиморфно-клеточными элементами, состоящими из полинуклеарных лейкоцитов с примесью гистиоцитов и лимфоцитов. В цитоплазме некоторых полинуклеаров прослеживались мелкие прозрачные вакуоли. Инфильтрация полностью исчезает уже на вторые сутки после кровезамещения. Гистохимически постоянно отмечалось исчезновение гликогена из мышечных волокон, которое наблюдалось до 5—7 дня. Примерно к этому же дню отмечаем полное восстановление структуры миокарда. Кровенаполнение интрамуральных артерий восстанавливалось несколько позже — через 10—12 дней.

В контрольной группе крыс через 12—24 часа после кровезамещения белково-сольевым раствором также наблюдалось выраженное малокровие. Практически во всех сосудах микроциркуляторного русла — агрегации и стаз эритроцитов. В паренхиме встречаются поля со стертой исчерченностью клеток миокарда гомогенно эозинофильные, участки «повреждений» и фрагментации. Ядра кардиомиоцитов пикнотичны, хроматин грубый, распределен неравномерно. При ШИК реакция гликоген почти не определяется. После реакции с амилазой, среди неокрашенных мышечных клеток, отмечено очаговое появление фуксинофильно окрашенных волокон. При выявлении суммарных липидов краситель располагается в саркоплазме мышечных клеток в виде отдельных мельчайших капель, перинуклеарно и диффузно по всей клетке, в отличие от миокарда опытных крыс, где было равномерное пылевидное отложение продукта реакции, подчеркивающее его миофибриллярную структуру.

Гистоэнзимохимическое исследование сердечной мышцы опытных крыс выявило нерезкое ($P > 0,05$) повышение активности НАД-Н и НАДФ-Н тетразолий редуктазы, а также ЛДГ в первые 5 суток эксперимента с одновременным снижением в те же сроки СДГ в миоцитах и ЩФ в эндотелии интрамуральных сосудов. Конечный продукт гистохимической реакции располагался в виде мелкодисперсного пылевидного осадка (формаза), подчеркивающего миофибриллярную структуру волокна. В то же время у контрольных животных значительное и достоверное снижение активности СДГ и НАДФ-Н тетразолий редуктазы, а также ЩФ в эндотелии сосудов с параллельным возрастанием активности ЛДГ и НАД-Н тетразолий редуктазы. Осадок красителя во многих мышечных волокнах выглядел грубозернистым. Достоверное ($P < 0,01$) изменение активности этих ферментов отмечали до 3-х суток после кровезамещения, а затем медленное восстановление их активности к 10—14 суткам.

Элективная окраска всех отделов сердца животных для выявления отдельных компонентов соединительной ткани выявила у опытных крыс одинаковую стандартную локализацию волокон каждого вида: коллагеновых в адвентиции интрамуральных сосудов и оболочках сердца; эластических — в мембранах сосудов и оболочках; ретикулярных — вокруг мышечных волокон, сосудов и нервов. Соотношение это несколько изменялось у контрольных крыс в поздние сроки наблюдения: у них довольно часто выявлялся мелкоочаговый кардиосклероз, который вероятно, является следствием «повреждений» миокарда в остром постперфузионном периоде. Необходимо, однако, добавить, что с возрастом как у опытных, так и у контрольных животных общий объем коллагеновых волокон возрастал, преимущественно, за счет увеличения его в периваскулярных пространствах.

Крупные кровеносные сосуды типа артерий и вен крупного и среднего калибров, по данным А.М. Голубева и соавт. (1983), были не изменены после переливания больших доз фторуглеродных эмульсий. В то же время в эндотелии сосудов выявлялись включения в виде бесцветных мелких вакуолей. Подобные включения описывает в своих наблюдениях M.L. Miller et al., (1976), отождествляя их с частицами фторуглерода, захваченными из кровотока. В сосудах микроциркуляторного русла различных органов и тканей через 1—2 часа В.П. Матвиенко и соавт. (1980) отмечали уменьшение скорости кровотока за счет спазма артериол и параллельного расширения посткапиллярных венул. Эти явления универсальны и не связаны с кровопотерей (Endrich et al., 1980). В более поздних исследованиях авторы указывают о снижении чувствительности к действию катехоламинов вазоконстрикторов сосудистой стенки и образования в этот период мелких пристеночных тромбов в капиллярах. Нередко отмечался эритродиapedез. (Матвиенко, Гусенова и соавт., 1983). В. Endrich, M. Newman et al., (1980) объясняют феномен местного тромбообразования прилипанием нейтрофильных лейкоцитов и тромбоцитов к эндотелию сосудов с дальнейшим повреждением его и тромбозом. В обзоре G.G. Riess and M. Le Blanc (1978) описывают смерть животных от блокирования легочных капилляров распространенными мелкими тромбами с последующим наступлением острой легочной недостаточности, сопровождающейся дилатацией правых отделов сердца.

Наши исследования крупных кровеносных сосудов говорят об отсутствии изменений в строении их стенок как опытных, так и контрольных животных. На ранних сроках эксперимента (до 7 суток) в эндотелии выявляются очень мелкие светлые вакуоли, которые вполне могут быть включениями частиц фторуглерода, тем более, что у контрольных животных такого явления не наблюдалось. У старых крыс обеих групп через 6—18 мес. после кровезамещения происходили нерезко выраженные изменения стенок крупных сосудов, которые выражались в уменьшении количества эластических волокон и параллельном увеличении объема коллагеновых. Это явление расценивалось

нами как возрастная инволюция сосудистой стенки. Со стороны мелких сосудов типа артериол, венул и капилляров как в опытной, так и контрольной группах животных в первые 3-е суток были выражены явления плазморагии, которые были полностью обратимы и исчезали к 5—7 дню эксперимента.

Подводя итог, необходимо отметить, что изменения мышечных волокон миокарда и сосудов микроциркуляторного русла, связаны с циркуляторной гипоксией. Ряд авторов, изучающих структурно-метаболические изменения миокарда в условиях тяжелой кровопотери (Ескунов, Семченко, 1982, Беркуцкая и соавт., 1975; Бебиёва и Бойченко, 1976) описывают изменения сердца и интрамуральных артерий такого же характера, как у контрольных крыс в наших исследованиях. Несомненно, следует признать, что перфторуглеродные эмульсии, используемые в качестве кровезаменителей, достаточно хорошо защищают миокард от повреждающего действия циркуляторной гипоксии.

Органы дыхания. Легкие, представляющие собой главную структурную единицу системы органов дыхания, выполняют в живом организме при массивной замене крови эмульсиями ПФОС две основные функции: а) газообмен между циркулирующими в крови частицами фторуглеродной эмульсии (Okada et al., 1977) и б) удаление фторуглерода с воздушно-капельными парами при дыхании (Clark, 1977; Geyer, 1983).

Впервые с морфологическими изменениями в легких при использовании фторуглеродных эмульсий столкнулся Г.Словитер, который в 1967 г. предложил для внутреннего влияния составленную им первую эмульсию на основе Fx-80 и человеческой плазмы (Sloviter, 1970). Все животные этого эксперимента погибли, а при аутопсии у них была обнаружена картина острой эмфиземы и резко выраженной дилатации правых отделов сердца, которые были переполнены парами фторуглерода (Collan, Clark, 1968, Sass, Dylce, 1976; Geyer, 1970). Эта, казалось бы, неудача тем не менее подсказала ученым мысль о критической точке давления паров при подборе ПФОС, выше уровня которой нельзя было переступать, рекомендуя испытуемый перфторуглерод для биологических испытаний (Mooge, 1978, Clark, 1978). Довольно подробную морфологическую картину при введении внутривенно в организм экспериментальных животных эмульсий ПФОС описали F.Gollan and R.M.Clark (1968). Авторы отмечают, что даже при небольшой дозе через 6—12 часов после введения развивается картина полнокровия сосудов межальвеолярных перегородок, инфильтрация перегородок гистиоцитарными элементами, а у некоторых животных — отек. Через некоторое время эти реактивные изменения в легких исчезают без следа. В работе А.М. Голубева и соавт. (1983) указывается о развитии ателектазов и дистелектазов, появлении эритроцитов и больших пенистых макрофагов со светлой цитоплазмой в просвете легочных альвеол в период до 14 суток после массивной кровезамены фторуглеродными препаратами. Практически все исследователи, занимающиеся

морфологическим изучением органов животных после введения фторуглеродных эмульсий, описывали появление в просвете альвеол и строме перегородок крупных вакуолизированных макрофагов — «пенистых клеток», содержащих фторуглерод (Седова и соавт., 1979; Хохлова и соавт., 1983; Гласко и соавт., 1983; Miller et al., 1976; Pfannkuch, Schnoy, 1979). Несмотря на присутствие этих клеток, авторы не отмечали признаков склероза или острого воспаления. Интересен, на наш взгляд, эффект повышения артериального давления в легочной артерии, зафиксированный у больных во время операций в первые часы после инфузии эмульсий ПФОС). Давление повышалось в общей сложности на 55%, что влекло за собой увеличение сердечного выброса на 26% (Nishimura, Sugi, Niranuma, 1983). Авторы объясняют это явление открытием артерио-венозных анастомозов, шунтирующих кровь вследствие повышенного содержания в артериальной крови растворенного кислорода (гипероксии). Это же свойство — артериальную гипероксию — другие исследователи (Ohyanagi, Miskijima, 1983) использовали для лечения злокачественных новообразований легкого. Известно, что опухолевые клетки — анаэробы, поэтому локальное повышение содержания кислорода в ткани новообразования должно тормозить его развитие. В комплексе с другими этот способ лечения показал определенный успех в борьбе с тяжелым недугом.

По нашим данным все изменения, обнаруженные со стороны органов дыхания носили однонаправленный характер и не зависели от вида использованной фторуглеродной эмульсии. В течение первых 5-ти суток у опытных крыс в легких наблюдались мелкие участки пониженной воздушности темно-красного цвета. Гистологически отмечалось резко выраженное малокровие сосудов артериального русла и крупных вен трахеи, главных бронхов и легких. Наблюдался также небольшой отек собственного слоя слизистой оболочки трахеи и бронхов. В легочной ткани отмечалась мозаичность за счет очаговых ателектазов и дистелектазов. Межальвеолярные перегородки у животных, забитых через 12—24 часа после кровезамещения, умеренно инфильтрированы нейтрофильными лейкоцитами с примесью эозинофилов и лимфоидных клеток. Позднее выраженность и характер инфильтрации несколько меняется. Через 10—14 суток с момента начала эксперимента кровенаполнение и воздушность легочной ткани полностью восстанавливаются. Бронхи в течение первых суток с гофрированной стенкой. В просвете их небольшое количество густой слизи. Через 5—7 суток стенка их выглядит гладкой, эпителий не изменен. В подслизистом слое некоторых бронхов крупного и среднего калибра у крыс как опытной, так и контрольной группы часто встречаются скопления лимфоидной ткани, увеличивающиеся в размерах по мере старения животных.

После кровезамещения у животных контрольным белково-солевым раствором изменения в легочной ткани были более значительны: кроме распространенных ателектазов в первые 24 часа эксперимента наблюдалось большое скопление эритроцитов и отчетливой жидкости в

просвете альвеол. Сосуды типа мелких артерий и вен содержат фибринные тромбы. Указанные изменения постепенно исчезают к 14—16 суткам.

У всех крыс опытной группы, получивших большие дозы эмульсий фторуглеродов, уже через 12 часов после начала эксперимента среди клеток межальвеолярных перегородок постоянно встречаются одиночные крупные клетки с мелко- и крупновакуолизированной цитоплазмой, уже описанные нами в главе II и идентифицированные как перфторорофаги (ПФ). Через 7—14 дней они наблюдаются чаще в виде небольших скоплений — агрегатов по 3—4 клетки. При электронно-микроскопическом исследовании, проведенном Н.В. Шибаевым, В.И. Поповым и Б.Л. Аллахвердовым (1983), указанные клетки представляют собой альвеолярные макрофаги, в цитоплазме которых находятся различного размера вакуоли, окруженные тонкой электронно-плотной мембраной толщиной около 60—80 А, которая по мнению автора, образована поверхностно-активными веществами, выявляемыми в результате взаимодействия с четырехокисью осмия. Ультраструктура накопления в клетках различных ПФОС идентична и существенных изменений при этом не обнаружено.

Вакуолизированные макрофаги в легких мы встречали только после введения в кровотоки фторуглеродных эмульсий, причем общее количество их со временем уменьшалось и через 2—3 месяца клетки не обнаруживались.

Особый интерес для нас представляло изучение волокнистого каркаса легочной ткани. У молодых животных как опытной, так и контрольной групп он был представлен хорошо развитой сетью эластических волокон, составляющих основу стромы межальвеолярных перегородок и смешанную сеть коллагеновых и эластических волокон в перибронхиальных и периваскулярных пространствах. Появление полиморфно-клеточных инфильтратов и ПФ в первые сутки после кровезамещения фторуглеродными эмульсиями не влияло на соотношение коллагеновых и эластических волокон в строме легких. На поздних сроках наблюдения (через 4—12 месяцев) у всех крыс, включая интактных, закономерно наблюдалось «огрубение» стромы за счет появления коллагеновых волокон в межальвеолярных перегородках, что расценивалось нами как результат возрастных изменений в ткани легких.

Анализируя изменения со стороны органов дыхания, в раннем постперфузионном периоде — явления снижения воздушности легочной ткани и нарушение сосудистой проницаемости для эритроцитов мы связываем прежде всего с воздействием циркуляторной гипоксии. Эти изменения наиболее резко выражены у контрольных крыс. Подобная морфологическая картина при незамещенной кровопотере детально отражена в монографии И.Р. Петрова, Г.Ш. Васадзе (1972). При этом возникшие изменения авторы связывают с нарушением центральной регуляции дыхания и местным повреждением системы сурфактанта, усугубляющим начальные повреждения. В то же время полиморфнок-

леточная инфильтрация с примесью большого количества нейтрофильных лейкоцитов и появление макрофагов, нагруженных частицами ПФОС, — процесс чисто специфический для всех использованных нами фторуглеродных эмульсий. По этому поводу достаточно аргументированно пишут Steinberg et al., (1979), которые наблюдали перемещение полиморфных лейкоцитов и тромбоцитов в легкие после инфузии эмульсий ПФОС внутривенно. Авторы исследования предполагают наличие контакта между этими клетками и частицами эмульсии в кровеносном русле (возможно, фагоцитоз) с последующей депозицией в строме легкого. При этом иногда возникали явления тромбоза мелких сосудов которые могли нарушить функцию органа. Эффект повышения проницаемости легочных капилляров для мелких частиц и эритроцитов, по мнению Е.Е. Schneeberger (1983), может возникать вследствие блокады эндотелиальных клеток легочных капилляров частицами ПФОС. При этом возникает повышенная порозность сосудов, способствующая выходу из циркулярного русла частиц ферритина и эритроцитов, а также отек.

Пищеварительная система. Пищеварительная система, представляющая желудочно-кишечным трактом и отдельно лежащими сложными железами, лишь частично исследована при воздействии на организм фторуглеродных эмульсий. Если морфологические и функциональные изменения печени исследованы достаточно подробно и широко опубликованы, то по остальным отделам системы пищеварения: кишечнику, слюнным железам, поджелудочной железе — таких работ почти нет. В нашей публикации (Голубев, Васильев, 1983) указывалось, что при кровезамещении у крыс 50—70% ОЦК фторуглеродными эмульсиями на основе ПФТБА и ПФД/ПМЦП, как и у контрольных крыс, слюнные железы не изменялись во все сроки эксперимента, а в желудке и кишечнике отмечались признаки гиперсекреции ШИК-воложительного слизистого секрета. Изменения были наиболее выражены в первые трое суток эксперимента. Другие авторы не отмечают сколько-нибудь выраженных изменений со стороны желудочно-кишечного тракта. Клетки его не накапливают ПФОС, о чем свидетельствуют данные газовой хроматографии (Yokoyama et al., 1977; Miller et al., 1976). Отмечается появление характерных ПФ в строме поджелудочной железы, что подтверждается газохроматографическими исследованиями.

По нашим данным при исследовании слюнных желез как у опытных, так и контрольных животных в первые 12 часов после экспериментальной замены крови отмечаются признаки резко выраженного малокровия артерий и вен. В сосудах микроциркуляторного русла отмечалось небольшое количество эритроцитов, расположенных вдоль эндотелиальной выстилки. В некоторых капиллярах наблюдалась агрегация эритроцитов. Строма между дольками нерезко отечна. Кровенаполнение сосудов слюнных желез постепенно восстанавливалось, достигая исходного уровня на 10-й день. В более поздние сроки наблюдения

каких-либо патологических изменений со стороны слюнных желез не отмечено. Во всех отделах желудочно-кишечного тракта у животных опытной группы в первые 12 часов — выраженное малокровие сосудов брыжейки и стенки кишечника. Небольшие скопления эритроцитов встречаются лишь в сосудах капиллярного типа. Наблюдается нерезко выраженный отек слизистого и подслизистого слоев. В клетках желудочных крипт и люберкюневых желез несколько уменьшается количество митозов. Главные клетки желудка и кишечника дают более выраженную, чем у интактных крыс, ШИК — реакцию. Через 1—2 суток все признаки отека исчезают; кровенаполнение сосудов стенки возвращается к исходному уровню на 5—7 день эксперимента.

У крыс контрольной группы изменения со стороны желудочно-кишечного тракта аналогичны, хотя и связаны с более резкими нарушениями кровообращения по типу капилляростазов, сладжа, плазматического пропитывания стенок мелких сосудов. Резко выражен отек слизистого и подслизистого слоев. При ШИК-реакции в первые трое суток мы отмечали уменьшение количества клеток, дающих положительную реакцию, в отличие от животных опытной и интактной группы. В последующие дни эти изменения исчезают, а кровенаполнение восстанавливается (как и в опытной группе) на 10—14 день. У старых животных как в опытной, так и контрольной группе нарастают атрофические изменения со стороны эпителия, коллагенизация стромы подслизистого и слизистого слоев, происходит увеличение объема лимфоидной ткани в области пейеровых бляшек и солитарных фолликулов. Мы рассматриваем это как проявление возрастной инволюции.

В поджелудочной железе опытных и контрольных крыс никаких патологических изменений, кроме обратимого и выраженного малокровия, не отмечалось.

Печень — один из органов с высоким уровнем метаболизма — осуществляющая в организме многообразную барьерно-синтетическую функцию. Кроме того, она включает в себя около 85% элементов СМФ, что составляет основу морфофункциональных изменений при введении внутривенно эмульсии перфторуглеродов (Lutz, Vaute, 1978). Буквально самые первые морфологические исследования печени животных, получивших эти препараты, показали задержку ПФОС в гепатоцитах и Купферовских клетках печени (Sloviter, 1970; Clark, 1970; Clark et al., 1973; Riess, Le Blanc, 1978). Изучение функций печени в живом организме трудоемко и связано с возможностью возникновения ошибок, поэтому большинство функциональных параметров после введения ПФОС изучалось на изолированном органе. Результаты исследований были обнадеживающими и показали, что в сравнении с перфузионной средой, (растворы с альбумином, эритроцитами, плазмой и т.д.), фторуглеродные эмульсии не снижали, а даже усиливали выделение желчи, белка, катаболизм цистеина, неогликогенез (Novakova et al., 1977; Kohashi et al., 1978). В то же время при искусственно создава-

емых условиях тканевой гипоксии прогрессивно снижалась скорость неогликогенеза, возрастал гликолиз, уменьшалось потребление кислорода и выделение желчи печеночными клетками (Goodman et al., 1973). Другие авторы изучали клиренс перфузионной среды, содержащей частички радиоактивного коллоидного золота после предварительного введения в кровяной ток перфторуглеродной эмульсии на основе ПФТБА (опыт) и эритроцитарной взвеси (контроль). При определении в последующем количества захваченного золота в гепатоцитах и Купферовских клеток оказалось, что фторуглеродные частицы блокируют их, что резко снижало очищение перфузата от инородных частиц (Roeser et al., 1978). Морфологические изменения в изолированной печени после внутривенного введения небольших доз эмульсии F1-ДА отражены в работах J.Lutz et al., (1978); D.Petutschnigk et al., (1980), которые наблюдали включение капелек фторуглерода в гепатоциты, эндотелиальные клетки и клетки Купфера, которые казались полностью заполненными ПФОС. Со временем включения исчезают, не вызывая острого воспаления, повреждений и образования склероза.

Морфологические изменения *in vivo* заключаются в вакуолизации гепатоцитов и Купферовских клеток, возникающей только после внутривенного введения фторуглеродных препаратов. (Седова с соавт., 1979, Голубев и соавт., 1983, Хохлова и соавт., 1983; Clark et al., 1974, 1975.; Sloviter, 1970). При этом клетки увеличиваются в размерах и приобретают внешний вид «пенистых» клеток. В первые сутки после введения небольших доз ПФОС эмульсий они — вакуолизованные клетки — расположены одиночно, больше по периферии печеночных долек, а затем образуют небольшие скопления (Гласко и соавт. 1983; Васильев, 1983; Голубев и соавт., 1982; Clark et al., 1975; Miller et al., 1976). При электронно-микроскопическом исследовании «пенистых клеток» в цитоплазме макрофагов печени и гепатоцитов видны электронно-прозрачные включения частиц фторуглерода, находящиеся в фаголизосомах. Они отделены от цитоплазмы типичной трехслойной мембраной (Голубев и соавт., 1982; Clark et al., 1974). Н.В.Шибает и соавт. (1983) предлагают называть эти включения «перфторосомами», отражая функциональную характеристику включений. Авторы считают, что при использовании различных ПФОС образующиеся «перфторосома» морфологически идентичны. Все исследователи, занимающиеся изучением ультраструктуры клеток, нагруженных в печени животных частицами ПФОС, отмечают их инертность по отношению к структурам самой клетки-хозяина (Шибает и соавт., 1983, Clark et al., 1974, 1975, 1977; Miller et al., 1978). Гистохимические методы выявления фторуглеродов, содержащихся в клетках, свидетельствуют о их химической инертности. Макрофаги, дающие отрицательные результаты при гистохимическом выявлении белка, полисахаридов, липидов и нуклеиновых кислот при введении эмульсий ПФОС получили название перфторофагов (Голубев и соавт., 1982; Васильев, 1983).

Длительность кумуляции частиц ПФОС зависит от многих причин, которые будут рассмотрены нами подробно в следующих главах. Что же касается прямого токсического действия на ткань печени, то в этом отношении все исследователи единодушно высказываются об отсутствии такового. Большинство авторов (Хохлова и соавт., 1983; Голубев и соавт., 1982, 1983; Clark et al., 1974; Miller et al., 1976) высказываются также и против возникновения склерозирующих изменений в органах, длительное время кумулирующих ПФОС. В то же время F.Pfannkuch et al. (1979) пишет, что максимальное отложение в органах ПФТБА, составляющего основу эмульсии F1-43, является причиной необратимого повреждения клеток и впоследствии может стать причиной фиброза.

Наши исследования показали, что в группе крыс после массивного кровезамещения всеми эмульсиями ПФОС печень уже через несколько часов выглядит бледно-коричневой с матовым оттенком. На разрезах ткань ее желтоватая с резко малокровными сосудами. Масса печени достоверно увеличивается по сравнению с массой печени интактных животных на 3—5 сутки эксперимента у крыс, получивших эмульсии на основе ПМЦП и ПФД/ПФТБА и на 1—14 сутки у крыс с эмульсиями ПФТБА и ПФД/ПМЦП, возрастая при этом почти вдвое. Впоследствии масса печени начинает снижаться более быстро у крыс, получивших эмульсии ПМЦПБ, ПФД/ПФТБ, ПФД/ПМЦП (к сроку 1 месяца масса печени у этих животных незначительно превышает таковую интактных крыс), и довольно медленно в группе, получившей эмульсию на основе ПФТБА. Через один месяц у крыс этой опытной подгруппы увеличение массы еще значительно выше ($P < 0,05$) уровня интактных животных. Впоследствии масса органов животных стабилизируется.

Гистологически: уже через несколько часов после применения всех использованных в эксперименте эмульсий ПФОС гепатоциты периферической части печеночных долек визуально набухают. В цитоплазме их накапливаются округлые светлые вакуоли. Аналогичные включения, но более крупные, занимающие почти всю клетку, мы наблюдали и в звездчатых эндотелиоцитах Купфера. Через 12 час. практически все гепатоциты были мелковакуолизированы, а между ними располагались резко увеличенные в объеме клетки Купфера, содержащие в цитоплазме 2—3 гигантские бесцветные вакуоли. Ядра их расположены эксцентрично, интенсивно базофильны, овальной или треугольной формы. Проведенный нами гистохимический тест на выявление в клеточных фагосомах одного из возможных органических соединений (суммарного белка, липидов, полисахаридов или нуклеиновых кислот) дал отрицательные результаты, что говорит о химической инертности вещества, заключенного в них. Данный факт позволил нам отнести накапливающиеся в клетках печени вакуоли к частицам перфторуглеродов, а сами клетки к перфторофагам (ПФ). В непосредственной близости от них отмечается скопление единичных лимфоцитов, макрофагов и полинуклеаров. Через сутки общее количество ПФ в

печени увеличивается, они расположены врассыпную по всей территории печеночной дольки.

Общая структура печени в результате вышеописанных изменений отличается от печени интактных крыс: отмечается умеренно выраженная дисконкомплексация долек, особенно по периферии. При выявлении ДНК реакцией Фельгена ядра гепатоцитов в первые 3-5 суток выглядят пузырьковатыми, а интенсивность самой реакции снижается по сравнению с интактными животными. Такое же явление мы отмечали в ядрах ПФ.

Внутриорганные сосуды печени, как и в других органах, в течение первых суток выглядят малокровными; в просвете их лишь на эндотелиальной выстилке замечены небольшие скопления эритроцитов. Впоследствии кровенаполнение постепенно восстанавливается.

Вакуолизация гепатоцитов частицами ПФОС постепенно исчезает от центра дольки к периферии, и на 14-й день эксперимента гепатоциты не отличаются от таковых в печени интактных и контрольных крыс. Вместо одиночных ПФ в этот период времени мы наблюдали клеточные скопления или агрегаты ПФ. Эти макрофаги выглядели уже несколько по-другому: цитоплазма их была мелковакуолизирована, ядра, хотя и занимали по-прежнему эксцентрическое положение, были более крупного размера и менее базофильны. При гистохимическом исследовании реакции на суммарный белок, нуклеиновые кислоты и полисахариды были слабо положительны за счет окрашивания тонких прослоек клеточной цитоплазмы, появившихся между бесцветными мелкими вакуолями. Изменилась и локализация макрофагальных агрегатов. Чаще всего их можно было увидеть около порталных трактов, вдоль адвентиции крупных внутриорганных сосудов и капсулы органа.

Эффект образования агрегатов ПФ универсальный для всех видов эмульсий ПФОС, сроки формирования их, однако, несколько различаются. В последующих главах мы подробнее остановимся на этих процессах. Необходимо только отметить, что, наряду с агрегатами из ПФ, мы всегда наблюдали небольшое количество одиночных крупнововакуолизированных перфторофагов, располагающихся в разных отделах печеночной дольки даже на дальних сроках эксперимента. С течением времени общее количество ПФ и агрегатов в печени опытных крыс уменьшается. В главе V дана подробная характеристика динамики выведения частиц ПФОС из печени для разных фторуглеродных эмульсий.

При исследовании волокон соединительной ткани у крыс опытной группы различного срока одиночные ПФ волокнами не окружены. В то же время через 1 месяц после кровезамещения мы наблюдали тонкий каркас из аргирофильных волокон, окружающих как весь агрегат, так и отдельные макрофаги, входящие в его состав. При выявлении эластических волокон не отмечено их появление около ПФ. Что же касается коллагеновых волокон, то лишь после применения таких эмульсий как ПФТБА и ПМЦП, частицы которых задерживаются в

тканях свыше 1,2—2-х лет, мы наблюдали тонкий коллагеновый каркас, расположенный вокруг агрегатов ПФ. Огрубение и коллагенизация стромы порталных трактов опытных крыс на длительных сроках эксперимента (8, 12, 18 мес.) не отличались от таковых у интактных и контрольных животных. Вероятно, это проявление возрастной инволюции соединительной ткани, наблюдаемое нами и в других органах.

У крыс контрольной группы через 12 час. после начала эксперимента, так же как и у опытных, отмечалась резко выраженная анемия. Гистологически — нерезко выраженная дисконкомплексация долек, некоторое набухание гепатоцитов и очень мелкая вакуолизация их цитоплазмы светлыми округлыми капельками. Вакуолизация исчезает уже через 1 сутки и гистохимически представляет мелкие гранулы белка, захваченные, вероятно, из белково-солевого раствора. На третьи сутки после кровезамещения дисконкомплексация долек увеличивается. При этом гепатоциты еще больше набухают, а в цитоплазме появляются перинуклеарные оптически прозрачные вакуоли по типу вакуольной дистрофии, выраженные как в центральных, так и в периферических отделах. Строма печени в течение первых суток практически не изменяется за исключением слабо выраженного отека пространств Диссе. Сосуды порталных трактов и центральные вены резко малокровны. Признаки дистрофии гепатоцитов обратимы и постепенно исчезают к 10-14 дню эксперимента. В дальнейшем печень контрольных крыс не отличалась от интактных. Следует подчеркнуть, что ни у одного контрольного животного на всех сроках эксперимента мы не отмечали появления клеток, напоминающих перфторофаги, либо похожих агрегатов из этих клеток.

Результаты гистохимического исследования печени интактных, опытных и контрольных крыс свидетельствуют о нерезких колебаниях активности НАД-Н и НАДФ-Н тетразолий редуктаз ($P > 0,05$) в печени опытной группы животных в первые сутки эксперимента. Умеренное достоверное повышение активности ЛДГ и КФ в гепатоцитах также отмечали не более, чем в течение 1-х суток после кровезамещения фторуглеродными эмульсиями. Только активность СДГ достоверно снижалась до значительных цифр в течение 10—14 суток, а затем постепенно нормализовалась. В контрольной группе изменения активности изучаемых ферментов варьировали в более широких параметрах: НАД-Н тетразолий редуктаза, ЛДГ и КФ достоверно повышались в гепатоцитах в течение 1—5 суток, НАДФ-Н тетразолий редуктаза достоверно снижалась в течение 3—5 суток. После снижения активности почти всех ферментов уровень ее кратковременно повышался, полностью нормализуясь на 10—14 сутки эксперимента. Конечный продукт реакции при исследовании окислительно-восстановительных ферментов контрольной группы наблюдали в виде мелкодисперсного или гранулированного осадка формаза.

Подводя итоги морфофункциональных изменений желудочно-кишечного тракта при экспериментальном кровезамещении фторугле-

родными эмульсиями и контрольным белково-солевым раствором, можно условно разделить их на две группы. К первой относятся патологические процессы, связанные с гипоксией. Они наиболее выражены у контрольных крыс (нарушение кровообращения, отек стромы органов, вакуольная дистрофия гепатоцитов, снижение активности окислительно-восстановительных ферментов и т.д.). Описанные изменения, только более тяжелые, возникают у животных при тяжелой незамещенной кровопотере (Петров, Васадзе, 1972; Сковринская, 1978; Зорькина, 1979; Казуева и соавт., 1980; Гудимова и соавт., 1980). Ко второй группе морфологических изменений можно отнести явления кумуляции части захваченного из кровотока ПФОС клетками Купфера и гепатоцитами. Несмотря на довольно большой объем захваченного фторуглерода в печени крыс не было отмечено признаков тяжелого повреждения, некрозов, острого воспаления и склероза, даже несмотря на очень длительное присутствие фторуглеродных частиц в органе (эмульсии ПФТБА и ПМЦП). С течением времени перфторофаги, кумулирующие ПФОС, проходят определенные изменения, в процессе которых общее содержание фторуглерода в органе снижается. ПФОС исчезает из гепатоцитов в течение 14 суток, независимо от вида введенной эмульсии. Явления слабо выраженного коллагенообразования отмечались нами только по периферии агрегатов ПФ в случае применения эмульсий ПФТБА и ПМЦП.

Органы выделения. Сведений об изменениях органов выделения (почек, мочеточников, мочевого пузыря) при введении в организм перфторуглеродных эмульсий в литературе очень немного. Поскольку ни явных морфологических, ни функциональных нарушений в этих органах не обнаруживали, исследователи уделяли им очень мало внимания. В обзоре по перфторорганическим соединениям J.G. Riess and M.Le Blanc (1978) пишут, что почки обычно не были изменены при внутреннем введении различных доз ПФОС эмульсий. В моче также никогда не обнаруживали признаки фторуглерода. В то же время K.Yokoyma et al. (1978) находил ПФОС в небольшом количестве в гомогенатах почечной ткани в течение первых двух недель после инъекции небольших доз фторуглеродных эмульсий разного вида. В отличие от многих органов, функции которых были так хорошо изучены благодаря возможности изучать их *in vitro* в процессе перфузии на стенде, все попытки провести успешную перфузию изолированных почек до сих пор не увенчались успехом.

По нашим данным, у опытных крыс после замещения крови всеми видами фторуглеродных эмульсий, использованных в экспериментах, через 12 часов резко выражено малокровие почечных сосудов. С поверхности органы очень бледные, капсула снимается с повышенной легкостью, на разрезах ткань с бледно-розовым корковым и серым мозговым слоями. Дуговые сосуды, расположенные в юкстамедуллярной зоне слабо или умеренного кровенаполнения. Гистологически: строение почечных клубочков у животных опытной группы полностью сохране-

но, петли капилляров резко малокровны и лишь в некоторых капиллярных петлях единичные эритроциты. Эпителиоциты известных канальцев в этот период времени выглядят несколько набухшими с гомогенной эозинофильной цитоплазмой. Щеточная каемка прослеживается не у всех клеток. При ШИК-реакции интенсивность окрашивания щеточной каемки понижена. В просвете канальцев небольшое количество гомогенных эозинофильных масс. При выявлении суммарных липидов черным суданом «В», они располагаются в цитоплазме клетки в виде мелкодисперсного равномерного осадка. Прямые канальцы также несколько набухают, однако просвет их свободен. Строма почек незначительно отечна, внутриорганные сосуды резко малокровны, лишь в некоторых венулах и капиллярах просматриваются мелкие скопления эритроцитов и гомогенные эозинофильные массы. Явления набухания эпителия извитых канальцев исчезают довольно быстро и уже через трое суток эпителиоциты принимают прежние четкие очертания с хорошо выраженной щеточной каемкой. Кровенаполнение сосудов восстанавливается через 7—10 дней. В более поздние сроки изменения в почках крыс опытной группы связаны с возрастной инволюцией и заключаются в коллагенизации стромы и гиалинозе некоторых почечных клубочков. В целом эти изменения аналогичны возрастным процессам, описанным выше.

В группе контрольных крыс через 12 часов отмечалось резко выраженное малокровие органа. Строение слоев было внешне сохранено. Гистологически: отмечали малокровие клубочковых капилляров; набухание эпителиоцитов извитых канальцев. Щеточная каемка апикального края их не прослеживалась. Ядра некоторых клеток выглядели пузырьковатыми с признаками кариолизиса. В просвете канальцев наблюдали скопления эозинофильных белковых масс. Строма коркового и мозгового слоев выглядела отечной. Сосуды ее резко малокровны. Большая часть капилляров малокровна, в некоторых — массы слипшихся эритроцитов. При выявлении суммарных липидов у контрольных крыс через 12—24 часа после начала эксперимента отмечали появление мелкокапельного осадка красителя в цитоплазме эпителия извитых канальцев.

На более поздних сроках такой картины уже не наблюдалось. Строение почечной паренхимы постепенно нормализовалось к 10—14 суткам. Примерно к этому же времени восстанавливалось кровенаполнение сосудов.

При гистознзимохимическом исследовании в группе опытных крыс отмечается некоторое колебание активности НАД-Н и НАДФ-Н тетразолий редуктаз ($P > 0,05$) с тенденцией к полному восстановлению на 7—10 сутки. Имеется небольшое достоверное снижение активности ДГ с одновременным повышением ЛДГ и КФ. На графике видно, что активность ферментов возвращается к исходному уровню на 14-е сутки эксперимента. Активность ЩФ незначительно снижается ($P > 0,05$) в течение первых суток, возвращаясь впоследствии к норме. В контроль-

ной группе колебания активности НАД-Н тетразолий редуктазы очень незначительны ($P > 0,05$), в то время как НАДФ-Н тетразолий редуктаза снижается ($P \leq 0,05$) уже через 12 часов, возвращаясь к исходному уровню только на 14-е сутки эксперимента. Одновременно с этим достоверно снижается активность СДГ, ЩФ в эпителиоцитах извитых и прямых канальцев с тенденцией к восстановлению на 14-е сутки. Параллельно повышается суммарная активность ЛДГ и КФ, возвращаясь к исходному уровню после 14 суток эксперимента.

Строение мочевыводящих путей и мочевого пузыря на гистологическом уровне не отличается от таковых у интактных крыс. Малокровие сосудов стенки мочеточников и мочевого пузыря, как и вышеописанных органов, обратимо и исчезает к 10—14 дню после кровезамещения. Таким образом, подводя итог результата морфофункционального исследования органов выделительной системы, можно заключить, что все они связаны с проявлением постгипоксических повреждений: легких и обратимых у животных, получивших кровезамещающие дозы фторуглеродных эмульсий, и более тяжелых — при применении для этой цели белково-солевого раствора. Ни у одного опытного животного мы не наблюдали появление в строме характерных перфторофагов. По мере удлинения сроков экспериментального наблюдения за крысами опытной и контрольной групп, мы наблюдали у них одинаковые инволюционные изменения по типу коллагенизации стромы и атрофических изменений паренхимы.

Эндокринная система. Влияние ПФОС на эндокринную систему исследовано недостаточно. Р.Геер (1975), изучая влияние небольших доз фторуглеродной эмульсии F1-43, в основе своей содержащей ПФТБА, на уровень различных гормонов в сыворотке крови, пишет, что признаков нарушения эндокринной функции не отмечено. Нами (Голубев, Васильев, 1983) при гистологическом и гистохимическом исследовании некоторых желез внутренней секреции отмечена обратимая секреторная недостаточность щитовидной железы в первые трое суток после кровезамещения эмульсиями на основе ПФТБА, ПФД/ПМЦП. Выявлена временная активация окислительно-восстановительных и гидролитических ферментов в клетках коркового слоя надпочечников. Среди клеток коры надпочечников были обнаружены характерные "пенистые" клетки. Аналогичные клетки были найдены и среди клеток островкового аппарата поджелудочной железы. Макрофаги, содержащие частицы фторуглерода в надпочечниках и поджелудочной железе, были обнаружены и другими морфологами (Miller et al., 1976; Riess and Le Blanc, 1978). Небольшое количество ПФОС в гомогенатах надпочечников и поджелудочной железы было обнаружено Н.Окамото et al., (1975), Yokoyama et al., (1977). Содержание фторуглерода в этих тканях довольно быстро снижалось.

Мы изучали морфологическую структуру таких органов эндокринной системы, как щитовидную и паращитовидную железы, надпочечники и поджелудочную железу. При исследовании щитовидной

железы после кровезамещения эмульсиями ПФОС в период от 12 часов до 7 — 10 суток наблюдалось резко выраженное малокровие сосудов всех видов. Капилляры соединительно-тканых перегородок между фолликулами выглядели спавшимися, а крупные артерии и вены содержали единичные эритроциты и лейкоциты, адгезированные на эндотелиальной выстилке сосудов. У всех животных отмечалось обратимое снижение секреторной функции железы, которое заключалось в загустевании коллоида и уплощении формы фолликулярного эпителия. Нормализация строения эпителия отмечалась через 5—7 суток от начала эксперимента. В строме железы нами не были выявлены клетки, индифицированные как ПФ. Морфологические изменения, зафиксированные у крыс после переливания контрольного белково-солевого раствора, были аналогичны опытной группе и заключались в малокровии органа и снижении секреции коллоида.

Изменения со стороны паращитовидных желез у животных опытной и контрольной групп были сходны и заключались в резко выраженном малокровии и уменьшении количества функционирующих капилляров. Наблюдался умеренно выраженный отек стромы. Каких-либо структурных изменений со стороны паренхиматозных клеток железы, равно как появления ПФ среди элементов стромы, мы не наблюдали.

Надпочечники крыс опытной группы, как и другие описанные нами органы, через 12 часов после начала эксперимента выглядели очень малокровными. Только в просвете крупных вен мозгового слоя наблюдались небольшие скопления эритроцитов. Среди паренхиматозных клеток сетчатой и пучковой зон коры мы постоянно отмечали вкрапления клеток с более темной базофильной цитоплазмой, что расценивалось как проявление очаговой делипоидизации. Описанные изменения исчезали через 1 сутки после начала эксперимента. Кровенаполнение сосудов постепенно восстанавливалось на 7—10 день. Почти у всех крыс опытной группы, независимо от примененного состава эмульсии ПФОС, в строме коры среди клеток сетчатого и пучкового слоев на 5—10 день появлялись одиночные крупные клетки с бесцветной мелковакуолизированной цитоплазмой и эксцентрично расположенным небольшим ядром.

В дальнейшем, среди элементов коры надпочечников у крыс опытной группы, подобно печени, наблюдали образование узелковых агрегатов, состоящих из 4—6 ПФ с бледно-эозинофильной цитоплазмой. Количество их постепенно уменьшалось, причем наиболее быстро в подгруппе животных, получивших эмульсию на основе ПФД/ПМЦП. У этих крыс через 6—8 мес. после экспериментальной кровопотери ПФ в органах не определялись. У крыс других подгрупп (ПФТБА, ПМЦП), напротив, мы наблюдали в эти сроки достаточно большое количество клеточных агрегатов.

В надпочечниках контрольных крыс за первые трое суток эксперимента также отмечали резко выраженное малокровие сосудов всех

калибров, которое затем постепенно исчезает. Кроме того, в первые 12 час. среди клеток коры отмечается большое количество темно-базофильных клеток, расположенных небольшими группами как проявление крупноочаговой делипоидизации. Количество этих клеток быстро исчезает и на 2-3 сутки эксперимента структура надпочечников не отличается от таковой у интактных крыс.

Поджелудочная железа, по данным газохроматографического исследования (Okamoto et al., 1975; Yokoуama, 1978), у животных разных видов содержит кумулированный фторуглерод в небольшом количестве. Содержание его при этом быстро снижается, и уже через 2—3 недели исследователи могли обнаруживать только следы ПФОС. Гистологически нами (А.М. Голубев и соавт., 1983) найдены характерные ПФ среди клеток островкового аппарата железы, одиночные немногочисленные крупновакуолизированные ПФ, исчезающие через несколько дней после кровезамещения. По нашим данным, изменения в поджелудочной железе крыс опытной и контрольной групп в первые 5—7 суток эксперимента сводятся к резко выраженному малокровию и отеку стромы, которые в дальнейшем исчезают. У некоторых крыс среди клеток эндокринных островков Лангерганса наблюдались сравнительно небольшие крупновакуолизированные ПФ, которые появлялись на вторые сутки и довольно быстро исчезали, не скапливаясь в клеточные агрегаты, как в печени или ткани легких. Через 10—14 дней ни у одного животного мы не отмечали клеток, напоминающих макрофаги, содержащие частицы ПФОС.

При гистологическом исследовании половых желез (семенников и придатков) животных опытной и контрольной групп мы наблюдали универсальные изменения, которые заключались в резко выраженном общем малокровии сосудов и снижении количества зрелых форм сперматозоидов в просвете семенных канальцев. У контрольных крыс на 1—3 сутки в просвете канальцев сперматозоиды отсутствовали полностью, отмечался выраженный отек стромы, явления стаза и сладжа эритроцитов в сосудах микроциркуляторного русла. Впоследствии у животных постепенно восстанавливалось кровообращение и сперматогенез и уже через 7—10 суток после кровезамещения семенники как опытных, так и контрольных животных не отличались от интактных.

Обсуждая полученные результаты исследования органов желез внутренней секреции крыс при экспериментальном кровезамещении фторуглеродными эмульсиями и белково-солевым раствором, можно отметить, что большая часть морфологических симптомов (снижение секреторной функции щитовидной железы, сперматогенеза в семенниках, делипоидизация в коре надпочечников и т.д.) соответствует неспецифическим проявлениям общего адаптационного синдрома (О.К. Хмельницкий, 1972), возникшего в ответ на массивную острую кровопотерю и анемическую гипоксию. Появление ПФ среди элементов коркового слоя надпочечников и эндокринных островков поджелудочной железы свидетельствует о вовлечении в процесс кумуляции частиц ПФОС тканевых макрофагов этих органов.

Иммунная система. Иммунная система представлена тимусом, костным мозгом, селезенкой, лимфатическими узлами, скоплениями лимфоидной ткани типа пейеровых бляшек и солитарных фолликулов кишечника, а также рециркулирующими в крови лимфоцитами. Основная цель ее — специфическая блокада, нейтрализация, разрушение или элиминация тех субстанций, которые стимулировали иммунный ответ. Основной функцией системы является распознавание генетически чужеродных субстанций и специфическое реагирование на них (Петров, 1982). Вполне понятен поэтому интерес, проявляемый различными исследователями при изучении органов системы иммуногенеза. Уже первые авторы, опубликовавшие результаты внутривенного введения фторуглеродной эмульсии FC-43 животным разных видов, отмечали накопление ПФОС макрофагами селезенки, лимфатических узлов, тимуса, костного мозга (Sloviter, 1970; Clark et al., 1974; Riess and Le Blanc, 1978). Впоследствии увеличение размеров лимфатических узлов и селезенки с накоплением в этих органах ПФОС при введении самых разных фторуглеродных эмульсий отмечается многими авторами (Седова и соавт., 1979; Хохлова и соавт., 1983; Голубев и соавт., 1983; Moore, 1978, Miller et al., 1979; Clark et al., 1975). Подробную гистологическую картину селезенки при многократном дробном введении малых доз фторуглеродной эмульсии FC-43 дали M.L. Miller et al., (1976). Авторы указывают, что многие эмульсии фторуглеродов как правило, не токсичны и вызывают изменения в печени и селезенке лишь при неоднократном введении и задержке в элементах системы мононуклеарных фагоцитов (СМФ). В условиях эксперимента белая пульпа в селезенке уменьшалась по сравнению с красной и маргинальные зоны были заполнены макрофагами с частицами ПФОС. Авторы пишут, что в этих условиях клетки, содержащие частицы ПФОС, занимают до 36% органа. Они были обнаружены как в макрофагах, так и в лимфоцитах и плазмочитах. Среди лимфоцитов отмечалась картина трансформации, увеличивалось количество митозов. Трансформированные лимфоциты превращались затем в плазматические клетки.

Наши исследования показали, что тимус у крыс опытной группы с поверхности не изменен. Макроскопически на разрезах сохраняется его крупнодольчатое строение. Гистологически: структура органа с выделением четко очерченных коркового и мозгового слоев сохранена. В мозговом слое отмечались единичные небольшие, слоистые тимические тельца. Обращало на себя внимание резко выраженное малокровие сосудов типа мелких артерий и вен в мозговом слое, а также вен на границе коркового и мозгового слоев. После кровезамещения эмульсиями ПФОС через 24 часа среди тимоцитов коркового слоя отмечено появление рассеянных немногочисленных крупных макрофагов с бесцветной крупновакуолизированной цитоплазмой. Гистохимический тест выявил присутствие в цитоплазматических вакуолях этих клеток наличие инертного вещества. В мозговом слое такие клетки не обнаруживались. В последующие сутки экспериментального наблюдения

кровенеполнение сосудов восстанавливалось и через 14 суток не отличалось от интактных животных. Количество ПФ несколько увеличивалось в первые 5 суток и через 10—14 суток кроме одиночных макрофагов, содержащих частицы ПФОС, мы наблюдали единичные агрегаты из этих клеток, локализованных вдоль соединительнотканной капсулы долек железы. Через 1—1,5 месяца эксперимента ПФ в тимусе не обнаруживались. На более поздних сроках наблюдения в тимусе опытных животных происходили те же изменения, что и у интактных крыс, которые были связаны с возрастной инволюцией органа. У крыс контрольной группы в первые сутки после экспериментального кровезамещения отмечали выраженное малокровие сосудов, отек и разрыхление стромы. В целом, строение коркового и мозгового слоев было сохранено. Кровенеполнение сосудов постепенно восстанавливалось через 14 суток после начала эксперимента.

Селезенка у опытных крыс после применения всех используемых фторуглеродных эмульсий через 12 часов наблюдения макроскопически выглядела бледно-розовой с матовым оттенком. На разрезах рисунок строения красной и белой пульпы выражен хорошо. Масса органа, подобно массе печени, у всех животных достоверно увеличивалась. Из представленных графиков видно, что возрастание массы органа происходило быстрее у крыс, которым производили кровезамещение эмульсиями на основе ПФД/ПФТБА и ПФД/ПМЦП. У них уже через 12 часов весовые индексы органа достигали значительно более высоких цифр, чем у крыс двух других подгрупп (эмульсии ПФТБА и ПМЦП), где масса селезенки увеличивалась значительно лишь через 1 сутки эксперимента. Максимальное увеличение веса селезенки у крыс при введении всех эмульсий наблюдали на 3—7 сутки эксперимента. Наибольшее максимальное значение весовых индексов селезенки отмечали в подгруппе, получившей эмульсию на основе ПФД/ПФТБА, наименьшее — ПФТБА. Достигнув максимума, вес органа начинал постепенно снижаться. При этом наиболее плавное снижение мы отмечали в подгруппе животных, получивших эмульсию ПФТБА, а наиболее резкое — ПФД/ПФТБА. В последнем случае масса селезенки возвращалась к исходному уровню уже через 14 суток. У животных всех опытных подгрупп за исключением крыс, получивших эмульсию ПМЦП, значения весовых индексов возвращаются к уровню возрастной нормы в течение 1-го месяца. Только у крыс, получивших выше-названную эмульсию ПМЦП, вес органа нормализовался только к третьему месяцу. В группе контрольных крыс после переливания белково-солевого раствора мы также отмечали достоверное увеличение массы селезенки, однако оно было значительно более кратковременным и небольшим.

Гистологически: селезенка опытных крыс отличалась резко выраженным малокровием сосудов всех калибров уже через 12 часов от начала эксперимента. Строение белой пульпы и красной пульпы, в целом, сохранено, хотя наблюдается некоторое расширение центров

размножения лимфатических фолликулов (что расценивается нами как гиперплазия «В»-зависимых зон), где наблюдается большое количество митозов и накапливаются крупные клетки типа плазмобластов и плазмочитов. В синусах красной пульпы резко увеличивается количество свободных клеток, среди которых много макрофагов, эозинофилов, нейтрофильных лейкоцитов и есть отдельные крупные вакуолизированные клетки с бесцветной цитоплазмой и большим ядром неправильной формы. Через 24 часа после начала эксперимента наряду с выраженным малокровием сосудов отмечается выраженная гиперплазия лимфоцитов «В»-зависимых зон фолликулов. Синусы селезенки к этому времени заполнены очень большим количеством типичных ПФ, рассеянных по типу «звездного неба». Отдельные такие же клетки встречаются и внутри фолликулов белой пульпы. Внешний вид макрофагов, захвативших частицы ПФОС, несколько изменяется по сравнению с макрофагами, где продолжительность эксперимента 12 часов: ядра клеток выглядят более темными, форма их чаще уплощена, а сами ядра как бы сдвинуты к периферии. Цитоплазма их содержит 1—2 гигантские вакуоли. Вокруг ПФ уже с самого начала экспериментального наблюдения отмечается появление лимфоидно-макрофагальных элементов, располагающихся в виде цепочек. Кроме отмеченных изменений со стороны красной пульпы, обращает на себя внимание резко выраженная гиперплазия клеток островков экстрамедуллярного кроветворения: элементов миелоидного ряда и мегакариоцитов. Картину «звездного неба» с рассеянным расположением ПФ мы наблюдали у всех животных опытной группы в течение трех суток независимо от вида введенной эмульсии ПФОС. Впоследствии у животных происходит процесс формирования клеточных агрегатов из ПФ уже с мелковакуолизированной цитоплазмой, который у крыс, получивших эмульсии на основе ПФД/ПФТБА и ПФД/ПМЦП, завершается на 7—10 сутки, а у крыс, которым были введены эмульсии на основе ПФТБА и ПМЦП, несколько позже — на 14-е сутки эксперимента. Клеточные агрегаты, как и одиночные, ПФ, у всех опытных животных окружены более или менее густым инфильтратом из разнообразных клеток, включающих макрофаги, лимфоциты, эозинофильные и нейтрофильные лейкоциты, отдельные плазмочиты, мегакариоциты. Аналогичные скопления макрофагов, содержащих частицы фторуглерода, называемые «гистиоцитарными кластерами», описаны в публикациях M.L. Miller et al. (1976, 1978). Полиморфно-клеточные инфильтраты вокруг кластеров подробно описали F.Pfannkuchnet al., (1983).

В период образования агрегатов из ПФ, кумулирующих ПФОС, постепенно меняется структура красной и белой пульпы: восстанавливается кровенаполнение сосудов, лимфатические фолликулы и периваскулярные лимфоидные муфты принимают вид, аналогичный интактным животным; в синусах уменьшается общее количество клеточных элементов. На более поздних сроках экспериментального наблюдения изменения со стороны структуры селезенки незначительны и

сводятся к процессам возрастной инволюции (общей коллагенизации стромы и атрофии лимфоидных скоплений белой пульпы), свойственным и интактным животным. В то же время количество агрегатов ПФ постепенно уменьшается и протекает параллельно с гранулематозом, подробно описанны ниже в главе IV.

У крыс контрольной группы, подобно опытным, в первые 3—5 суток эксперимента отмечалось резко выраженное малокровие сосудов всех калибров, которое постепенно исчезало на 10—14 день. Со стороны белой пульпы наблюдалась картина умеренно выраженной гиперплазии лимфоцитов в «в»-зависимых зонах, а также пролиферация островков экстрамедуллярного кроветворения. Однако вакуолизированных макрофагов, подобных ПФ, ни у одного животного мы не наблюдали. Описанные изменения со стороны красной и белой пульпы исчезали к 10—14 дню эксперимента. В дальнейшем все изменения, происходящие в органе, свойственны для возрастной инволюции.

При исследовании лимфатических узлов у опытных животных уже через 1—2 суток, прошедших с момента кровезамещения фторуглеродными эмульсиями, отмечалось увеличение размеров лимфатических узлов шеи, бифуркации трахеи переднего средостения. Через 7 суток группы лимфоузлов составляли небольшие конгломераты по 3—4 узла, спаянные между собой. На разрезах они имели гомогенную структуру серо-розового цвета. Гистологически: у всех крыс при сроке от 12 часов до 7 суток отмечалось резко выраженное малокровие, постепенно исчезающее по мере удлинения срока экспериментального наблюдения. В течение первых 3—5 суток отмечались признаки гиперплазии лимфатических фолликулов коры с расширением их зародышевых центров. Изменений со стороны лимфоцитов «Т»-зависимых зон не наблюдалось. Уже через 12 часов после кровезамещения фторуглеродными эмульсиями в синусах мозгового вещества узлов наблюдалась выраженная гиперплазия макрофагальных элементов. Клетки имели размеры крупнее обычного, цитоплазма их была светлая и очень мелко вакуолизированная. Через 2—3 суток среди них появляются типичные ПФ с бесцветной крупновакуолизированной цитоплазмой, содержащие частицы ПФОС. В первые 5—7 суток (независимо от вида применяемого в эмульсии ПФОС) ПФ располагались одиночно, концентрируясь ближе к воротам органа, однако впоследствии составляли точно такие же клеточные агрегаты как и в селезенке. По периферии агрегатов мы постоянно отмечали полиморфноклеточную инфильтрацию. С течением времени количество агрегатов ПФ постепенно уменьшалось: более быстро у крыс, получивших эмульсии на основе ПФД/ПМЦП и ПФД/ПФТБА. При введении ПФД/ПМЦП ПФ не определялись в лимфатических узлах через 8 месяцев. Значительно медленнее уменьшалось количество агрегатов ПФ у животных других опытных подгрупп. Как и в селезенке мы наблюдаем формирование гранулем на месте агрегатов ПФ у всех животных, получивших дозы фторуглеродных эмульсий.

У крыс контрольной группы, так же как и опытной, отмечалось увеличение размеров лимфатических узлов. Гистологически: наряду с малокровием, были выражены признаки гиперплазии лимфоидной ткани коркового слоя, которые исчезали на 5-й день эксперимента. Как и в других органах, мы не встретили в лимфоузлах макрофагов, напоминающие ПФ.

Межтканевые скопления лимфоидной ткани, наблюдаемые нами в стенке кишечника, перибронхиальных прослойках соединительной ткани, небных миндалинах как опытных, так и контрольных животных практически не изменялись во все сроки эксперимента. Мы не наблюдали среди элементов этих образований появление макрофагов с пенистой цитоплазмой.

Подводя итог результатам, полученным при изучении органов иммуногенеза, можно обратить внимание, что основные изменения в них связаны с вовлечением в активный процесс кумуляции инородной субстанции (ПФОС) элементами СМФ. Изменения собственно лимфоидной ткани связаны с гиперплазией и трансформацией «В»-зависимых зон селезенки и лимфатических узлов, причем они возникают как у опытных, так и у контрольных крыс. Вполне возможно, что данные изменения возникают в ответ на введение альбумина, входящего в качестве онкотического агента в состав эмульсии и контрольного раствора. И все же вопрос возможного вовлечения иммунной системы при введении эмульсий ПФОС пока остается открытым. Для решения его необходимо провести ряд специальных иммунологических и иммуноморфологических исследований, чтобы окончательно решить, какова роль системы органов иммуногенеза при введении в организм фторуглеродов.

Заключение

Таким образом, все эмульсии ПФОС, используемые в наших экспериментах как газопереносящие агенты активно защищали ткани от циркуляторной гипоксии, связанной с массивной кровопотерей. Вторых, значительных структурно-метаболических изменений: дистрофических — в сочетании с угнетением активности ферментов тканевого дыхания у животных опытной группы не отмечалось. В третьих, длительность процесса восстановления структуры тканей у крыс опытной группы была значительно меньше. Специфическим действием всех фторуглеродных эмульсий на организм экспериментальных животных является временная кумуляция частиц ПФОС элементами системы мононуклеарных фагоцитов и паренхиматозными клетками печени. С макрофагами, задерживающими частицы ПФОС по мере удлинения срока эксперимента, происходит своеобразная эволюция, связанная с образованием клеточных скоплений-агрегатов. В дальнейшем присоединяется процесс гранулематоза, а количество агрегатов, состоящих из перфторофагов, уменьшается.

Глава IV. Кровь и костный мозг в условиях массивной замены крови фторуглеродными эмульсиями

Несмотря на интенсивное изучение ПФОС в качестве кровезаменителей, имеется небольшое количество исследований, посвященных изучению влияния эмульсии перфторуглеродов на клеточный состав крови и костного мозга. Этот пробел особенно заметен в последние годы, когда исследователи вплотную подошли к разрешению проблемы клинического применения эмульсий ПФОС.

Так, Ф.М. Гусенова с соавт. (1979) изучала кроветворение у крыс линии Вистар после обменного замещения 60% крови эмульсией ПФТБА в дозе 10 мл эмульсии на 100 г. массы тела. Число эритроцитов при этом снижалось до 800000 ± 5400 . К 6-м суткам количество эритроцитов составило 4,2 млн. в 1 мм^3 , обнаруживались незрелые клетки эритропоэза ($4,21 \pm 0,75\%$), представленные полихроматофильными эритроцитами и нормобластами, лейкоцитов насчитывалось 20000 ± 1800 (в контроле — 9000 ± 680) за счет лимфоцитов, а также юных, палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов. К 13-м суткам лейкоцитарный состав периферической крови нормализовался.

Динамике изменении количественного состава эритроцитов и лейкоцитов периферической крови крыс после переливания «Флюозола-43» (на основе эмульсии ПФТБА) посвящена работа J. Lucali соавт. (1979). Переливание осуществлялось до гематокрита 6%. В качестве контроля использовались крысы, которым переливали крысиную плазму до гематокрита 15%. Показано, что в первые часы после переливания «Флюозола-43» количество эритроцитов в 1 мм^3 снижалось до 980000 ± 14000 , а затем к концу недели достигало исходного уровня. Число лейкоцитов в 1 мм^3 достигало доперфузионного уровня через 6 ч и продолжало увеличиваться последующие 7 дней.

В работе H. Sloviter с соавт. (1970) рассмотрено влияние FX-80 на тромбоциты мыши, крысы и кролика. Показано, что после внутривенного введения этого препарата у всех перечисленных животных значительно снижалось число тромбоцитов. Аналогичное явление наблюдалось у мышей и после внутривенного введения FC-43. Авторы пришли к заключению, что частицы фторсоединения вызывают агглютинацию тромбоцитов и образование тромбов.

Изучалось влияние FC-43 на клетки периферической крови собак *in vitro* и *in vivo* (U. Nose et al., 1970): опыт — смесь крови и FC-43 помещали в тефлоновую трубку на 24 ч; контроль — в тефлоновой трубке находилась только кровь (в течение 24 ч). Различия числа лейкоцитов и тромбоцитов в опытной и контрольной группах в течение 4, 8 и 24 ч отсутствовали. При внутривенном введении через 5—6 ч

развивался лейкоцитоз, число эритроцитов в 1 мм не изменялось. Биопсия костного мозга выявила «Наличие нормальных клеток и 2-ю степень нормобластной эритроидной гиперплазии». При внутриаортальном введении FC-43 содержание лейкоцитов (в тыс.) составляло до введения — 7,5; через 3 ч после введения — 29,0; через 6 ч — 3,2; содержание эритроцитов (в млн), до введения — 6,0; через 3 ч после введения — 8,0; через 6 ч — 9,0. Содержание тромбоцитов (в тыс.) до введения — 300,0; через 3 ч — 180,0; через 6 ч — 210,0.

По данным R. Colman с соавт. (1980) FC-80 повреждает мембрану тромбоцитов. Этим, по мнению авторов, объясняется тромбоцитопения у животных после введения им ПФОС. Замечено, что внутривенное введение ПФОС, частицы которого покрыты липидной оболочкой, не вызывает тромбоцитопению.

К. Уокоуата с соавт. (1978) изучали распределение и выведение эмульсии ПФОС, состоящей из 7 частей ПФД и 3 частей ПФТПА, у собак, крыс и обезьян. Распределение ПФОС в костном мозге выглядит следующим образом: через 1 месяц эмульсии ПФД (в мг/г веса ткани) содержалось — 4,05; эмульсии — ПФТПА — 4,92. Через 2 месяца: ПФД — следы, ПФТПА — 1,33; через 6 месяцев содержания ПФОС не определялось.

Влияние эмульсий ПФТБА и ПФД на периферическую кровь крыс посвящена работа Л.А. Седовой (1982). Проведено 3 серии опытов: в двух сериях крысам внутривенно вводили эмульсии ПФТБА (1 серия) и ПФД (II серия) в дозе 5 г ПФОС на 1 кг массы тела. Животным III серии была введена эмульсия ПФД в дозе 10 г/кг массы тела. После введения эмульсий ПФТБА и ПФД количество эритроцитов в крови у крыс существенно не отличалось от исходных значений, количество лейкоцитов в 1—4 сутки повышалось по сравнению с исходным уровнем в 1,5—2,0 раза. При анализе лейкограмм установлено, что через 1 сутки после введения эмульсий повышалось процентное содержание нейтрофилов и несколько снижался процент лимфоцитов. Лейкоцитарная реакция была однотипна для обеих эмульсий. Обращается внимание на появление вакуолий различной величины в цитоплазме нейтрофилов, а иногда в моноцитах и лимфоцитах, причем число нейтрофилов с вакуолизированной цитоплазмой через 1 сутки после введения эмульсий ПФОС равнялось их исходному содержанию. Возвращение лейкограммы к исходному уровню происходило к 15-м суткам после введения эмульсий ПФОС.

Наши исследования проводились на крысах и кроликах, выращенных и содержащихся в виварии Института биофизики АН СССР (г.Пушино). Поскольку гематологические показатели этих животных отличаются от данных, приводимых другими авторами, были выведены средние показатели кроветворения здоровых крыс и кроликов (табл. 9).

Таблица 9

Показатели клеточного состава крови и костного мозга крыс и кроликов

Гематологические показатели крыс

Клеточный состав периферической крови:

Эритроциты ($\times 10^6$ /мкл)	—	5,28 \pm 0,36
Лейкоциты ($\times 10^6$ /мкл)	—	5,35 \pm 0,64
Тромбоциты ($\times 10^6$ /мкл)	—	305,4 \pm 30,6
Миелоциты (%)	—	—
Метамиелоциты (%)	—	—
Палочкоядерные нейтрофилы (%)	—	6,40 \pm 0,30
Сегментоядерные нейтрофилы (%)	—	14,83 \pm 1,23
Лимфоциты (%)	—	78,16 \pm 2,74
Моноциты (%)	—	0,25 \pm 0,10
Эозинофилы (%)	—	—
Базофилы (%)	—	—

Миелограмма (%):

Недифференцированные бласты	—	2,33 \pm 0,34
Промиелоциты нейтрофильные	—	0,72 \pm 0,18
Миелоциты нейтрофильные	—	8,94 \pm 0,36
Метамиелоциты нейтрофильные	—	6,83 \pm 0,62
Палочкоядерные нейтрофилы	—	8,18 \pm 0,70
Сегментоядерные нейтрофилы	—	28,45 \pm 3,07
Эритробласты	—	3,64 \pm 0,48
Нормобласты	—	22,76 \pm 1,38
Лимфоциты	—	16,50 \pm 2,07
Моноциты	—	0,41 \pm 0,15
Эозинофилы	—	1,00 \pm 0,24
Базофилы	—	—

Цитохимические показатели (СЦК) палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов периферической крови и костного мозга крыс:

**§ IV.2. Динамика изменений периферической крови крыс
после замещения 60% массы крови
эмульсиями ПФОС**

Через 12 ч после введения эмульсии ПФД/ПМЦП число эритроцитов в 1 мкл крови снизилось в 4,2 раза, в последующие сроки отмечалось нарастание их числа с нормализацией к 5-м суткам. Лейкоцитоз удерживался в течение первых 24 ч (число лейкоцитов повышалось в 1,5—2,0 раза), в последующие дни достоверные изменения в содержании лейкоцитов отсутствовали. Со стороны тромбоцитов отмечались следующие изменения: через 12 ч после опыта — незначительное снижение их числа, к 3—5 суткам — повышение соответственно в 2,5 — 3,5 раза по сравнению с исходным уровнем; в последующие дни (и до конца месяца) содержание тромбоцитов снижалось и достигало нормы (табл. 19).

Таблица 19

Клеточный состав периферической крови крыс
в различные сроки после замещения 60% массы крови
эмульсией ПФД/ПМЦП ($M \pm m$)

Срок после замещения	Эритроциты ($\times 10^6$ /мкл)	Лейкоциты ($\times 10^3$ /мкл)	Тромбоциты ($\times 10^3$ /мкл)
Контроль — до замещения	$5,28 \pm 0,36$	$5,35 \pm 0,64$	$305,4 \pm 30,6$
12 часов	$1,25 \pm 0,58^*$	$13,18 \pm 2,24^*$	$200,0 \pm 25,1^*$
1 сутки	$2,92 \pm 0,54^*$	$8,85 \pm 0,81^*$	$272,5 \pm 57,7$
3 суток	$3,12 \pm 0,18^*$	$6,06 \pm 0,44$	$468,0 \pm 17,0^*$
5 суток	$4,74 \pm 0,45$	$7,20 \pm 0,87$	$746,2 \pm 42,6^*$
7 суток	$4,58 \pm 0,20$	$5,80 \pm 0,13$	$400,0 \pm 26,3$
10 суток	$5,35 \pm 0,24$	$6,12 \pm 0,82$	$470,8 \pm 66,3$
14 суток	$6,04 \pm 0,15$	$5,75 \pm 0,93$	$510,6 \pm 59,7^*$
1 месяц	$5,83 \pm 0,75$	$5,58 \pm 0,47$	$351,4 \pm 38,6$

Примечание: * Достоверно по отношению к контролю ($P \leq 0,05$).

Таблица 20

Лейкограмма периферической крови крыс в различные сроки после замещения 60% массы крови эмульсией ПФД/ПМЦП (М±m)

Срок после замещения	Нейтрофилы, %				Лимфоциты, %	Моноциты, %	Эозинофилы, %	Вакуолизированные клетки, %	Базофилы, %
	миелоциты	мета-миелоциты	палочкоядерные	сегментоядерные					
Контроль до замещения	-	-	6,4±0,3	14,8±1,2	78,1±2,7	0,2±0,1	-	-	-
12 часов	-	-	7,4±1,1	16,7±1,3	69,2±1,1*	1,1±0,1*	2,1±0,4*	-	3,2±0,5*
1 сутки	0,6±0,1*	0,3±0,1*	4,0±0,8*	25,2±3,7*	63,0±7,6*	2,5±0,4*	1,6±0,2*	-	2,8±0,4*
3 суток	-	-	5,6±0,6	10,8±1,3	75,0±6,9	0,3±0,1	0,7±0,1*	-	7,3±1,4*
5 суток	-	-	4,2±0,5*	10,5±0,8*	82,8±4,1	1,0±0,2*	-	-	1,6±0,3*
7 суток	-	-	5,3±0,9	8,6±0,8*	80,6±7,3	3,4±0,5*	1,0±0,2*	-	1,2±0,2*
10 суток	-	-	6,5±0,9	9,7±1,0*	80,4±5,3	2,2±0,5*	0,4±0,1*	-	-
14 суток	-	-	5,4±0,8	11,0±2,6	82,6±7,0	0,8±0,2	0,2±0,1	-	-
1 месяц	-	-	5,0±1,0	13,8±1,7	80,2±6,4	-	0,5±0,2	-	-

Примечание: * Достоверно по отношению к контролю — $P \leq 0,05$.

Через 24 ч после кровезамещения в лейкоцитарной формуле отмечался сдвиг влево до миелоцитов, в последующие дни молодые формы белого ряда не обнаруживались. Изменения числа палочкоядерных нейтрофилов находились в пределах физиологических колебаний. Как и в предыдущих опытах, лейкограмма изменялась в сторону лимфопении (первые 24 ч) и сегментоядерного нейтрофилеза (к концу 1-х суток), сменявшегося в последующие 9 дней нейтропенией. До 10-х суток процентное содержание моноцитов превышало исходное в 4—10 раз, вакуолизированные нейтрофилы и моноциты (1,5—7%) обнаруживались в течение первых 7 суток. К 14-м суткам процентное соотношение клеточных элементов периферической крови не отличалось от исходного (табл. 20).

Таким образом, замещение 60% массы крови эмульсиями ПФОС сопровождалось анемией (3—10 сутки), лейкоцитозом (1—7 сутки), тромбоцитопенией (1—2 сутки), сменявшейся затем тромбоцитозом. В лейкограмме отмечался ядерный сдвиг влево (1—3 сутки), нейтрофилез за счет сегментоядерных форм, лимфопения и моноцитоз. В первые 5—7 суток в периферической крови обнаруживались нейтрофилы и моноциты с вакуолизированной цитоплазмой. Нормализация клеточного состава периферической крови крыс наблюдалась к 10—14 суткам после кровезамещения.

С 12 ч и до 14 суток после кровезамещения эмульсией ПФД/ПМЦП отмечено повышенное содержание недифференцированных бластов (в 1,5—2,5 раза), нормализация наступала к концу месяца. Содержание промиелоцитов оставалось без выраженных изменений; процент миелоцитов через 12 ч снизился до 60 от исходного, затем с конца 1-х и до 10-х суток оставался в пределах нормы, к 14 суткам составил 130% от исходного и к концу месяца вновь вернулся к норме. Содержание метамиелоцитов с 1 по 3 сутки повышалось на 35—60%, а начиная с 5 и до конца 30 суток было на уровне исходного.

Нейтропения развивалась с первых часов после опыта: через 12 ч процент палочкоядерных нейтрофилов снизился до 35 от исходного, сегментоядерных — до 17. В последующие дни содержание палочкоядерных форм не отличалось от доперфузионного, сегментоядерных — оставалось сниженным до 14 суток и нормализовалось к 30-м.

Содержание эритробластов на протяжении 30 суток достоверно не изменялось. Нормобластоз отмечался лишь с 7-х по 10-е сутки, в остальные дни процент нормобластов оставался без выраженных изменений.

В течение первых 3 суток в костном мозге отмечались лимфо и моноцитоз с максимальными значениями через 12 ч после кровезамещения. В это время содержание лимфоцитов составило 200%, моноцитов — 975%. В последующие дни содержание этих клеток постепенно снижалось и к 5 суткам нормализовалось. В сроки 12 ч и 7 суток после опыта наблюдалась эозинофилия, в остальные дни содержание эозинофилов было в пределах нормы. Гистологически в костном мозге в первые 7 суток преобладают клетки лимфоидного ряда, обнаруживаются одиночные макрофаги с вакуолизированной цитоплазмой. В сроки 14 суток и позднее содержание лимфоидных клеток несколько снижается, а клеток миелоидного ряда на различных этапах дифференцировки — возрастает. Вакуолизированные макрофаги образуют комплексы, вместе с тем наблюдаются и единичные клетки. Вокруг отдельных макрофагов с вакуолизированной цитоплазмой обнаруживаются скопления лимфоидных клеток. Наибольшее количество вакуолизированных макрофагов наблюдалось в первые 5 суток, позднее (до конца месяца) их процентное содержание уменьшалось, но эти клетки продолжали обнаруживаться в костном мозге в течение 1 года (табл. 24).

Итак, изменения клеточного состава костного мозга крыс после замещения 60% массы крови эмульсиями ПФОС характеризовались некоторым повышением содержания недифференцированных бластов (кроме эмульсии ПФТБА), нейтропений за счет палочкоядерных и сегментоядерных форм (первые 10—14 суток), нормобластозом, лимфоцитозом (первые 3 суток), моноцитозом. С первых часов после опыта в костном мозге появлялись вакуолизированные макрофаги, сохраняющиеся длительное время.

§ IV.4. Цитохимические показатели зрелых нейтрофилов в крови и костного мозга крыс при 60% кровезамещении фторуглеродными эмульсиями

Результаты цитохимического исследования нейтрофилов (Седова, 1982) выявили наиболее выраженные изменения через одни сутки после введения эмульсий ПФОС: при выявлении липидов в 1, 5 раза снижался процент положительных нейтрофилов и в два раза — средний цитохимический коэффициент (СЦК). Активность кислой фосфатазы была высокой — 1,4—1,3 при норме 0,85. Содержание полисахаридов почти не изменялось.

Нормализация цитохимических показателей к первоначальному уровню происходило к 15-м суткам после введения эмульсий ПФОС.

В наших исследованиях были получены следующие данные

Нейтрофилы периферической крови: обменное переливание эмульсии приводило к повышению содержания гликогена через 12 ч в 1,6 раза, через одни сутки — в 1,3 раза. Нормализация происходила к пятым суткам. Активность НЭ с первых часов после опыта повышалась к концу первых суток на 16—22% от исходной, в последующие дни возвращалась к первоначальной. В первые сутки отмечено снижение активности ЩФ и пероксидазы: через 12 ч соответственно в 1,5 раза и 1,4; через 24 ч — в 1,2 и 1,3 раза. В последующие сроки наблюдения достоверных изменений активности этих ферментов не выявлено.

Нейтрофилы костного мозга: содержание гликогена возрастало через 12 ч в 1,25 раза, через одни сутки — в 1,6 раза или не изменялось. На 3-и сутки отмечалось снижение СЦК до исходного, оставшегося на этом уровне до конца месяца. Колебания (повышенной активности НЭ не выходили за пределы достоверных изменений. В течение первых 5 суток после опыта активность ЩФ была ниже исходной с минимальным значением через 24 ч, составившим 69% от первоначальной. Нормализация ферментативной активности наступала к концу 7-х суток. Активность пероксидазы через 12 ч была на 23%, а через 24 ч — на 18% ниже исходной. На 3 сутки активность фермента нормализовалась, а еще через двое суток превысила исходную на 14%. В последующие сроки активность пероксидазы находилась в пределах нормы.

Таким образом, замещение 60% массы крови эмульсиями ПФОС сопровождается повышением содержания гликогена и активности НЭ в палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилах периферической крови и костного мозга крыс. Активность ЩФ и пероксидазы незначительно снижалась. Нормализация цитохимических показателей отмечается к 3—7 суткам после опыта.

Заключение

Исследования клеточного состава периферической крови крыс после замещения 60% массы крови белково-солевым раствором и эмульсиями ПФОС показало: у животных отмечалось минимальное содержание эритроцитов в 1 мкл крови через 12—24 ч после опыта. Эти изменения регистрировались от 3 суток (эмульсия ПФД/ПМЦП) до 10-ти (эмульсии ПФТБА и ПМЦП). При изучении лейкопоза у крыс после замещения крови фторуглеродными эмульсиями выявлялась его активация, что сопровождалось лейкоцитозом (при замещении крови белково-солевым раствором лейкоцитоз не обнаруживался), длившимся от 24 ч (эмульсия ПФД/ПМЦП) до 7 суток (эмульсии ПФТБА и ПМЦП). Замещение крови крыс белково-солевым раствором сопровож-

далось тромбоцитозом, наблюдавшимся в период от 12 ч до 5 суток после опыта, нормализация наступала к 7 суткам. При применении эмульсий ПФОС в первые 12—24 ч развивалась тромбоцитопения, сменявшаяся в последующие сроки наблюдения (до 14 суток) тромбоцитозом.

Содержание отдельных форм лейкоцитов при замещении крови белково-солевым раствором характеризовалось сдвигом формулы влево в первые 10 суток, снижением процента палочкоядерных нейтрофилов. Содержание сегментоядерных форм в 1 сутки после опыта возрастало, а с 5 по 7 сутки наблюдалась нейтропения. В течение первых 7 суток отмечался моноцитоз.

Замещение крови крыс эмульсиями ПФОС также сопровождалось ядерным сдвигом лейкограммы влево, наблюдавшимся в первые 3 суток. Процент палочкоядерных нейтрофилов в первые 12 ч возрастал (максимально — при использовании эмульсии ПФТБА), а затем к 3—5 суткам достигал первоначального (эмульсии ПФТБА и ПМЦП) или падал ниже исходного (эмульсия ПФД, ПФД/ПМЦП). Со стороны сегментоядерных нейтрофилов наблюдался нейтрофилез, длившийся от 24 ч (эмульсия ПФД/ПМЦП) до 7 суток (эмульсия ПМЦП). В последующие дни процент сегментоядерных форм снижался до первоначального уровня (эмульсии ПФТБА и ПМЦП) и ниже (эмульсии ПФД и ПФД/ПМЦП). Введение эмульсий приводило к развитию лимфопении в первые 24 ч (эмульсия ПФД/ПМЦП) — 72 ч (все остальные эмульсии) и моноцитоза, длившегося от 5 (эмульсия ПМЦП) до 10—14 суток.

Поступление в кровяной ток эмульсий ПФОС сопровождалось появлением в периферической крови нейтрофилов и моноцитов с вакуолизированной («пенистой») цитоплазмой, обнаруживавшихся в течение первых 5—7 суток после кровезамещения. Появление в цитоплазме указанных клеток вакуолей связано, очевидно, с фагоцитозом частиц эмульсий ПФОС.

Анализ клеточного состава костного мозга крыс после замещения 60% массы крови белково-солевым раствором выявил изменения, аналогичные таковым при кровезамещении эмульсиями ПФОС: нейтропению за счет палочкоядерных и сегментоядерных форм, наблюдавшуюся первые 10—14 суток после опыта, нормобластоз, лимфоцитоз — в сроки 12 ч — 3 суток после опыта, моноцитоз. Следует отметить, что введение белково-солевого раствора сопровождалось снижением процента недифференцированных бластов в первые 10 суток, а введение эмульсий ПФОС (кроме ПФТБА), напротив, повышением. Нормализация наступала к концу 2 недели после опыта.

С первых часов после замещения крови фторуглеродными эмульсиями в костном мозге появлялись макрофаги преимущественно с крупновacuолизированной цитоплазмой (фагоцитоз частиц эмульсии), удерживавшиеся там до конца наблюдений (1,5 — 2 года, при использовании эмульсии ПФД — несколько месяцев), причем в более поздние сроки (1 месяц и более) цитоплазма макрофагов становилась мелковacuолизированной.

К концу 1 месяца после замещения крови крыс белково-солевым раствором и эмульсией ПФД/ПМЦП происходила нормализация клеточного состава мозга. При применении эмульсий ПФТБА и ПМЦП на 30 сутки еще определялся моноцитоз; через 1 месяц после введения эмульсии ПФД — лимфоцитоз и некоторое снижение процента миелоцитов.

Оценивая изменения цитохимических показателей палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов периферической крови и костного мозга крыс после замещения 60% массы крови белково-солевым раствором и эмульсиями ПФОС, необходимо отметить схожесть реакций. Применение как белково-солевого раствора, так и фторуглеродных эмульсий в ранние сроки после опыта сопровождалось повышением содержания гликогена и активности НЭ, более выраженным в клетках крови. Нормализация наблюдалась на 507 сутки. Активность ЩФ и пероксидазы в первые 24 ч оказывалась сниженной. В последующие сроки (к 3—5 суткам) активность ферментов достигала исходного уровня, а иногда и превышала его.

В настоящее время с помощью биохимических и гистохимических методов установлено, что гликоген имеет важное значение для функционирования различных гемопоэтических клеток. Наличие запасов гликогена в нейтрофилах связано с их специализированной функцией; хотя циркулирующий зрелый нейтрофил метаболически относительно неактивен, при осуществлении функции фагоцитоза и переваривания поглощенного материала активность клетки резко возрастает, что требует значительной затраты энергии (Дж.Хейхоу, Д.Кваглино, 1983). Поскольку основным энергетическим материалом в клетках крови и костного мозга служит гликоген, становится понятным значительное повышение его содержания в палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилах (микрофагах) в ранние сроки после кровезамещения эмульсиями ПФОС.

Возрастание активности эстераз объясняется их физиологической ролью. С.Ли с соавт. (1973) показал, что в гранулоцитах эстераза имеет свойства, аналогичные таковым химотрипсина. Что касается эстеразной активности Т-лимфоцитов, то они могут принимать участие в киллерной функции Т-клеток (Дж.Хейхоу, Д.Кваглино, 1983). По данным Карлов (1975) изменения эстеразной активности отражают физиологическую или иммунологическую стимуляцию моноцитов, так как моноциты способны воспринимать «активацию» окружающими факторами, ведущую к их созреванию и превращению в макрофаги. Во время этого процесса происходят различные изменения, в том числе и общее увеличение большинства гидролитических ферментов (М.Слине, Д.Голде, 1973).

Щелочная фосфатаза или фосфомоноэстераза является ферментом, гидролизующим однозамещенные сложные эфиры ортофосфата.

Вопрос о значении ее для функций различных клеток и тканей окончательно не решен (Т.Уарнес, 1972; J.Скриванова, 1973; Н.Круссе,

1975). По данным гистохимических исследований В.В.Португалова (1955) и J.Rubini (1963) ЩФ участвует в процессах синтеза белка и обмена нуклеиновых кислот. Не вызывает сомнения важная роль фермента в кальцификации и резорбции костной ткани, дентина и эмали (R.Russel et al., 1969; E.Leonard, D.Provenza, 1970; V.Magnusson, L.Anders, 1974). Более важное значение имеет участие в процессах активного биологического транспорта. Главным носителем фермента среди форменных элементов крови и костного мозга являются зрелые нейтрофильные лейкоциты.

Роль ЩФ в непосредственном осуществлении фагоцитарной функции была впервые установлена R.Norn с соавт. (1964). Было показано, что при фагоцитозе белого стафилококка бактерии заключаются в фагосому. Затем гранулы нейтрофилов, содержащие ЩФ, сливаются с фагосомами, причем фермент проникает в содержимое последних и обволакивает поверхность бактериальных клеток. Эти данные получили дальнейшее развитие в работах D.Bainton, (1970, 1973); T.Jenssen, D.Bainton (1971, 1973); G.Daniel, E.Stephen (1972).

По данным Е.А.Венглинской и М.И.Шубича (1972, 1974) процесс фагоцитоза сопровождается расходом ЩФ, активность которой снижается на 20—50%. Расходование ЩФ и других ферментов авторы объясняют деградацией ферментативных белков фаголизосомах в результате действия поступивших туда кислых гидролаз. D.Bainton (1973) убедительно показала, что с фагоцитарной факоолью сначала сливаются специфические гранулы нейтрофилов (источник ЩФ) и лишь затем — азурофильные (источник пероксидазы). Следует подчеркнуть, что ЩФ, выбрасываемая из специфических гранул, не высвобождается во внешнюю среду подобно ферментам первичных (азурофильных) гранул, а связывается с клеточной мембраной нейтрофилов.

Полученные нами результаты исследования ЩФ нейтрофилов крови и костного мозга крыс после замещения 60% массы крови эмульсиями ПФОС подтверждают данные литературы, свидетельствующие о снижении активности фермента в цитоплазме клеток в первые 24 часа после опыта (фагоцитоз частиц эмульсии) и сохранение высокой активности ЩФ в клеточной мембране.

Пероксидазы являются гемопротеидными ферментами, они катализируют в присутствии перекиси водорода окисление различных специфических субстратов, включая фенолы, аминокислоты и некоторые ароматические кислоты. Миелопероксидаза лейкоцитарная пероксидаза (локализуется в первичных (азурофильных) гранулах нейтрофилов и вместе с перекисью водорода и йодом образует в лейкоцитах мощную анти-бактериальную систему.

Образование фаголизосомы в процессе фагоцитоза приводит к поступлению в вакуоль бактерицидных белков и ферментов. При этом ферменты первичных гранул не только опорожняются в фагоцитарные вакуоли и входят в контакт с фагоцитируемой частицей, но и высвобож-

даются во внеклеточную среду. Чем крупнее частицы, тем больше ферментов высвобождается во внеклеточную среду (В.Е. Пигаревский, 1978).

Эти процессы, по нашему мнению, и объясняют снижение активности пероксидазы в палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилах периферической крови и костного мозга крыс в первые сутки после кровезамещения эмульсиями ПФОС.

Анализируя динамику изменений клеточного состава периферической крови и костного мозга крыс, их цитохимические показатели, можно прийти к заключению, что эмульсии ПФОС, исследуемые для замещения 60% ОЦК, не угнетают процессы регенерации клеток крови, не сопровождаются необратимыми метаболическими изменениями в клетках периферической крови и костного мозга. Восстановление крови и костного мозга крыс после использования эмульсии ПФД/ПМЦП происходит в более короткие сроки по сравнению с другими эмульсиями ПФОС.

Глава V. Динамика накопления и выведения фторуглеродных соединений из организма

Биоматериалом считается любое синтетическое или натуральное вещество, которое при контакте с кровью или живыми тканями организма в любых случаях не оказывает повреждающего влияния на биологические компоненты, не вызывает тромбоза в крупных и мелких сосудах; разрешения клеток крови; изменения белков плазмы и разрушения ферментов; истощения электролитов; неблагоприятных иммунных реакций; тератогенных и пролиферативных явлений, а также достаточно быстро удаляется из организма после выполнения основной задачи (Bruck, 1977). В прошлых главах нами было достаточно наглядно показано отсутствие повреждающего влияния фторуглеродных эмульсий на кровь, сосуды и ткани организма различных видов экспериментальных животных. В то же время факт длительной задержки частиц ПФОС тканями живого организма требует пристального внимания к себе исследователей самого различного профиля, чтобы стимулировать поиск новых перфторорганических соединений по пути синтеза абсолютно безвредных и к тому же быстро выводимых соединений.

Анализируя процессы кумуляции ПФОС в организме экспериментальных животных, мы считаем наиболее целесообразным остановиться на выявлении динамики накопления и выведения фторуглерода из организма.

Циркуляция фторуглеродных эмульсий в кровотоке продолжается около трех суток (Маевский и соавт., 1983). Длительность ее зависит от размера частиц, величины коллоидно-осмотического давления, концентрации ПФОС, объема введенной фторуглеродной эмульсии, а также вида животного (Крылов и соавт., 1982, Okamoto et al., 1975). Естественно, что ценность фторуглеродной эмульсии как кровезамещающего препарата в значительной степени определяется продолжительностью циркуляции ее в кровеносном русле (Крылов и соавт., 1983), где частицы фторуглерода (дисперсионная фаза) как бы окутаны молекулами ПАВ и электролитами (дисперсионная среда) Апросин и соавт., 1980. Через несколько часов состав дисперсионной среды меняется в связи с элиминацией молекул ПАВ и адсорбции на поверхности частиц ПФОС белков плазмы. При этом важно, чтобы адсорбционный слой фторуглеродных частиц был стабилен, и при смене детергента, происходящей в кровотоке, диаметр частиц не превышал 0,2—0,3 мкм, так как большие по размеру частицы быстрее выводятся из кровеносного русла (Маевский и соавт., 1983; Okamoto et al., 1975; Glark et al., 1977). Что происходит при быстром выведении укрупнившихся частиц фторуглерода в ткани, нетрудно представить: уменьшение объема частиц

эмульсии ведет к уменьшению ОЦК и гиповолемии, которая в первые 2—2,5 часа компенсируется возрастанием МОК и ОПС за счет увеличения числа сердечных сокращений и спазм периферических сосудов. Однако через 4 ч происходит истощение компенсаторных возможностей (Федоров и соавт., 1980; Матвиенко и соавт., 1980) и если не произвести введения новой порции эмульсии — произойдет смерть животных. В настоящее время сделана попытка продлить время циркуляции фторуглеродной эмульсии в кровеносном русле (Sloviter and Muknerji, 1983) в 3—4 раза за счет добавления в состав детергентов лецитина. При этом большая часть ПФОС выводится через легкие с выдыхаемым воздухом, а меньшая захватывается тканями печени и селезенки. В итоге для перфтортрипропиламина (ПФТПА), период полувыведения которого обычно составляет 60 дней, этот период равен только 10 дням.

Тем не менее, происходит постепенное выведение частиц фторуглерода из кровеносного русла, который частично выделяется с выдыхаемым воздухом, частично захватывается тканями. Скорость, с которой ПФОС покидают кровяной поток зависит от размера частиц (частицы размером более 0,2—0,3 мкм выводятся быстрее); типа эмульгатора; давления паров (чем оно выше, тем легче происходит выдыхание фторуглерода); прочих факторов (Mooge, 1978). Снижение концентрации ПФОС в крови ведет к повышению его в тканях и выдыхаемом воздухе. Д.П.Сидляров и соавторы (1983), определяя особенности выведения перфторсоединений различных классов в выдыхаемом воздухе, пришли к выводу, что выдыхание паров ПФОС при длительном экспериментальном наблюдении проходит в две фазы: 1-я продолжительностью 3—5 суток совпадает с длительностью циркуляции фторуглеродов в кровеносном русле. При этом выводится до 40% ПФОС независимо от введенной их дозы, а различные по химической структуре ПФОС (например, ПФД и ПФТБА) выводятся с одинаковой скоростью. 11-я фаза длится до нескольких месяцев или лет. Именно здесь имеется расхождение констант скорости выдыхания, зависящих от индивидуальных особенностей фторуглерода. Сходные результаты, говорящие об одинаковой экспоненциальной зависимости выведения различных фторуглеродов с выдыхаемым воздухом в течение первых суток, получили Okamoto et al., 1975 и Yokoyama et al. 1975).

ПФОС в тканях. Как уже неоднократно говорилось, та часть фторуглерода, которая осталась в организме животных после активного выдыхания в первые 3—5 суток, поглощается тканями некоторых органов. Все исследователи, изучавшие характер распределения ПФОС, сходятся во мнениях о кумуляции большого количества фторуглерода элементами системы мононуклеарных фагоцитов (СМФ), распространенных практически во всех органах и тканях организма (Неменова и соавт., 1980; Гласко и соавт., 1983, Clark 1977). Как известно, основной функцией этой системы является защита внутренней среды от различного рода агентов (Террито, 1983). Наиболее хорошо организо-

вана СМФ в органах, выполняющих барьерную функцию: печени, селезенке, лимфатических узлах, названных Я.Карром (1978) лимфо-ретикулярными. Именно в печени и селезенке накапливается и содержится основное количество ПФОС (Clark et al., 1974; Miller et al., 1976). Кроме лимфо-ретикулярных органов М.Миллер и соавт. (1976) наблюдали включения частиц фторуглеродов в клетке периферической крови: нейтрофильные лейкоциты, моноциты и тромбоциты; мегакарициты и эозинофилы костного мозга; альвеолярные макрофаги легких, серозных оболочек, соединительной ткани и швановских оболочек периферических нервов. Из паренхиматозных клеток авторы отметили включение ПФОС в гепатоциты.

Нами (А.М.Голубев и соавт. 1982, 1983) опубликованы данные, свидетельствующие о накоплении макрофагов с частицами фторуглерода в корковом слое надпочечников, среди клеток эндокринных островков поджелудочной железы и в эндотелии сосудов. Исследователи, использующие метод газовой хроматографии для определения локализации и количества накопленного фторуглерода (Clark et al., 1974; Yokoyama et al., 1978), дополнительно отметили повышенное содержание ПФОС в гомогенате ткани почек и жировой ткани экспериментальных животных, хотя гистологически мы ни разу не встретили при однократном массивном кровезамещении характерных перфторфагов в ткани почек или жировой клетчатке. Не упоминается об этом и в доступной литературе. Количество фторуглерода в почках и жировой клетчатке по данным газовой хроматографии было небольшим: во много раз меньше содержащегося в печени и селезенке. Оно быстро снижалось и уже через 3—4 недели после введения эмульсий ПФОС авторы отмечали только следовые количества препарата. Таким образом, на основании литературных данных и результатов собственных исследований, можно дать характеристику распределения перфторфагов, встречающихся в различных органах. Наибольшее количество частиц фторуглерода при внутривенном введении всех использованных нами фторуглеродных эмульсий отмечалось в макрофагах селезенки и печени. Значительное количество также захватывалось гепатоцитами, причем в течение одного месяца после кровезамещения количество включений ПФОС в паренхиматозные клетки печени постепенно, но неуклонно уменьшалось. Несколько меньшее количество фторуглерода захватывалось макрофагами лимфатических узлов. При этом наиболее часто поражались регионарные лимфоузлы легких (бифуркационные, переднего средостения) и лишь единичные ПФ встречались в лимфатических узлах брыжейки кишечника. Небольшое количество ПФОС, но у всех обследованных животных опытной группы, встречалось в макрофагах костного мозга, тимуса, коркового слоя надпочечников, островков Лангерганса поджелудочной железы. При этом специфические макрофаги (перфторфаги) довольно быстро (в течение 1—2 месяцев) покидали тимус и поджелудочную железу, не образуя клеточные агрегаты, как в других органах. Практически у всех экспериментальных животных мы

встречали ПФ среди клеток межальвеолярных перегородок. Причем, если в первые 7 суток количество этих клеток было значительным, а выглядели они крупными полигональными с бледно-эозинофильной мелковакуолизированной цитоплазмой и эксцентрично расположенным небольшим овальным ядром, то впоследствии на сроках 2 месяца и дольше, таких клеток не наблюдалось, хотя межальвеолярные перегородки были инфильтрированы лимфоидно-макрофагальными элементами. Мы считаем, что такая инфильтрация — выражение усиленного притока макрофагов из внутренних органов, где происходит процесс гранулематоза (см. гл. VI), способствующий элиминации мельчайших частиц ПФОС через легкие с выдыхаемым воздухом. Данные об этом имеются в публикациях Н.В.Шибалева и соавт. (1983), R.Geyer (1983); F.Pfannkuch et al., (1983). В кровеносных сосудах мельчайшие включения ПФОС были обнаружены только в эндотелиоцитах, в первые 7—10 суток эксперимента.

Необходимо сказать несколько слов о макрофагах воспалительных инфильтратов, которые также обладают способностью захватывать и накапливать частицы ПФОС после внутривенного введения в организм животных фторуглеродных эмульсий. Мы наблюдали скопления таких перфторфагов вокруг внутрикожных гематом, образующихся при катетеризации подключичной вены; в стенке хронических абсцессов; среди элементов воспалительного инфильтрата вокруг опухолей. Создается впечатление, что активированные макрофаги воспалительных инфильтратов служат своеобразной ловушкой для частиц (или макрофагов с частицами) ПФОС, постоянно рециркулирующих в кровотоке животных, получивших инъекции фторуглеродных эмульсий.

Наконец, надо упомянуть те органы и ткани, где ПФОС, несмотря на тщательное и многократное исследование различными методами, не выявились. К ним относятся: головной и спинной мозг, сердце, желудочно-кишечный тракт, гладкая и поперечно-полосатая мускулатура, семенники.

Возникает вопрос, что является определяющим моментом в распределении частиц захваченного фторуглерода между различными органами и тканями? Мы считаем, что частицы фторуглерода могут легко захватываться тканевыми макрофагами только в органах с синусоидным типом кровообращения, который предполагает свободное проникновение частиц эмульсии через выступающие в просвет сосуда псевдоподии макрофагов интерстиция, встроенных между эндотелием. Подтверждением этой гипотезы может служить синусоидное строение терминальных капилляров органов, в которых зарегистрированы ПФ. В то же время органы с обычной капиллярной системой кровообращения и в том числе почки, даже несмотря на развитую систему тканевых макрофагов — мезангиоцитов, не содержат в интерстициальной ткани макрофагов с частицами ПФОС, так как последние не способны преодолеть преграды базальной мембраны капилляров (что, как известно, является энергозависимым процессом). Пока что остается открытым

вопрос, почему в некоторых органах (тимус, легкие, поджелудочная железа) ПФ задерживаются сравнительно короткое время по сравнению с селезенкой и печенью?

Накопленный тканями фторуглерод задерживается элементами СМФ от нескольких месяцев (у эмульсии на основе ПФД) до нескольких лет (у эмульсии на основе ПФТБА), как свидетельствует публикация L.C. Clark et al. (1974). Скорость выведения ПФОС из тканей зависит от химической структуры молекулы вещества и давления паров (Mooge, 1978). Л.К. Кларк и соавт., (1974), рассматривая химическую структуру молекулы ПФОС, высказали предположение о влиянии гетероатомов и линейной формы цепи перфторуглерода на задержку клетками организма в отличие от полициклических полностью фторированных углеродов, как бы обладающих сродством к тканям. В 1978 г. R.E. Mooge et al высказали мысль о влиянии критической температуры растворения в гексане (КТР) на скорость выведения фторуглеродов из тканей. Точку зрения поддержали M.L. Miller et al (1978), которые провели многопараметровый корреляционный анализ, показывающий сильную связь скорости выведения и КТР различных перфторуглеродов.

Мы производили подсчет объемной доли перфторофагов в печени и селезенке крыс при кровезамещении четырьмя видами перфторуглеродных эмульсий (см. гл. III) в зависимости от времени, прошедшего с начала эксперимента. Из графиков видно, что величина объемной доли, занимаемой в органе перфторофагами, с течением времени имеет общую для всех фторуглеродов тенденцию к снижению. При этом величина объемной доли ПФ через максимальный срок наблюдения — 18 месяцев у крыс, получивших эмульсию на основе ПФТБА, равна 4 об% в печени и около 10% в селезенке. Наименьшая доля ПФ с течением времени у крыс, получивших эмульсию на основе ПФД/ПМЦП: в печени этих животных обнаруживались через 8 месяцев (лишь одиночные ПФ), а в селезенке — через 12 месяцев. Наши данные полностью подтверждались результатами А.Н.Склифас и соавт (1983), которые, применяя газохроматографический метод для количественной оценки содержания ПФОС в печени и селезенке при введении данных эмульсий, находили через 6 месяцев эксперимента количество ПФД/ПМЦП, во много раз меньшее чем ПФТБА.

Если рассмотреть представленные графики видно, что колебания значений объемной доли ПФ имеют форму многопиковых кривых, которые отражают процессы рециркуляции частиц ПФОС в организме животных. О рециркуляции высказывал мысль Л.К.Кларк и соавт. (1975, 1977), которые представляют похожий пилообразный график содержания макрофагов в печени кошек после массивного кровезамещения эмульсией FC-43. При этом мы заметили, что ПФОС с заведомо известным коротким периодом полувыведения (ПФД/ПМЦП и ПФД/ПФТБА) имеют, как показано на рисунках, 2—3 пика рециркуляции до полного выведения, а ПФОС с длинным периодом полувыведения

(ПФТБА и ПМЦП), соответственно 4—5 пиков. Особенно наглядно это видно при введении эмульсии на основе ПФТБА. Данные газовой хроматографии (А.Н. Склифас и соавт., 1983) также подтверждают эту неравномерную кривую выведения ПФОС из организма экспериментальных животных.

Пути выведения частиц фторуглерода из организма животных исследуются с момента установления факта их задержки. Было установлено, что вследствие своей уникальной химической инертности ПФОС не метаболизируются в организме и выделяются в неизменном виде (Sloviter, 1970); Clark et al., 1970, 1974, 1977). Вскоре, благодаря успешному применению морфологического и газохроматографического методов для идентификации ПФОС в тканях экспериментальных животных, было установлено, что ПФОС выводится тремя путями: легкими, желчевыводящими путями и кожей (Yokoyama et al, 1975). При этом общепризнано, что главным путем являются легкие, где с выдыхаемой углекислотой и водяными парами происходит выделение частиц всех видов фторуглеродов, циркулирующих в кровотоке в первые 3—5 суток. Как сказано выше, это 1-й этап выведения ПФОС, при котором выводится около 40% его. В дальнейшем выделение частиц фторуглерода происходит за счет экзоцитоза макрофагами интерстиция легких (Шибаяев и соавт., 1983; Geyer, 1983), которые выводят частицы, содержащиеся в перфторосомах, в просвет альвеол. Характерно, что при этом вещества, имеющие высокое давление пара (например, ПФД), выделяются преимущественно через легкие, а низкое — с желчью и фекалиями животных (Апросин и соавт., 1983; Mooke, 1976; Yokoyama et al., 1978). Механизм выделения ПФОС через кожу пока что известен хуже всего. Вполне возможно, что фторуглероды покидают организм с секретом потовых или сальных желез.

На рис. 1 представлены пути выведения фторуглерода из организма в разные периоды эксперимента, согласно которой частицы фторуглеродной эмульсии, введенные в кровоток (левая половина схемы), удаляются с выдыхаемым воздухом и захватываются элементами СМФ тканей. В центральной части схемы представлены те органы, где кумулируются частицы ПФОС. В течение 7 сут — 18 мес. нашего наблюдения в этих тканях непрерывно происходит процесс агрегации перфторофагов с дальнейшим гранулематозом (см. гл. VI), который в итоге, приводит к перераспределению частиц ПФОС и выведению их мигрирующими макрофагами по кровотоку в легкие (см.схему), где последние посредством экзоцитоза выводят эти частицы из организма. Часть фторуглерода, как видно на рисунке, накапливается в гепатоцитах печени и по желчным капиллярам переходит в кишечник, где с фекалиями покидает организм. Обратного всасывания ПФОС из кишечника не происходит (Апросин и соавт., 1983).

Блокада СМФ. Перенасыщение макрофагов организма неперевариваемыми агентами ведет к блокаде СМФ, в ходе которой может развиться угнетение иммунного ответа на введение антигена и другие

нарушения защитной функции этой системы (Учитель, 1978; Маянский, Маянский, 1983). Авторы наблюдали проявление блокады СМФ при введении внутривенно инертных коллоидов угля, золота и железа. При этом длительность блокады зависела от величины введенной дозы блокирующего агента. Нечто подобное происходит и при внутривенном введении фторуглеродных эмульсий. Л.А.Седова и соавт. (1984), изучая фагоцитарную активность клеток периферической крови (нейтрофильных лейкоцитов и моноцитов) после плеторического введения крысам фторуглеродной эмульсии на основе ПФТБА в дозе 10 г/кг веса тела, пришли к выводу о незначительном и статически недостоверном снижении количества нейтрофилов, фагоцитирующих патогенный стафилококк, наблюдаемом через сутки после введения фторуглеродной эмульсии. Через 3—7 суток эксперимента картина угнетения фагоцитарной активности сменяется активацией фагоцитоза и к 14 суткам она возвращается к исходным значениям. Более выраженную картину блокады СМФ описывают Т.Fujita et al., (1983) у людей, перенесших операцию по поводу рака желудка. При возникновении геморрагического шока в ходе операции больным (которым до операции вводили по 500 мл фторуглеродной эмульсии на основе ПФД/ПФТБА) переливали в экстренном порядке 1000 мл той же эмульсии. Активность СМФ у этих больных падала через 1 ч после инфузии на 50%, а через 2 дня почти на 75%. Впоследствии активность системы медленно восстанавливалась и к 14 дню после операции составляла около 75% от контроля. В течение этого периода наблюдалось снижение уровня стимулированных лимфоцитов, который восстанавливался к концу второй недели после операции. Послеоперационный период у больных, которым предварительно вводили по 500 мл эмульсии ПФОС, длился несколько дольше обычного.

Однако функции их в конце концов восстанавливались и к 14 суткам эти больные не отличались от лиц контрольной группы, которым до операции вводили такое же количество кровезаменителя — оксиэтилкрахмала. Явление частичной блокады Купферовских клеток в изолированной печени свиней при перфузии ее 20% фторуглеродной эмульсией FI-ДА (на основе ПФД/ПФТПА) описывают D.Petutschnick et al., (1980), которые наблюдали снижение включений коллоидного золота в цитоплазме макрофагов по сравнению с органами контрольной группы, перфузированными цельной кровью. Наконец, мы в условиях длительной экспериментальной кровезамены четырьмя видами фторуглеродных эмульсий у крыс не наблюдали фагоцитоза частиц гемосидерина перфторорганическими макрофагами в области гематомы, образующейся на месте инъекции. Между тем, обычные макрофаги, визуально не содержащие включения ПФОС и находящиеся в непосредственной близости к ним, содержали большое количество частиц пигмента.

Изменяется ли функциональная активность макрофагов при блокаде частицами ПФОС? Л.А. Седова с соавт. (1980) считают, что введение эмульсии на основе ПФТБА (доза 10 г/кг веса тела животного)

вызывает стойкое и необратимое поражение ретикулогистиоцитарного аппарата печени, селезенки, лимфатических узлов и т.д., в отличие от эмульсии ПФД, которая вызывает лишь временное изменение макрофагальных элементов. Авторы выделяют три периода в ответ на однократное введение фторуглеродных эмульсий: период выраженных дистрофических и некробиотических изменений в органах; период стабилизации патологического процесса и некоторого снижения его выраженности; период восстановления, который у эмульсии ПФД приходится на третий месяц экспериментального наблюдения. Н.В.Шибяев и соавт. (1983) при тщательном ультраструктурном анализе макрофагов, кумулирующих частицы ПФОС, отметили некоторое набухание митохондрий только в клетках крыс, получивших большие дозы эмульсии ПФТБА, в то время как ПФД/ПМЦП никакого влияния на клетки не оказывала. Другие исследователи (Clark et al., 1974, 1975; M.L.Miller et al 1978) даже при кумуляции в макрофагах такого длительно задерживающегося вещества, как ПФТБА, не отмечают признаков повреждения клеточных органелл. Они пишут, что частицы ПФОС оказывают на клетки не больше влияния, чем внутриклеточные капельки липидов. Как видно, данные литературы достаточно противоречивы, однако большинство исследователей все же сходятся на позиции безвредности длительной кумуляции частиц фторуглерода внутри клеток.

Заключение

Фторуглеродные эмульсии, циркулирующие в кровотоке животных, выполняют возложенные на них задачи транспорта газов и препятствуют возникновению гиповолемических осложнений. С течением времени часть ПФОС (до 40%) выводится через легкие с выдыхаемым воздухом, другая часть задерживается в тканях элементами СМФ и гепатоцитами. Скорость выведения частиц фторуглерода из кровотока зависит, главным образом, от дисперсности частиц эмульсии, вида эмульгатора и давления паров фторуглерода, а распределение ПФОС в органах — от особенностей кровеносной системы данного органа. Длительность задержки фторуглерода в тканях различна у разных ПФОС, а скорость выведения их зависит от химической структуры, давления паров и критической температуры растворимости в гексане каждого перфторорганического соединения. В органах, накапливающих ПФОС, происходит эволюция перфторорганических соединений, приводящая к гранулематозной реакции и постепенному выведению ПФОС из организма. Основными путями выведения фторуглерода из организма являются легкие, желчные ходы и кожа.

Глава VI. Морфогенез гранулем, образованных макрофагами, кумулировавшими фторуглеродные частицы

Вопрос о механизме выведения фторуглеродов из организма животных до конца не решен. В конечном итоге решение его поможет целенаправленно создавать фторуглеродные эмульсии с заданными свойствами.

Какие же существуют на сегодняшний день трактовки механизма выведения перфторуглеродов, длительно находящихся в клетках различных тканей и органов? Прежде всего, необходимо отметить, что все исследователи, описывающие факт накопления ПФОС в тканях животных после введения фторуглеродных эмульсий в организм, признавали уменьшение содержания его по истечении некоторого времени. Скорость выведения различных фторуглеродов была различной. Однако, даже в случае применения наиболее длительно задерживающейся фторуглеродной эмульсии на основе ПФТБА, происходит уменьшение количества ПФОС в органах, что говорит о выведении препарата, правда с меньшей скоростью (Okamoto et al., 1975). Вторым фактом, на который обращали внимание все исследователи, была агрегация макрофагов, содержащих частицы фторуглерода (или скопление их в клеточные гистиоцитарные кластеры). Факт этот достаточно подробно описан в работах Л.А. Седовой и соавт. (1979); Н.М. Неменовой и соавт. (1981); А.М. Голубева и соавт. (1982, 1983); L.C. Clark et al., 1975; M.L. Miller et al., 1976 и др.). Поскольку в агрегатах перфторофаги имеют обычно более «пенистую» (или мелковакуолизированную) цитоплазму, американские ученые M.L. Miller et al. (1978) предложили гипотезу внутриклеточного реэмульгирования, согласно которой частицы фторуглерода, сконцентрированные в крупных цитоплазматических фагосомах, подвергаются внутриклеточному «раздроблению» на более мелкие фагосомы, и, впоследствии, эти мелкие капельки подвергаются экзоцитозу в кровеносное русло, чтобы попасть в один из путей выведения. Такого же мнения придерживаются и некоторые отечественные исследователи (Чаплыгина и соавт., 1981; Гласко и соавт., 1983), которые считают, что выведение ПФОС из органов осуществляется за счет проникновения их через мембрану макрофагов, содержащих частицы эмульсии. В этом случае происходит отбор ПФОС по средству их с мембраной, коррелирующей с критической температурой растворимости в гексане. В то же время Н.В. Шibaев и соавт. (1983) при использовании разных фторуглеродных эмульсий, даже в отдаленные сроки (120—180 дней с момента массивной кровезамены), наряду с крупными включениями перфторуглеродов — более 1 мкм, обнаруживали и большое количество мелких частиц — менее 0,2 мкм. На

этом основании авторы не согласны с трактовкой механизма выведения, предложенного М.Миллером, тем более, что энергетические затраты, необходимые для реэмульгирования, несоизмеримы (как пишут авторы) с энергетическими возможностями клеток и, по крайней мере, должны отразиться на изменении ультраструктуры их. Однако, кроме изменений в числе и размерах перфторосом во всех исследуемых клетках, других обнаружено не было.

Мы еще в своих ранних исследованиях органов крыс, накапливающих фторуглерод (Голубев и соавт., 1982), обратили внимание, что наряду с агрегатами из перфторофагов в сроки, превышающие 3—4 месяца (у животных, получивших эмульсию на основе ПФТБА), в печени селезенке и др. появляются эпителиоидно-клеточные и полиморфно-клеточные гранулемы, постепенно заменяющие агрегаты ПФ и уже не имеющие (светооптически) в цитоплазме вакуолей. Необходимо отметить, что и другие исследователи наблюдали подобное явление. Так, Л.А.Седова и соавт. (1979) в печени и селезенке крыс после введения эмульсии ПФТБА обнаружили «скопления» ретикулогистиоцитарных клеток по периферии макрофагов, содержащих фторуглероды. В некоторых из этих клеток цитоплазма светлая, что делает их похожими на клетки Гоше». М.Л. Miller et al. (1976, 1978) наблюдали около вышеупомянутых кластеров, содержащих макрофаги с частями ПФОС, большое количество лимфоидных более темных клеток, а также трансформированных лимфоцитов и плазмоцитов, принимающих участие в образовании кластеров. Их количество, пишут авторы, нарастает с каждым днем. Подобная картина наблюдалась у всех видов животных. Е. Pfannkuch et al., (1983) отмечают, что у животных через год после введения большой дозы F1-ДА (фторуглеродная эмульсия на основе ПФД/ПФТПА) в печени кроме кластеров, состоящих из клеток с мелковакуолизированной цитоплазмой, находились узелки, содержащие моноцитарно-лимфоцитарно-плазмоцитарные скопления, часто располагающиеся по соседству с дегенеративно измененными перфторофагами. Авторы объясняют это как реакцию на клеточные фрагменты ПФ, которые освобождались в процессе дегенерации.

В наших исследованиях у 305 крыс и 25 беспородных собак, которым производили однократную массивную замену ОЦК (60—70%) четырьмя видами фторуглеродных эмульсий (см. главу III), подсчет одиночных ПФ, их агрегатов и макрофагальных гранул осуществляли пользуясь методом объемных отношений (Weybel, 1966; Автандилов, 1973) в 1494 клетках (увеличение — 400). Полученные результаты обрабатывали методами медицинской статистики (Автандилов, 1973, 1984). Достоверность величин оценивали по критерию Стьюдента. Результаты изображали графически. Для удобства и наибольшей информативности при проведении различных морфометрических, гистологических, гистохимических и гистоэнзимохимических методов исследования мы изучали только печень и

селезенку, как органы, депонирующие максимальное количество фторуглерода. Хотя сразу необходимо пояснить, что описанные изменения в виде гранулематозной реакции универсальны и наблюдались нами также в лимфатических узлах, коре надпочечников, костном мозге, легких.

Как было описано нами выше (см. главу III), через несколько часов после инфузии эмульсий ПФОС в печени как крыс, так и собак наблюдалось появление одиночных ПФ, расположенных во всех отделах органов, но более сосредоточенных в периферических отделах печеночных долек. Аналогичное расположение ПФ наблюдали в селезенке животных. На вторые — третьи сутки общее количество ПФ увеличивалось. Одновременно с этим вокруг них в селезенке отмечено появление инфильтрации из лимфоидно-макрофагальных элементов. Объем инфильтратов постепенно растет, достигая максимума на 5—7 сутки эксперимента. Гистохимические окраски на полисахариды, нуклеопротейиды, суммарный белок и липиды (гистохимический тест на ПФОС) в крупновоакуолизированных ПФ были в указанном промежутке времени отрицательны. При гистоэнзимохимическом исследовании ПФ активность НАД-Н и НАДФ-Н тетразолий редуктаз, ЛДГ, СДГ, КФ в них была низкой и сохранялась лишь в тонких прослойках цитоплазмы, окружающих перфторосомы и вдоль клеточных мембран. При реакции Фельгена на ядерную ДНК реакция в ядрах была очень низкой, в то время как у окружающих клеток инфильтрата все гистохимические показатели (ДНК, полисахариды, нуклеопротейиды, суммарный белок, активность гидролаз и окислительно-восстановительных ферментов) были сильно повышены, что характерно для активированных макрофагов (Карр, 1978).

На 7—10 сутки у животных, получивших эмульсии ПФД/ПМЦП и ПФД/ПФТБА (10 — 14 сутки при введении эмульсий на основе ПФТБА и ПМЦП), отмечалось появление агрегатов из ПФ, состоящих из 4 — 8 клеток. Цитоплазма ПФ в них выглядела более вакуолизированной, бледно-эозинофильной. Соответственно изменилась интенсивность гистохимических реакций в клетках, составляющих агрегаты. Суммарное содержание полисахаридов, нуклеопротейидов (РНК), белка несколько увеличивалось, главным образом, за счет увеличения прослоек цитоплазмы между мелкими вакуолями частиц фторуглерода. В то же время, при выявлении суммарных липидов суданом черным «Б», перфторосомы были судан-положительны (в отличие от судан-отрицательных фторосом у одиночных ПФ через 12—24 часа после инфузии фторуглеродных эмульсий). При этом создается впечатление о частичном растворении липидов фагосомальных мембран в жидком фторуглероде, заполняющем фагосомы. При гистоэнзимохимическом исследовании мы наблюдали такую же картину: увеличения суммарной активности окислительно-восстановительных и гидролитических ферментов. Таким образом, гистологический и гистохимический анализ макрофагов, захвативших из кровотока

частицы ПФОС, свидетельствует об эволюционном процессе, происходящем с ПФ, который направлен, по-видимому, на концентрирование чужеродного агента и подготовку к дальнейшей тканевой реакции — гранулематозу.

Клеточные агрегаты из ПФ с течением времени увеличиваются в размерах и выглядят совершенно одинаково как у крыс, так и у собак. При выявлении ретикулярных волокон по методу Фута через 1—2 месяца вокруг агрегатов в селезенке и печени наблюдается тонкий аргирофильный каркас, отдельные волокна которого проникают в глубину и оплетают некоторые клетки. Окраска срезов на содержание коллагеновых волокон по методу Ван-Гизона в этот период эксперимента не выявила признаков коллагенизации вокруг ПФ.

Практически сразу же после формирования клеточных агрегатов в печени и селезенке мы отмечали лимфоидно-макрофагальную инфильтрацию, которая проникала между клетками агрегатов. С течением времени этот процесс усиливается. Происходит постепенная замена клеточного состава агрегатов, содержащих частицы ПФОС, на эпителиоидные клетки, цитоплазма которых визуалью уже не содержит светлые включения фторуглерода. Образовавшиеся эпителиоидно-клеточные узелки, заменившие агрегаты ПФ, являются не чем иным, как гранулемами, в ответ на введение инертного синтетического агента — перфторорганического соединения.

При гистохимическом исследовании в клетках эпителиоидно-клеточных гранулем значительно усиливается реакция на полисахариды (ШИК-реакция), липиды, нуклеопротейды и суммарный белок. Гистоэнзимохимическое исследование гранулем выявило высокую активность ферментов в эпителиоидных клетках. Особенно значительно повышалась активность НАД-Н тетразолий редуктазы, ЛДГ, Г-6-ФД и КФ. Исследуя ретикулярный каркас вокруг гранулем, мы отметили фрагментацию и деградацию уже сформированных аргирофильных волокон как между клетками, так и по периферии гранулемы. Интересные результаты дает постановка реакции Фельгена на содержание ядерной ДНК в клетках, составляющих гранулемы. Оказалось, что активность реакции наиболее ослаблена в ядрах клеток центральной зоны гранулем (здесь встречались даже клетки-тени, совершенно не дающие реакцию на ядерную ДНК) и повышена по периферии. В гепатоцитах, окружающих гранулемы в печени экспериментальных животных, интенсивность реакции Фельгена была выше по сравнению с другими клетками. Описанные реакции гранулематоза протекали совершенно идентично как у крыс, так и у собак.

На более поздних сроках эксперимента (6—8 мес.) уже сформированные эпителиоидно-клеточные гранулемы претерпевают дальнейшие превращения: составляющие их эпителиоидные клетки замещаются — лимфоидно-клеточными, а затем — мономорфными, состоящими из небольших округлых клеток с интенсивно базофильными ядрами и напоминающими моноцитоидные элементы ко-

стного мозга. Границы этих гранулем нечетки, от них отходят как бы цепочки, располагающиеся между клетками, составляющими печеночные балки. Эти клетки содержали небольшое количество липидов; реакция на содержание РНК, суммарного белка и полисахаридов в цитоплазме их была умеренной. Внешний вид и гистологическая характеристика клеток позволяют отнести их к неактивированным макрофагам (Карр, 1978). Необходимо подчеркнуть, что процессы гранулематоза особенно активно протекают в периферических зонах лимфатических фолликулов и муфт селезенки; мякотных шнурах мозгового слоя лимфатических узлов; перипортальной зоне печени. Особой разницы в интенсивности и скорости процессов гранулематоза между животными разных видов мы не обнаружили. В то же время у всех животных по мере старения и возрастной инволюции органов процессы образования гранулем как бы ослабевают, снижается интенсивность лимфоидно-клеточной инфильтрации вокруг клеточных агрегатов ПФ и те из них, что не подверглись гранулематозной реакции, остаются в органах в течение всего последующего наблюдения. На дальних сроках эксперимента (от 8 мес. и далее) на месте агрегатов появляются единичные многоядерные гигантские ПФ с бледно-эозинофильной мелковакуолизированной цитоплазмой.

Поскольку процесс выведения фторуглерода из организма животных мы связываем с гранулематозной реакцией, естественно возникает вопрос о динамике развития гранулем в органах животных, получивших разные типы фторуглеродных эмульсий. Под динамикой гранулематозного процесса в данном случае понимается, во-первых, интенсивность реакции (величина объемной доли, занимаемой фторуглеродными гранулемами на определенный момент эксперимента), во-вторых, скорость развития гранулематоза (изменение количества гранулем за единицу времени). На графике показаны изменения объемной доли перфторуглеродных гранулем в печени крыс при введении различных эмульсий ПФОС. Кроме линий, отражающих изменение доли гранулем у опытных животных (сплошная линия), мы отразили на графиках динамику изменения так называемых неспецифических инфекционных гранулем, свойственных вообще всем экспериментальным животным как проявление «спонтанной патологии» (пунктирная линия) (Белянин, 1974, 1981). По данным различных авторов (Войно-Ясенецкий, 1955; Белянин, 1981) неспецифические гранулемы в печени экспериментальных крыс и мышей обнаруживались в 66—80%. Как показано на графиках, объемная доля «специфических» гранулем в печени опытных крыс достоверно превышала долю «неспецифических» гранулем. При сравнении между собой динамики гранулематозной реакции при введении эмульсий ПФОС обращала на себя внимание слабая интенсивность гранулематозной реакции в печени крыс, получивших эмульсии на основе ПФТБА и ПФД/ПФТБА, по сравнению с интенсивностью реакции у крыс с эмульсией ПМЦП и ПФД/ПМЦП. Скорость развития гранулематозной реакции наимень-

шая у животных с фторуглеродной эмульсией ПФТБА (пик максимума содержания гранулем — нечеткий и приходится на 8—12 мес.) и наибольшая у крыс с эмульсией ПФД/ПМЦП (пики максимального содержания гранулем приходятся на 14 суток и 3 месяца). Если сравнить динамику выведения частиц ПФОС из органов (см. главу V) с представленной динамикой гранулематоза в печени опытных животных, напрашивается вывод о влиянии скорости и интенсивности гранулематоза на выведение ПФОС из организма животных. Чем больше скорость и интенсивность гранулематозной реакции на введенный фторуглерод в тканях, тем быстрее это вещество покидает организм.

Чем в конце концов заканчивается процесс гранулематоза, способствующий выведению ПФОС? Ни один исследователь, изучавший морфологическую картину в органах, накапливающих ПФОС в течение длительного времени, не отмечал формирование склероза или гиалиноза как бы длительно ни находились в органе фторуглероды (Голубев и соавт., 1982; Васильев, 1983; Хохлова и соавт., 1983; Clark et al., 1974, 1975, 1977).

При тщательном изучении терминальной стадии гранулем, возникающих в ответ на введение в организм фторуглеродных эмульсий, мы пришли к выводу о возможности обратного развития с регенерацией паренхиматозных элементов органа (например, печени), в котором накапливались ПФ с частицами ПФОС. Доказательством полного восстановления специализированных органных структур могут служить, во-первых, сама морфологическая структура, не отличающаяся от инактивных животных, и, во-вторых, — признаки повышенной метаболической активности тканевых элементов (в печени — гепатоцитов), находящихся в непосредственной близости от вышеописанных гранулем.

Обсуждая полученные результаты, необходимо уточнить, относится ли наблюдаемый нами процесс в органах, накапливающих фторуглерод, к гранулематозу? По определению D.O.Adams (1976), гранулема — это компактно образованная комбинация зрелых мононуклеаров, которая необязательно сопровождается некрозом ткани. Я.Карр (1978) пишет, что гранулема есть фокальный агрегат хронического воспаления, общим признаком которого является агрегация большого числа клеток в группы или своеобразные гроздья. В типичной гранулеме имеется большое количество лимфоцитов, плазматических клеток и моноцитов. Основное предназначение гранулем — избавление макроорганизма от попавших в его ткани чужеродных веществ. Если же частицы не могут быть обезврежены, то они изолируются от внутренней среды (Чернух, 1979). Общую схему развития гранулем представляют В.В.Серов и А.Б.Шехтер (1981). Они подразделяют весь процесс гранулематоза на фазы: 1) накопление юных мононуклеаров, 2) созревание их в макрофаги и агрегация их в зрелую гранулему, 3) дальнейшее созревание мононуклеаров в эпителиоидно-клеточную гранулему, слияние последних в гигантские клетки и клетки Лангханса. При уда-

лении раздражителя гранулемы развиваются в обратном направлении. Все исследователи, изучавшие гранулематоз (Чернух, 1979; Карр, 1978; Серов и соавт., 1981; Фрейдлин, 1984 и др.) сходятся во мнении, что гранулематозные реакции могут быть вызваны многими стимуляторами и в том числе инертными полимерными веществами. Наиболее важным фактором при этом является длительное сохранение в макрофагах гранулем части поглощенного материала в неизменном виде. Существует непрерывное движение клеток (гематогенного происхождения) через гранулему, которые в ней созревают в макрофаги, выполняют специализированную функцию и мигрируют в дренирующий лимфоузел. При этом гранулемы могут быть разделены на два типа. При первом зрелая гранулема в основном заполнена стимулятором, уровень миграции и метаболизма низкий, а срок жизни макрофагов в ней до 2-х месяцев. Отмечено, что мононуклеарная реакция протекает более длительно после введения синтетических полимеров. При других формах гранулем — только небольшая часть макрофагов содержала стимулирующее начало, при этом в очаге воспаления наблюдалась продолжительная миграция и быстрая смена клеток (Карр, 1978). Все сказанное может быть приложено к тем процессам, которые мы наблюдаем в органах при введении в организм фторуглеродных эмульсий. Действительно, при попадании в кровотоки частицы ПФОС как чужеродные захватываются тканевыми макрофагами, которые стремятся сконцентрировать неперевариваемый материал в макрофагальных агрегатах. Подобная картина описана Я.Карром (1978) в печени животных после внутривенной инъекции зимозана. При этом клетки агрегатов содержали чужеродный материал. Агрегация макрофагов в печени возникает и в ответ на введение больших доз синтетических кровезаменителей гемодеза (Самохин и соавт., 1981, 1984) и полиглобулина (Лушникова и соавт, 1972). Каким образом происходит формирование агрегатов из одиночных перфторофагов, пока не совсем ясно, однако можно предположить (используя ковенные признаки), что этому способствуют многочисленные макрофаги, пребывающие в ткани, очевидно, под воздействием факторов, стимулирующих моноцитопоз в костном мозге (Маянский Д., Маянский А., 1983; Фрейдлин, 1984). При этом пришедшие макрофаги адгезируются на ПФ. Не исключено, что они могут оказывать цитоплазматическое действие на ПФ, либо просто пассивно захватывают остатки погибших ПФ.

В любом случае вместе с обломками распавшихся перфторофагов другие захватывают перфторуглерод, частицы которого распределяются уже между группой макрофагов. Таким образом, образуется клеточный агрегат. Все агрегаты, как и одиночные ГФ, у животных окружены инфильтратами из макрофагов и лимфоцитов. Мы считаем, что они служат резервом для образующихся гранулем. В процессе гранулематоза из клеточных агрегатов мы наблюдали формирующиеся, цветущие и регрессивные фазы, по ходу которых частицы фторуглерода дробились между все новыми популяциями макрофагов.

По мере того, как общее количество фторуглерода в клетках уменьшалось, они становились все более активными в отношении метаболизма и других функций. В фазе регрессирующих гранул их клетки уже практически не содержат частиц ПФОС и имеют тенденцию к рассасыванию. На месте фторуглеродных гранул происходит полная регенерация паренхиматозных элементов без развития остаточного склероза.

Совершенно ясно, что только заверченный цикл гранулематозной реакции приводит к выведению накопленного в тканях ПФОС и восстановлению структуры органов. В тех случаях, когда процесс протекает с достаточно большой скоростью (эмульсия ПФД/ПМЦП) структура органов животных даже в случае применения массивных доз фторуглерода полностью восстанавливается через 6—8 месяцев эксперимента, однако в случае применения эмульсий на основе ПФТБА и ПМЦП скорость гранулематозной реакции низкая: даже через 12—18 месяцев в тканях еще обнаруживается большое количество агрегатов из ПФ. Как пишет Clark et al. (1974), в случае применения в качестве кровезаменителя эмульсии ПФТБА не хватает всей жизни животного, чтобы избавиться от кумулирующегося в организме фторуглерода.

Заключение

Таким образом, исследование элементов СМФ, накапливающих частицы ПФОС после введения массивных доз фторуглеродных эмульсий, показало, что в органах, длительно кумулирующих фторуглерод, возникает гранулематозная реакция, способствующая выведению этих веществ из организма и рассматриваемая нами как защитноприспособительная. Морфологическое исследование органов, кумулирующих ПФОС, приближает нас к пониманию механизма выведения фторуглерода, что, вероятно, связано со сменой клеточных популяций макрофагов в гранулемах с последующим выведением клеток, несущих мельчайшие частицы ПФОС по главному пути выведения — легким.

Глава VII. Реакция органов и тканей на массивное повторное кровезамещение эмульсиями ПФОС

Создание новых лекарственных препаратов любого класса всегда сопровождается постановкой различных модельных ситуаций будущего применения данного лекарства. Кровезамещающий препарат (на основе фторуглеродной эмульсии ПФД/ПМЦП), многократно испытанный при массивной однократной кровопотере у различных животных, в реальных условиях клиники может быть применен неоднократно и в достаточно больших дозах. В литературе достаточно подробно освещен опыт многократного плеторического введения небольших доз кровезаменителей подобного типа на основе перфторорганических соединений (ПФОС), который указывает на отсутствие повреждающего, алергизирующего, тератогенного действия (Голубев и соавт., 1984; Kohno et al., 1978; Makowski et al., 1978; Watanabe et al., 1978). В то же время, эксперименты по повторному массивному кровезамещению фторуглеродными эмульсиями описаны лишь в работе E. Blaschke et al., (1977), где авторы при помощи патофизиологических методов исследования показали изменение важнейших функциональных параметров: артериального давления, напряжения газов крови, ионного состава плазмы у крыс.

Нашей задачей стало отражение результатов комплексного морфологического и цитологического исследования экспериментальных животных в условиях двукратного замещения крови фторуглеродной эмульсией на основе ПФД/ПМЦП. Для экспериментов использовали 20 крыс-самцов линии «Вистар», которым по схеме в течение одного месяца проводили замену 60—65% ОЦК эмульсией. В контрольной группе из 15 животных аналогичную замену ОЦК проводили белково-солевым раствором.

I партия	Замещение		1 сут.		1 сут.	
II партия	60% ОЦК		3 сут.		3 сут.	Забой
III партия	ПФД/ПМЦП	интервал	7 сут.	интервал	7 сут.	
IV партия			14 сут.		14 сут.	

Погибших в исходе опыта животных и забитых в различные сроки эксперимента подвергли аутопсии с последующим извлечением и взвешиванием органов. Отобранные кусочки головного мозга, сердца, печени, почек, селезенки, лимфоузлов, кишечника, надпочечников, щитовидной железы, семенников обезвоживали по общепринятым методикам и окрашивали гематоксилин-эозином по Ван—Гизону, по Альферту — Гешвинду для определения суммарного белка. Оценка интенсивности гистохимических реакций проводили полуколичественно-

но с помощью окулярной системы Г.Г. Автандилова по методу Г.А. Чекаревой и соавт. (1982). Достоверность полученных результатов биогистометрических исследований оценивали по критерию Стьюдента.

Все животные в первых двух партиях контрольной группы после повторного кровезамещения погибли; опытные — остались живы. При аутопсии погибших крыс найдены обширные ателектазы в ткани легких, точечные геморрагии в слизистых и серозных оболочках, острое венозное полнокровие внутренних органов с отеком стромы. Гистологически: секвестрация крови в сосудах микроциркуляторного русла, гиалиновые тромбы, диапедезные геморрагии. Гистохимически отмечали исчезновение гликогена из паренхиматозных элементов органов и резкое повышение активности СДГ, ЛДГ, НАД-Н тетразолий редуктазы, некоторое повышение активности КФ. У опытных животных 1-й партии были отмечены признаки резко выраженного артериального малокровия. Наряду с этим, в сосудах микроциркуляторного русла внутренних органов мы наблюдали явление венозного застоя и стаза крови. Строма органов чаще выглядела отечной. В веществе головного мозга (преимущественно коре) наблюдались мелкие очаговые повреждения нейронов с регрессивными изменениями глиальных элементов. Сердечная мышца макроскопически выглядела бледно-серой и дряблой с участками неравномерности кровенаполнения. Гистологически: отмечены большие участки эозинофилии и гомогенизации кардиомиоцитов без клеточной реакции. В перикапиллярных пространствах выявлялись скопления полинуклеарных лейкоцитов. В легких макроскопически отмечена мозаичность структуры, которая гистологически представляла собой участки дистелектаза и викарной эмфиземы. Межальвеолярные перегородки выглядели утолщенными из-за густой инфильтрации полинуклеарными лейкоцитами с примесью эозинофилов. В просвете альвеол находились немногочисленные эритроциты и крупновокуолизованные макрофаги, которые являются типичными ПФ. В почках со стороны специализированной паренхимы наблюдались признаки резко выраженной зернистой и гиалиново-капельной дистрофии эпителия извитых канальцев, отек полости капсулы многих клубочков, в которых были видны эритроциты. Среди клубочковых капилляров в строме мезангия у всех животных опытной группы отмечали появление типичных ПФ с мелковакуолизированной цитоплазмой. В печени гистологически наблюдали умеренно выраженную дисконкомплексацию долек с резко выраженной зернистой дистрофией гепатоцитов, с резко выраженной очаговой гиалиново-капельной дистрофией; а у некоторых особей очаговый коагуляционный некроз без признаков клеточной реакции. В синусоидах печени отмечается инфильтрация полинуклеаров подобно другим вышеописанным органам, а большинство клеток Купфера выглядят резко набухшими и содержат крупные бесцветные вакуоли частиц ПФОС. В селезенке животных этой партии выражена гиперплазия лимфоцитов в «В»-зависимых зонах белой пульпы и гиперплазия макрофагов в синусах, многие из которых имеют вид типичных

ПФ. Со стороны органов эндокринной системы отмечены признаки их стрессорной трансформации: очаговая делипоидизация коркового слоя надпочечников, отсутствие признаков резорбции коллоида щитовидной железы: снижение процессов сперматогенеза в семенниках. Следует отметить, что в строме коркового слоя надпочечников (а именно их сетчатой зоне) отмечались скопления ПФ с мелковакуолизированной цитоплазмой.

В последующих партиях опытной группы крыс кровенаполнение сосудов постепенно восстанавливается и даже отмечаются признаки артериальной гиперемии (в III и IV партиях). Исчезают отек и стрессорная трансформация эндокринных органов; полностью восстанавливается структура кардиомиоцитов, воздушность легочной ткани. Однако даже через 14 суток после повторного кровезамещения (IV партия) мы наблюдали очаговую дисконкомплексацию и зернистую дистрофию эпителия извитых канальцев почек. Описанные выше участки коагуляционного некроза в печени уже во второй партии крыс стали очагами асептического воспаления и содержали эритроциты, множество полинуклеарных лейкоцитов и ПФ с мелковакуолизированной цитоплазмой. У всех крыс контрольной группы, оставшихся в живых, были найдены сходные изменения, однако выраженные более резко.

При гистохимическом и гистоэнзимохимическом исследовании некоторых внутренних органов было обнаружено практически полное исчезновение гликогена в клетках миокарда, печени, почечных канальцев (1-я партия). Содержание его затем постепенно восстанавливалось. Мы наблюдали выраженное достоверное снижение активности СДГ и НАД-Н тетразолий редуктазы с одновременным повышением активности ЛДГ в кардиомиоцитах, печени, почках, головном мозге. Наиболее значительные отклонения от нормы имеются у крыс II-й партии. Впоследствии активность всех исследуемых ферментов постепенно восстанавливается, не достигая, однако, уровня интактных животных даже через две недели.

Описанное выше явление накопления в некоторых органах (печени, селезенке, лимфоузлах) крыс опытной группы крупных вакуолизованных макрофагов с частицами ПФОС характерно только для опытных животных. Мы провели гистометрический подсчет объемной доли, занимаемой ПФ в печени и селезенке животных всех четырех партий, которым было проведено однократное замещение 65% ОЦК той же эмульсией. Результаты исследований показывают более высокий объем, занимаемый ПФ в органах крыс, получивших повторное замещение крови фторуглеродной эмульсией. Кроме того, снижение этого объема у них происходит более постепенно и длительно в отличие от животных с однократным кровезамещением.

Аналогичная динамика изменений массы печени и селезенки прослежена нами при определении весовых индексов органов. При этом масса печени и селезенки возрастает до более значительной величины, снижаясь впоследствии более плавно и медленно.

Как и у животных с однократным кровезамещением, при повторном введении больших доз эмульсии ПФД/ПМЦП наблюдалась картина эволюционной трансформации перфторфагов, которая заключалась вначале в формировании агрегатов из этих элементов, а затем в развитии гранулематоза, достаточно подробно описанного выше. При этом процесс образования агрегатов из ПФ отмечены значительно раньше (по сравнению с однократным кровезамещением) — уже через 2-е суток. У животных II-й и III-й партий наблюдалась очень разнообразная картина, отражающая как стадию инфильтрации печени и селезенки одиночными ПФ, так и стадию выраженной агрегации. При этом вокруг агрегатов отмечалось явление сателлитоза из лимфоцитов, макрофагов, единичных эозинофилов. В последней IV партии крыс мы наблюдали начальные признаки образования гранулем, которые появляются в периферической зоне лимфатических фолликулов селезенки и перипортальной зоне печеночных долек.

Обсуждая полученные результаты, необходимо прежде всего остановиться на причине наиболее тяжелых изменений в органах контрольной и опытной групп крыс, в том числе приведших часть контрольных животных к смертельному исходу. Общий характер этих изменений, связанных с нарушениями общего и периферического кровообращения, перераспределения крови и стрессорной трансформации эндокринных органов, а также тяжелыми дистрофическими и некробиотическими процессами в паренхиме многих органов, говорят об анемической гипоксии как ведущем механизме их возникновения. Подобные изменения описаны в монографии И.Р. Петрова и Г.Ш.Васадзе (1972), занимающихся изучением острой кровопотери в эксперименте. Подтверждением этой точки зрения служит морфофункциональная характеристика некоторых ферментов (СДГ, ЛДГ, НАД-Н и НАДФ-Н тетразолий редуктаз), отражающая угнетение тканевого дыхания и активацию гликолитических процессов в сердце, печени, почках крыс после повторного массивного кровезамещения эмульсией ПФД/ПМЦП. Подобные данные при изучении биохимических показателей плазмы крови при массивных кровезамещениях ОЦК эмульсией на основе ПФТБА, получили Н.И. Афонин и соавт. (1980).

Процесс кумуляции частиц ПФОС в элементах СМФ имеет сходные черты с аналогичными процессами при однократной кровопотере. Обращает на себя внимание лишь один факт, который не имел места у животных с однократным кровезамещением. В мезангии почечных клубочков при повторной массивной кровезамещении появлялись ПФ. Отмечалось и (по сравнению с однократной кровезамещением) увеличение объемной доли перфторфагов в органах. С этим же, по-видимому, связано увеличение массы печени и селезенки. Мы расцениваем такую «аномальную» локализацию ПФ в мезангии почечных клубочков как проявление повышенной проницаемости сосудов при действии гипоксии, тем более, что наряду с макрофагами в мезангии находились эритроциты. Увеличение объемной доли ПФ в органах связано скорее

всего с увеличением суммарной дозы ПФОС, введенного в организм при повторных кровезамещениях; тем более, что эти соединения обладают кумулятивным эффектом. Наконец, изменение динамики агрегатообразования и последующего гранулематоза ПФ связано с наложением друг на друга различных по направленности процессов: накопления и выведения частиц фторуглеродов из организма.

Динамика изменений периферической крови из костного мозга после повторного кровезамещения эмульсией ПФД/ПМЦП

а) Клеточный состав периферической крови

Через 1 сутки после повторной кровезамещения развивалась анемия, интенсивность которой возрастала в последующие двое суток, когда число эритроцитов в 1 мкл крови составило 1,0 млн. В последующие дни количество эритроцитов возрастало и к концу 2 недели достоверно не отличалось от исходного. Количество лейкоцитов в течение 2 недель после повторного кровезамещения оставалось в пределах нормы. На 7 и 14 сутки наблюдался тромбоцитоз (содержание тромбоцитов в 1 мкл крови возросло соответственно в 1,9 и 2,1 раза (табл. 25).

Таблица 25

Клеточный состав периферической крови крыс в различные сроки после повторного замещения 60% массы крови эмульсией ПФД /ПМЦП ($M \pm m$)

Срок после замещения	Эритроциты ($\times 10^6$ /мкл)	Лейкоциты ($\times 10^3$ /мкл)	Тромбоциты ($\times 10^9$ /мкл)
Контроль до замещения	$5,37 \pm 0,36$	$5,59 \pm 0,83$	$326,9 \pm 42,8$
1 сутки	$1,99 \pm 0,18^*$	$5,80 \pm 0,48$	$356,6 \pm 6,82$
3 суток	$1,08 \pm 0,27^*$	$4,70 \pm 0,55$	$333,4 \pm 31,5$
7 суток	$2,84 \pm 0,18^*$	$6,40 \pm 0,52$	$580,0 \pm 27,3^*$
14 суток	$4,15 \pm 0,43$	$5,26 \pm 0,29$	$655,0 \pm 44,3^*$

Примечание: * Достоверно по отношению к контролю ($P \leq 0,05$).

В соотношении различных форм лейкоцитов отмечены следующие изменения: в 1—3 сутки обнаруживались метамиелоциты (0,6 — 0,5%), относительный нейтрофилез (за счет палочкоядерных и сегментоядерных форм), особенно выраженный через 24 ч после повторного замещения — процент палочкоядерных нейтрофилов превысил исходный в 4 раза, сегментоядерных — в 3 раза. Одновременно в 1,5 раза снижалось процентное содержание лимфоцитов, а моноцитов, напротив, возросло в 2,5 раза. В течение 7 суток обнаруживались вакуолизированные моноциты — до 3,5%. Относительный нейтрофилез и лимфопения сохранялись до конца 2 недели после опыта (табл. 26).

Таблица 26

Лейкограмма периферической крови крыс в различные сроки после повторного замещения 60% массы крови эмульсией ПФД/ПМЦП (M±m)

Срок после замещения	Нейтрофилы, %			Лимфоциты, %	Моноциты, %	Эозинофилы, %	Базофилы, %	Вакуолизированные клетки, %
	миелоциты	мета-миелоциты	палочкоядерные					
Контроль до замещения	-	-	2,5±0,3	10,0±2,0	86,5±3,8	0,7±0,1	0,2±0,1	-
1 сутки	-	0,6±0,2	10,0±1,5*	30,6±5,3*	54,0±7,3*	2,0±0,5*	-	2,6±0,4*
3 суток	-	0,5±0,2	4,6±0,7*	19,3±1,9*	70,6±2,0*	1,3±0,3	0,2±0,1	3,4±0,3*
7 суток	-	-	8,0±1,2*	20,0±2,3*	69,0±3,4*	1,0±0,2	-	2,0±0,1*
14 суток	-	-	8,0±0,6*	21,4±2,4*	69,8±4,0*	0,7±0,3	0,3±0,2	-

Примечание: * Достоверно по отношению к контролю — $P \leq 0,05$.

б) Клеточный состав костного мозга

В 1 сутки после повторного кровезамещения в миелограмме крыс отмечалось повышение процентного содержания недифференцированных бластов в 2,9 раза, процент миелоцитов снижался в 3,2 раза, метамиелоцитов — в 1,9 раза. Несколько повышалось содержание нормобластов, эритробластов и палочкоядерных нейтрофилов ($P > 0,05$). В сроки 3 и 7 суток процент недифференцированных бластов и миелоцитов был достоверно ниже исходного, содержание метамиелоцитов превышало первоначальное в 1,5 раза. Обнаруживались единичные макрофаги с вакуолизированной цитоплазмой. Кроме того, на 7 сутки наблюдалась нейтропения (за счет сегментоядерных форм), лимфопения (процент лимфоцитов снизился в 1,9 раза), эозинофилия. К концу 2 недели после опыта выявлено пониженное содержание миелоцитов и метамиелоцитов, сохранялся нормобластоз (табл. 27).

Таблица 27

Клеточный состав костного мозга крыс в различные сроки после повторного замещения 60% ОЦК эмульсией ПФД/ПМЦП (M±m)

Показатель миелограммы, %	Контроль до замещения	1 сутки	3 суток	7 суток	14 суток
Недифференцированные бласты	4,1±0,2	12,3±1,3*	2,6±0,3*	2,0±0,4*	7,0±1,2
Нейтрофильные:					
промиелоциты	0,2±0,1	—	0,4±0,1	—	—
миелоциты	6,4±0,4	2,0±0,4*	3,5±0,5*	3,6±0,3*	1,0±0,4*
метамиелоциты	6,7±0,7	3,4±0,3*	10,1±1,9	10,7±0,6*	4,3±0,5*
Палочкоядерные нейтрофилы	8,5±0,8	12,0±1,3	9,5±1,7	8,5±1,7	5,8±1,2
Сегментоядерные нейтрофилы	11,3±1,1	10,0±1,4	8,6±0,7	5,0±0,4*	10,2±1,4
Эритробласты	1,9±0,2	3,0±0,4	1,6±0,2	3,6±0,3*	2,3±0,7
Нормобласты	16,8±1,8	21,0±0,7	18,1±1,4	39,0±3,8*	34,6±3,1*
Лимфоциты	40,6±4,7	34,5±2,7	42,2±5,6	21,0±0,5*	33,0±5,3
Моноциты	—	0,3±0,1	0,6±0,3	0,5±0,2	—
Эозинофилы	2,2±0,3	—	2,6±0,6	6,0±0,7*	2,6±0,4
Вакуолизированные клетки	—	2,0±0,4*	1,3±0,3*	1,2±0,4*	0,8±0,4

Примечание: * Достоверно по отношению к контролю ($P \leq 0,05$).

в) Цитохимическая характеристика палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов периферической крови: содержание гликогена, а также активность НЭ и ЩФ достоверно не отличались от исходных. Активность пероксидазы в 1 сутки снижалась на 23%, в остальные дни находилась на уровне первоначальной.

г) Цитохимическая характеристика палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов костного мозга: содержание гликогена оставалось в пределах нормы. На 3 сутки активность НЭ снижалась на 16%, в последующие дни СЦК оставался сниженным ($P > 0,05$). Активность ЩФ на 3—7 сутки составляла 80% от исходной, к концу 2 недели активность фермента достоверно не отличалась от первоначальной. Активность пероксидазы также снижалась: через 24 часа — на 42%, через 3 суток — на 19%. Нормализация ферментативной активности наблюдалась к 7 суткам.

Итак, повторное замещение 60% массы крови эмульсией ПФД/ПМЦП сопровождалось анемией, наблюдаемой до 7 суток после опыта; содержание лейкоцитов и тромбоцитов в 1 мкл крови в первые 3 суток достоверно не изменялось, на 7 и 14 сутки обнаруживался тромбоцитоз.

В лейкограмме отмечались нейтрофилез, лимфопения, моноцитоз. В течение первых 7 суток после опыта в периферической крови крыс обнаруживались моноциты с вакуолизированной цитоплазмой.

В клеточном составе костного мозга в 1 сутки после кровезамещения повышалось содержание недифференцированных бластов, процент молодых форм белого ряда снижался. В последующие дни (до 14 суток) содержание недифференцированных клеток снижалось, наблюдался нормобластоз. На 7 сутки определялась нейтропения, процент эритробластов достоверно повышался. На протяжении всего периода наблюдения в костном мозге обнаруживались вакуолизированные макрофаги. Изменения цитохимических показателей заключались в снижении активности НЭ на 3 сутки в нейтрофилах костного мозга, ЩФ — на 3—7 сутки в нейтрофилах костного мозга; пероксидазы — в 1 сутки в клетках крови и костного мозга.

Таким образом, изменения гемопоэза и цитохимических показателей крыс после повторного кровезамещения эмульсией ПФД/ПМЦП в целом аналогичны таковым при однократном замещении крови эмульсиями ПФОС, в частности эмульсией ПФД/ПМЦП.

Заключение

Перфторорганические соединения, которые могут быть использованы в качестве основы газопереносящих эмульсий — кровезаменителей, должны быть подобраны с учетом их физико-химических свойств, важнейшие из которых: температура кипения, давление паров, температура растворимости в гексане, молекулярный вес. Общим свойством

для всех ПФОС является абсолютная химическая инертность; в биологических жидкостях не происходит растворение или взаимодействие их с фторуглеродами. Все фторуглероды, применяемые в настоящее время отечественными исследователями (ПФТБА, ПМЦП, ПФД), обладают примерно одинаковой способностью растворять газы крови: около 190 об% углекислого газа и 50 об% кислорода.

Поскольку чистые перфторорганические жидкости являются гидрофобными веществами и при введении в кровоток вызывают эмболию мелких сосудов легких, они могут использоваться в кровеносном русле только в качестве мелкодисперсных эмульсий. Вследствие увеличения вязкости этих эмульсий по мере повышения концентрации ПФОС, в практике чаще всего пользуются 10—12% эмульсиями фторуглерода. Производство устойчивых в кровотоке перфторуглеродных эмульсий в настоящее время налажено с помощью гомогенизаторов высокого давления. В состав этих эмульсий, как правило, входят ПФОС, поверхностно-активное вещество (Проксанол или Плурионик-68), онкотический агент (донорский альбумин, Оксигилированный крахмал) и состав солей, поддерживающий осмотическое давление. Величина частиц эмульсии должна находиться в пределах 0,1—0,2 мкм, так как более крупные частицы ухудшают свойства препарата.

Перфторорганические вещества либо эмульсии, составленные на их основе, обладающие физической и химической инертностью, тем не менее не являются биологически инертными соединениями. Они участвуют в трансформации биологических клеточных мембран, воздействуют на терминальные участки цепи тканевого дыхания в цикле Кребса, кроме того, частицы фторуглеродов захватываются элементами СМФ различных органов и задерживаются в них более или менее длительное время.

Несмотря на отмеченное воздействие ПФОС на биологические системы, в паренхиме жизненно важных органов отсутствовали признаки дистрофических или некротических изменений при дробном введении малых доз препарата (тесты на «острую» и «хроническую» токсичность). Токсичность фторуглеродных препаратов рассматривали в сравнении с контрольным белково-солевым раствором, также не обладающим повреждающим действием на органы и ткани. Наблюдаемое при этом как у контрольных, так и опытных животных явление гиперплазии лимфоцитов в «В» зависимых зонах органов иммунной системы связано, вероятнее всего, с первичным иммунным ответом на присутствующий в эмульсии альбумин. К «специфическому» проявлению, свойственному фторуглеродным эмульсиям, относится макрофагальная реакция, возникающая в строме лимфо-ретикулярных органов буквально в первые же часы после внутривенного введения эмульсий ПФОС. Реакция заключается в диффузной инфильтрации печени, селезенки, лимфатических узлов, костного мозга, вилочковой железы, надпочечников, островкового аппарата поджелудочной железы крупными макрофагами; некоторые из них содержали в цитоплазме мельчайшие

оптически прозрачные округлые вакуоли. Гистохимический анализ содержимого цитоплазматических вакуолей показал присутствие в них химически инертного вещества, не дающего реакции на четыре основных соединения, присутствующих в биологических системах: суммарные белки, липиды, полисахариды и нуклеиновые кислоты. Указанный состав реакций можно считать своеобразным гистохимическим тестом для выявления макрофагов, содержащих в цитоплазме частицы ПФОС или перфторофагов. Макрофагальная реакция, возникающая в тканях, постепенно ослабевает и уже через 10 суток после начала эксперимента значительно ослабевает. При этом фагоцитирующие клетки образуют немногочисленные и небольшие по размерам клеточные агрегаты, состоящие из крупных вакуолизированных перфторофагов. Через 1 месяц после начала эксперимента количество агрегатов резко уменьшается и в последующем они не обнаруживаются.

Моделью, максимально приближенной к реальным условиям клиники, служит однократная массивная (около 70% объема циркулирующей крови) кровопотеря с последующей инфузией фторуглеродных эмульсий. Для сравнения у животных контрольной группы производили замену крови белково-солевым раствором. В ранний постперфузионный период (до 14 суток после начала эксперимента) в паренхиматозных клетках внутренних органов контрольных животных развиваются тяжелые дистрофические изменения, постепенно исчезающие лишь к 14-м суткам эксперимента. Отмечается почти полное исчезновение гликогена в клетках миокарда и печени, резкое угнетение активности ферментов тканевого дыхания и активация анаэробного гликолиза, что говорило о гипоксическом характере процессов. В органах животных, которым переливали в качестве кровезаменителя эмульсии ПФОС, наблюдались нерезко выраженные дистрофические изменения по типу зернистой дистрофии, исчезающие через 3—5 суток. Гистохимические изменения со стороны ферментов тканевого дыхания аналогичны таковым у контрольных животных, однако снижение активности их незначительно ($P > 0,05$) и наблюдается только в течение 1-х суток эксперимента. Как и в случае плеторического внутривенного введения небольших доз фторуглеродной эмульсии, при однократной массивной замене крови в органах и тканях появляется большое количество перфторофагов, нагруженных частицами фторуглерода. Особенно большое количество их отмечается уже через 24 часа в красной пульпе селезенки. Перфторофаги в данном случае имеют значительно большие размеры и крупновокуолизированную оптически прозрачную цитоплазму. Гистохимический тест показал содержание инертных частиц в цитоплазме клеток. Вокруг ПФ, располагающихся в органах рассеянно, на 3—10 сутки формируется лимфоидномacroфагальная инфильтрация, которая сохраняется позднее вокруг клеточных агрегатов из мелковакуолизированных ПФ. С течением времени общее количество макрофагов, имеющих вакуолизированную цитоплазму, уменьшается, причем наиболее быстро у животных, получивших

эмульсии на основе ПФД/ПФТБА и ПФД/ПМЦП. При этом органы животных после переливания последней — через 6—8 месяцев не содержат перфторофагов. В то же время в печени и селезенке животных, получивших эмульсии ПФТБА и ПМЦП, макрофаги с частицами фторуглерода наблюдались через 18 и 24 месяца после кровезамещения. Чем больше доза введенного фторуглерода, тем большее количество его кумулируется элементами системы МФ и более длительно выводится из организма.

Введенная в кровяной ток перфторуглеродная эмульсия циркулирует около 3-х суток. Длительность циркуляции зависит, главным образом, от свойств эмульгатора (поверхностно-активного вещества) и размера частиц самой эмульсии. За время циркуляции из кровотока выводится примерно 40% ПФОС; остальное количество фторуглерода захватывается тканевыми макрофагами и гепатоцитами. Поверхностно-активное вещество выделяется почками, а остальные компоненты: альбумин, соли, глюкоза подвергаются метаболизму. Большая часть ПФОС удаляется из организма через легкие (в том числе те 40%, которые выводятся в течение 3-х суток после начала эксперимента). Установлено, что частицы фторуглерода, захваченные макрофагами легких из кровотока, экскретируются ими посредством механизма экзоцитоза в просвет альвеол. Предполагается, что они в дальнейшем выводятся с выдыхаемыми парами. Не исключено также, что аналогичным может быть механизм выведения частиц фторуглерода, захваченного макрофагами других органов, при том условии, что эти перфторофаги мигрируют в легкие после того, как покидают депозиты в органах. Подробный и точный механизм выведения ПФОС из организма пока что не выяснен, хотя известны факторы, влияющие на длительность кумуляции вещества в тканях. К этим факторам относятся химическая структура молекулы, температуры растворимости фторуглерода в гексане, величина давления паров и некоторые другие.

Одним из основных моментов в механизме выведения фторуглерода, захваченного тканевыми макрофагами, является реакция гранулематоза, возникающая в стромах органов после применения всех видов фторуглеродных эмульсий. Обычно гранулематозный процесс начинается после возникновения одиночных крупновокуолизированных макрофагов с образованием узелковых агрегатов, состоящих из 5—10 ПФ с мелковакуолизированной светло-базофильной цитоплазмой. Как в момент формирования этих агрегатов, так и позднее в момент образования гранулем, вокруг них обнаруживается лимфоидно-макрофагальный инфильтрат и тонкий аргирофильный каркас из ретикулярных волокон. Через 1—2 месяца (у животных с эмульсиями ПМЦП и ПФД/ПМЦП) или через 6—8 месяцев (у эмульсий на основе ПФТБА и ПФД/ПФТБА) на месте сформированных агрегатов образуются эпителиоидно-клеточные гранулемы, которые проходят ряд стадий: формирующейся, цветущей и регрессирующей гранулемы. Скорость и интенсивность гранулематозной реакции наиболее высока у животных после применения

эмульсий на основе ПМЦП и ПФД/ПМЦП. Именно с использованием этих препаратов процесс гранулематоза приводит к полному исчезновению из органов вакуолизованных перфторофагов. У эмульсий на основе ПФТБА и ПФД/ПФТБА процесс гранулематоза протекает вяло, и не все фторуглеродные агрегаты превращаются в гранулемы. Конечным этапом гранулематоза в органах является полное рассасывание гранулем, находящихся до этого в стадии регрессии. По мере эволюции гранулем клеточный состав в них претерпевает значительные изменения. Так, эпителиоидно-клеточные гранулемы сменяются полиморфно-клеточными, а затем мономорфно-клеточными, состоящими из мелких лимфоцитоподобных элементов. Даже многомесячное и тщательное исследование большого количества экспериментальных животных, которым производили массивное кровезамещение различными видами фторуглеродных эмульсий, не выявило наличие некроза в центре гранулем и их склерозование в терминальной стадии. Структура органов, длительное время содержащих перфторофаги и агрегаты из них, после регресса гранулем не отличалось от таковой у интактных и контрольных животных. Гистохимическое исследование отдельных перфторофагов, агрегатов из них и гранулем, формирующихся на месте агрегатов, выявило очень низкий уровень клеточного метаболизма в отдельных ПФ (реакции на выявление суммарного белка, нуклеиновых кислот, липидов, полисахаридов были ослаблены, а активность окислительно-восстановительных и гидролитических ферментов — снижена). Уровень этих реакций был несколько выше в цитоплазме ПФ, составляющих агрегаты. В эпителивидных клетках гранулем уровень реакций на РНК и ДНК, липиды и полисахариды, суммарный белок, а также активность окислительно-восстановительных и гидролитических ферментов были высоки. Ретикулярный каркас вокруг перфторуглеродных агрегатов в гранулемах, как правило, подвергался деградации и полному распаду.

Модель двукратного массивного кровезамещения у животных дает возможность выяснить способность эмульсий фторуглеродов защищать жизненно-важные органы в условиях абсолютно смертельной кровопотери. При этом все контрольные животные погибли в ближайшие сроки после повторного кровезамещения солевым раствором. У животных опытной группы (замещение крови эмульсией ПФОС) были отмечены тяжелые дистрофические и некротические изменения в паренхиматозных клетках, которые впоследствии приводили к формированию очагового склероза. Общее количество макрофагов, содержащих включения ПФОС, было значительно увеличено по сравнению с органами животных, получивших однократную замену крови фторуглеродными эмульсиями. Кроме того, обращает внимание появление ПФ в органах, ранее свободных от них, например, в почечных клубочках, где одиночные крупновacuолизованные перфторофаги были обнаружены среди элементов мезангия в течение 10 суток эксперимента. В целом же, двукратная массивная замена крови эмульсиями ПФОС показала воз-

можность в экстремальной ситуации использования этих препаратов для возмещения повторной массивной кровопотери.

Эксфузия 60—70% массы крови крыс с последующим замещением ее эмульсиями ПФОС сопровождается в 1—3 сутки развития анемии, лейкоцитоза и тромбоцитопении. В лейкоцитарной формуле отмечаются ядерный сдвиг влево, нейтрофилез, лимфопения и моноцитоз. В последующие дни — до конца второй недели — происходит постепенное увеличение количества эритроцитов, содержание лейкоцитов снижается, развивается тромбоцитоз. В костном мозге наблюдаются повышение содержания нормобластов (первые 3 суток), нейтропения, лимфоцитоз и моноцитоз (от 3 до 14 суток).

Плеторическое введение эмульсии ПФД/ПМЦП крысам и кроликам не вызывает существенных изменений периферической крови и костного мозга животных. Введение в кровеносное русло фторуглеродных кровезаменителей сопровождается появлением в периферической крови нейтрофилов и моноцитов с вакуолизированной цитоплазмой, в костном мозге — вакуолизированных макрофагов (от 1,5 до 7%), которые содержат фагоцитированный фторуглерод. Отдельные вакуолизированные клетки обнаруживаются в периферической крови в течение первых 5—7 суток, в костном мозге — 1,5 года (эмульсия ПФТБА), при использовании эмульсии ПФД/ПМЦП — 4—6 месяцев. Признаков нарушения гемопоэза при этом не обнаружено.

Изменения цитохимических показателей палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов периферической крови и костного мозга крыс при замещении крови эмульсиями ПФОС заключаются в повышении содержания гликогена и активности неспецифической эстеразы, частичном снижении активности щелочной фосфатазы и пероксидазы, которое наблюдается в течение первой недели после опыта и связано, вероятно, с фагоцитозом частиц ПФОС.

Изменения клеточного состава и цитохимических показателей периферической крови и костного мозга однотипны при введении различных по химическому составу эмульсий ПФОС. Восстановление клеточного состава крови крыс после кровезамещения эмульсией ПФД/ПМЦП происходит к 10—14-м суткам, костного мозга — к концу месяца. При использовании эмульсий ПФТБА, ПФД клеточный состав крови нормализуется также к концу второй недели после опыта, костного мозга — через 6—8 недель после кровезамещения.

Изменения гематологических и цитохимических показателей крыс при повторных замещениях крови эмульсией ПФД/ПМЦП аналогичны таковым при однократном кровезамещении этой эмульсией.

Литература

1. Автандилов Г.Г. Морфометрия в патологии. — М.: Медицина, 1973. — 197 с.
2. Афонин Н.И., Розенберг Г.Я. Фторорганические соединения как кровезаменители — переносчики кислорода // Проблемы гематологии переливания крови. — 1979. — № 8. — С. 49—53.
3. Афонин Н.И., Доронина Н.Н., Смелова О.С., Иванова Н.Л., Путятин Т.К. Изменение активности ЛДГ и содержания пировиноградной кислоты в крови и тканях животных после внутривенного введения эмульсии ПФТБА // Вопросы медицинской химии. — 1980. — Т. 26. — № 2. — С. 185—187.
4. Афонин Н.И., Асъянов У.У., Сидяров Д.П., Козлов С.А., Киселев Е.Н., Зиновьев Ю.В. Противоишемическая защита печени с применением перфторуглеродной эмульсии // Гематология и трансфузиология. — 1989. — № 1. — С. 38—41.
5. Апросин Ю.Д., Сидяров Д.П., Рыболовлев Ю.Р. и соавт. Выведение некоторых перфторорганических соединений из органов крыс // Гематология и трансфузиология. — 1983. — № 4. — С. 44—48.
6. Апросин Ю.Д., Рыболовлев Ю.Р., Афонин Н.И. Исследование некоторых фармакинетических характеристик эмульсий фторуглеродов. // Медико-биологические аспекты применения эмульсий перфторуглеродов. Пушино: ОНТИ НЦБИ АН СССР, 1983. — С. 96—102.
7. Ахсянов У.У., Афонин Н.И., Волкова И.В., Монахова А.Г. Основные параметры гемодинамики, состояния газообмена и КЩР у собак с острой смертельной кровопотерей, замещенной эмульсией фторуглеродов // Медико-биологические аспекты применения эмульсией перфторуглеродов. Пушино: ОНТИ НЦБИ АН СССР, 1983. — С. 75—81.
8. Ахсянов У.У., Афонин Н.И., Троицкий В.Б. Динамика артериального давления и газообмен у собак с острой кровопотерей, замещенной эмульсией фторуглеродов // Гематология и трансфузиология. — 1983. — Т. 28. — № 4. — С. 41—44.
9. Абрамов М.Г. Гематологический атлас. — М.: Медицина, 1979. — 279 с.
10. Белянин В.Л. Организация медико-биологического эксперимента на животных // Труды Ленинградского научного общества патологоанатомов. — Л.: Медицина. — Вып. XXII. — 1981. — С. 20—23.
11. Белянин В.Л. Стандартизация лабораторных животных // Труды Ленинградского научного общества патологоанатомов. — Л.: Медицина. — Вып. XXII. — 1981. — С. 19—20.
12. Перфторированные углеводы в биологии и медицине // Перфторированные углеводы в биологии и медицине. Пушино: ОНТИ НЦБИ АН СССР, 1980. — С. 5—21.
13. ... и др. Применение перфторуглеродной кардиологии для защиты миокарда от ишемии // Вестн. АМН СССР. — 1986. — № 6. — С. 37—43
14. Бебнева Л.Б., Бойченко А.Е. Гистофизиология сердечно-сосудистой системы при острой кровопотере. // Кровообращение. — 1976. — Т. 9. — № 4. — С. 22—25.
15. Беркуцкая Т.С., Быков Э.Г., Леонов А.Н. Структурно-метаболическая характеристика миокарда при острой кровопотере и гипербарической оксигенации. // Архив патологии. — 1975. — Т. 37. — № 10. — С. 36—41.
16. Вагнер Е.А., Тавровский В.М. Трансфузионная терапия при острой кровопотере. — М.: Медицина, 1977. — 175 с.
17. Васильев А.Э. Морфологическая характеристика органов, накапливающих фторуглерод // Медико-биологические аспекты применения эмульсий перфторуглеродов. — Пушино: ОНТИ НЦБИ АН СССР, 1983. — С. 157—167.
18. Васильев А.Э., Голубев А.М. Эволюция макрофагальных гранул, кумулирующих ПФОС // Фторуглеродные газопереносящие среды. — Пушино: ОНТИ НЦБИ АН СССР, 1984. — С. 130—134.
19. Воробьев В.В., Шibaев Н.В., Барилко Ш.И. и соавт. Спектральный анализ электрической активности мозга крыс в условиях экспериментального замещения крови эмульсиями ПФОС. // Фторуглеродные газопереносящие среды. — Пушино: ОНТИ НЦБИ АН СССР, 1984. — С. 163—169.
20. Венглинская Е.А., Шубич М.Г. О значении щелочной фосфатазы нейтрофилов для их фагоцитарной функции // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 1972. — № 11. — С. 61—62.
21. Венглинская Е.А., Шубич М.Г. Цитохимическое изучение макрофагов крови кроликов в процессе фагоцитоза // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 1974. — № 1. — С. 88—91.
22. Вельш У., Шторх Ф. Введение в цитологию и гистологию животных: Пер. с англ. — М.: Мир, 1976. — 259 с.
23. Голубев А.М., Васильев А.Э., Шibaев Н.В., Маевский Е. И. и соавт. Морфологический анализ органов крыс после массивной замены крови эмульсией перфтортрибутиламина // Архив патологии. — 1982. — № 11. — С. 55—60.
24. Голубев А.М., Васильев А.Э. Патоморфологические исследования — критерий возможности использования фторуглеродных эмульсий в качестве кровезаменителей // Медико-биологические аспекты применения эмульсий перфторуглеродов. — Пушино: ОНТИ НЦБИ АН СССР, 1983. — С. 136—151.
25. Голубев А.М., Васильев А.Э., Покровский Ю.Э. Изучение влияния различных перфторуглеродных эмульсий на органы и ткани крыс // Краткие тезисы докладов 64-й научной сессии Астраханского медицинского института им. А.В. Луначарского. — Астрахань, 1983. — С. 32.

26. Голубев А.М., Васильев А.Э., Покровский Ю.Э. Оценка токсичности кровозаменителя «Фторосан» в эксперименте // Краткие тезисы докладов 65-й научной конференции медиков Астраханской области. — Астрахань, 1984. — С. 50.

27. Гласко Е.Н., Логинова Л.Н., Хохлова М.П. Сравнительные гистологические исследования в эксперименте действия различных перфторорганических соединений // Гематология и трансфузиология. — 1983. — № 4. — С. 49—52.

28. Гаврилов О.К., Афонин Н.И., Пивень И.Н. Искусственная кровь — новый этап в развитии современной трансфузиологии // Проблемы гематологии и переливания крови. — 1982. — № 10. — С. 3—8.

29. Гольдберг Е.Д., Степанова И., Карпова Г.В., Лапина ГН., Дыгай А.М. Цитохимическая характеристика гемопоэтических элементов лабораторных животных // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 1976. — № 5. — С. 612—614.

30. Гамбарян П.П., Дукольская А.Г. Крыса. Сборник для университетов. — М.: Советская наука, 1955. — С. 190.

31. Горизонтов П.Д., Белоусова О.И., Федотова М.И. Стресс и система крови. — М.: Медицина, 1983. — С. 240.

32. Гудимова Н.С., Мизулин Ф.Ф. Влияние гипотензии на активность гликолитических процессов в гомогенате печени кроликов при умирании после острой кровопотери // Терминальные и экстремальные состояния. Новосибирск: Новосибир. гос. мед. ин-т, 1980. — С. 60—62.

33. Гусенова Ф.М., Коновалова М.В., Иванова Н.Л., Апросин Ю.Д. и соавт. Изучение кроветворения у крыс в опытах с обменным замещением крови эмульсией перфтортрибутиламина // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 1979. — № 6. — С. 531—533.

34. Гусенова Ф.М., Ахсянов У.У., Матвиенко В.П., Бирюкова Е.Н. Реологические свойства крови и состояние микроциркуляции при экспериментальном введении эмульсии перфторорганических соединений в качестве кровезаменителя // Гематология и трансфузиология. — 1986. — № 12. — С. 29—32.

35. Доронина Н.Н., Терешина Е.В. Изучение липидного состава тканей крыс после введения поверхностно-активного вещества // Фторуглеродные газопереносящие среды. — Пушкино: НЦБИ ИБФ АН СССР, 1984. — С. 93—97.

36. Доронина Н.Н., Афонин Н.И. Изучение влияния фторуглеродной эмульсии на обмен веществ у животных // Биологически активные эмульсии в трансфузиологии. Материалы симпозиума 27—28 ноября 1980 г. М., 1981. — С. 21—22.

37. Ескунов П.Н., Семченко В.В. Морфологические изменения в миокарде после острой кровопотери с последующей реанимацией // Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. — 1982. — Т. 82. — № 1. — С. 53—58.

38. Зорькина Т.А. Ферменты тканевого дыхания печени крыс при острой кровопотере // Вопросы медицинской химии. — 1979. — Т. 25. — Вып. 5. — С. 534—537.

39. Иваницкий Г.Р., . О развитии фундаментальных и прикладных исследований по проблеме «Перфторуглероды в биологии и медицине в СССР» // Медико-биологические аспекты применения эмульсий перфторуглеродов. — Пушкино: НЦБИ ИБФ АН СССР, 1983. — С. 9—39.

40. Иваницкий Г.Р. и др. Эффект эмульсии перфторуглеродов на защитные свойства кардиоплегических растворов // Бюлл. эксперим. биол. и мед. — 1986. — 102 (8). — С. 183—185.

41. Иванов К.П. Физиологические основы клинического использования кислородпереносящих кровезаменителей // Гематология и трансфузиология. — 1989. — № 1. — С. 42—47.

42. Исламов Б.И., Шибаев Н.В., Бобровский Р.В. и соавт. Использование эмульсий для замещения крови в условиях эксперимента // Перфторированные углероды в биологии и медицине. — Пушкино: НЦБИ ИБФ АН СССР, 1980. — С. 114—118.

43. Исламов Б.И., Брустовецкий Н.Н., Янин В.А. и соавт. Замещение больших количеств крови эмульсией ПФОС // Медико-биологические аспекты применения эмульсий перфторуглеродов. — Пушкино: НЦБИ ИБФ АН СССР, 1983. — С. 57—67.

44. Исламов Б.И. Фторуглеродная кардиopleгия как защита миокарда от ишемии // Кардиология. — 1985. — 25, 12. — С. 97—100.

45. Казуева Т.В., Селезнев С.А. Энергетический обмен в печени и почках крыс в первые сутки после острой кровопотери // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 1980. — Т. 90. — № 7. — С. 30—32.

46. Карнаухова Н.А., Подрез Е.А. Влияние перфторуглеродов на нуклеиновые кислоты ядерных клеток крови в условиях искусственной оксигенации // Перфторированные углероды в биологии и медицине. — Пушкино: НЦБИ ИБФ АН СССР, 1980. — С. 103—106.

47. Касымходжаев Э.С., Аверьянова С.Г. Морфологические изменения в почках при введении синтетического плазмозамещающего раствора поливинила // Проблемы гематологии и переливания крови. — 1972. — Т. 17. — № 3. — С. 45—46.

48. Козинер В.Б., Коваленко Е.А. Напряжение кислорода в тканях мозга при острой кровопотере и лечение ее кровезаменителями и кровью // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. — 1964. — Т. 8. — № 1. — С. 56—58.

49. Козинер В.Б. Основные стороны механизма действия кровезаменителей и типичные ошибки при их применении // Гематология и трансфузиология. — 1983. — № 9. — С. 5—11.

50. Коваль Е.А., Маевский Е.И. Калиевая проницаемость и устойчивость эритроцитарных мембран при контакте с перфторирован-

ными углеродами // Перфторированные углероды в биологии и медицине. — Пушкино: НЦБИ ИБФ АН СССР, 1980. — С. 81—85.

51. Козлов С.А., Зиновьев Ю.В. Анаэробный гликолиз при тяжелой кровопотере // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. — 1976. — Вып. 3. — С. 65—67.

52. Крылов Н.Л., Маевский Е.И., Мороз В. В. Возможности и перспективы применения фторуглеродных эмульсий как заменителей крови на этапах медицинской эвакуации // Медико-биологические аспекты применения эмульсий перфторуглеродов. — Пушкино: НЦБИ ИБФ АН СССР, 1983. — С. 48—57.

53. Климанский В.А., Рудаев Я.А. Использование кровезаменителей при острой кровопотере // Сов. медицина. — 1979. — № 8. — С. 15—18.

54. Кузин М.И., Кайдаш А.Н. и соавт. Изолированная перфузия коронарных артерий фторуглеродной эмульсией при операциях на сердце с искусственным кровообращением // Медико-биологические аспекты применения эмульсий перфторуглеродов. — Пушкино: НЦБИ ИБФ АН СССР, 1983. — С. 102—116.

55. Лецкий В.Б. Цитохимические исследования лейкоцитов. Возрастные колебания цитохимических показателей // Методические рекомендации. — Л., 1973. — С. 36.

56. Лушникова Г.А., Дубовик Б.В., Шатурский К.С., Лушников Е.Ф. О побочных свойствах полимерных соединений, вводимых парентерально (поливинил-пиридин-оксид) // Фармакология и токсикология. — 1972. — № 3. — С. 363—366.

57. Львов С.Г., Покровский Ю.Э. Цитологическая и цитохимическая характеристика костного мозга при замещениях крови вторуглеродными эмульсиями // Медико-биологические аспекты применения эмульсий перфторуглеродов. — Пушкино: НЦБИ ИБФ АН СССР, 1983. — С. 172—175.

58. Маджидов М.Г. Морфология миокарда при кардиоплегии и коронарной перфузии: Канд. дисс. Махачкала, 1988.

59. Маевский Е.И. Биологические эффекты фторуглеродов и проксанолов // Перфторированные углероды в биологии и медицине. — Пушкино: НЦБИ ИБФ АН СССР, 1980. — С. 76—81.

60. Маевский Е.И., Шибяев Н.В., Канцов В.В. и соавт. Первый опыт получения крупных лабораторных партий эмульсий перфторуглеродов для экспериментальных и клинических целей // Медико-биологические аспекты применения эмульсий перфторуглеродов. — Пушкино: НЦБИ ИБФ АН СССР, 1983. — С. 39—48.

61. Макаров К.Н., Мирзабекянц Н.С., Снегирев В.Ф. и соавт. Синтез и физико-химические свойства перфторалкил- и 1,4-диалкилзамещенных циклогексанов // Перфторированные углероды в биологии и медицине. — Пушкино: НЦБИ ИБФ АН СССР, 1980. — С. 21—30.

62. Матвиенко В.П., Гусенова Ф.М. Патогенез нарушений микроциркуляции и реологических свойств крови при экспериментальном геморрагическом шоке // Проблемы гематологии и переливания крови. — 1981. — № 5. — С. 14—20.

63. Матвиенко В.П., Гусенова Ф.М. Состояние микроциркуляции при замещении крови эмульсиями фторуглеродов // Биологически активные эмульсии в трансфузиологии. Материалы симпозиума 27—28 ноября 1981 г. — М., 1981. — С. 14—16.

64. Матвиенко В.А., Гусенова Ф.М., Афонин Н.И., Оксина О.Э. Применение фторуглеродных эмульсий при экспериментальной терапии нарушений микроциркуляции и реологии крови при шоке и кровопотере // Медико-биологические аспекты применения эмульсий перфторуглеродов. — Пушкино: НЦБИ ИБФ АН СССР, 1983. — С. 81—85.

65. Мешалкин Е.Н., Сергиевский В.С., Нароушвили Т.И. и соавт. Гемодинамика и газовый состав крови при острой кровопотере до и после замещения эмульсиями ПФОС // Медико-биологические аспекты применения эмульсий перфторуглеродов. — Пушкино: НЦБИ ИБФ АН СССР, 1983. — С. 67—72.

66. Максимова С.М., Ненашев В.А., Образцов В.В. и соавт. Исследование сорбции поверхностно-активных веществ на границе раздела перфторорганическое соединение (ПФОС) — вода и анализ взаимодействия ПФОС с бислойнными липидными мембранами // Фторуглеродные газопереносящие среды. — Пушкино: НЦБИ ИБФ АН СССР, 1984. — С. 86—93.

67. Морозов В.В., Гендзелевская З.Н., Шибяев Н.С. и соавт. Экспериментальное обоснование лечения острой кровопотери кровезамещающими эмульсиями ПФОС и гипербарической оксигенацией // Там же. — С. 122—130.

68. Маянский Д.Н., Щербаков В.И. О восстановлении популяции клеток Купфера после нагрузки их инертным коллоидом // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 1981. — № 3. — С. 374—376.

69. Маянский А.Н., Маянский Д.Н. Очерки о нейтрофиле и макрофаге. Новосибирск: Наука, 1983. — С. 254.

70. Неменова Н.М., Хохлова М.П., Гласко Е.Н. Гистологическая характеристика действия различных эмульсий ПФОС в эксперименте // Биологически активные эмульсии в трансфузиологии. Материалы симпозиума 27—28 ноября 1980 г. — М., 1981. — С. 18—20.

71. Никитин В.Н. Атлас клеток крови сельскохозяйственных и лабораторных животных. Гос. издательство сельскохозяйственной литературы, 1949. — С. 48.

72. Образцов В.В., Тараховский Ю.С. Ультрафрагментация биологических мембран на поверхности тефлона и эмульсий перфторорганических соединений // Фторуглеродные газопереносящие среды. Пушкино: НЦБИ ИБФ АН СССР, 1984. — С. 152—156.

73. Образцов В.В., Приходкина Е.Т., Безбородников С.Н. и соавт. Связывание белков и фосфолипидов эмульсией перфторорганических соединений // Фторуглеродные газопереносящие среды. — Пушино: НЦБИ ИБФ АН СССР, 1984. — С. 147—152.

74. Петров Р.В. Иммунология. — М., Медицина, 1982. — 368 с.

75. Панченко С.М., Путятин Т.К., Мясникова О.В. и соавт. Влияние эмульсий фторуглеродов на систему свертывания крови // Медико-биологические аспекты применения эмульсий перфторуглеродов. — Пушино: НЦБИ ИБФ АН СССР, 1983. С. 85—90.

76. Панченко С.М., Афонин Н.И. Изменение факторов гемокоагуляции при воздействии на кровь эмульсии перфторированных органических соединений // Гематология и трансфузиология. — 1986. — № 10. — С. 36—38.

77. Петров И.Р., Васадзе Г.Ш. Необратимые изменения при шоке и кровяпотере // АМН СССР. — Л.: Медицина, 1972. — 253 с.

78. Петровский Б.В., Гусейнов Ч.С. Трансфузионная терапия в хирургии. — М., Медицина, 1971. — 280 с.

79. Пономарчук В.В., Павулсоне С.А. Изучение способности перфторорганических соединений индуцировать хромосомные мутации в культуре лимфоцитов периферической крови человека // Перфторированные углеводы в биологии и медицине. — Пушино: НЦБИ ИБФ АН СССР, 1980. — С. 100—103.

80. Покровский Ю.Э. Динамика содержания форменных элементов крови и их цитохимическая характеристика при массивных замещениях крови эмульсией ПФОС // Медико-биологические аспекты применения эмульсий перфторуглеродов, НЦБИ ИБФ АН СССР. — Пушино, 1983. — С. 167—172.

81. Путятин Т.К., Рыболовлев Ю.Р. Влияние ПФОС на тромбопластическую активность эритроцитов // Биологически активные эмульсии в трансфузиологии. Материалы симпозиума 27—28 ноября 1980 г. М., 1981. — С. 16—18.

82. Седова Л.А., Теодорович В.П., Чаплыгина З.А. Гистологические изменения в органах животных после введения эмульсий перфтортрибутиламина // Проблемы гематологии и переливания крови. — 1979. — № 8. — С. 21—24.

83. Седова Л.А., Домрачева В.С., Забалуева И.И. К токсикологической оценке перфторуглеродных соединений // Перфторированные углеводы в биологии и медицине. Пушино: НЦБИ ИБФ АН СССР, 1980. — С. 125—127.

84. Седова Л.А. Влияние эмульсий перфторуглеродных соединений на состояние периферической крови у крыс // Биологически активные эмульсии в трансфузиологии. Материалы симпозиума 27—28 ноября 1980 г. — М., 1981. — С. 13—14.

85. Седова Л.А. Влияние эмульсий перфторуглеродных соединений на состояние периферической крови у крыс // Проблемы гематологии и переливания крови. — 1982. — № 4. — С. 40—42.

86. Седова Л.А., Кузнецова И.Н., Домрачева В.С., Николаенко Л.Н. Лечение острой смертельной кровопотери у крыс эмульсиями перфторуглеродов в сочетании с плазмозаменителями // Медико-биологические аспекты применения эмульсий перфторуглеродов. — Пушино: НЦБИ ИБФ АН СССР, 1983. — С. 72—75.

87. Седова Л.А., Пятковская Н.Н., Николаенко Л.Н., Зарембо И.А. Защитно-приспособительная реакция организма при введении эмульсий перфторамина // Фторуглеродные газопереносящие среды. — Пушино: НЦБИ ИБФ АН СССР, 1984. — С. 169—173.

88. Седова Л.А. и др. Лейко- и тромбоцитопеническая реакция на интравенозное введение эмульсии перфторорганических соединений // Гематология и трансфузиология. — 1988. — 33, 11. — С. 45—48.

89. Самохин, Николаева С.С., Шим В.Ф. Морфофункциональные аспекты парентерального введения детям гемодеза и полиглобулина // Тезисы докладов научно-практической конференции «Особенности патоморфологической дифференциальной диагностики заболеваний у детей раннего возраста». Иркутск: Иркутский мед. институт, 1981.

90. Серов В.В., Пауков В.С. Ультроструктурная патология. — М.: Медицина, 1975. — 430 с.

91. Сидяров Д.П., Апросин Ю.Д., Афонин Н.И., Кнуныц И.Л. и соавт. Особенности выведения перфторсоединений различных классов с выдыхаемым воздухом после инфузий эмульсий на их основе // Гематология и трансфузиология. — 1983. — № 7. — С. 51—55.

92. Сковринская Е.В. Метаболизм печени при массивной кровопотере и ее возмещении // Вопросы медицинской химии. — 1978. — Т. 24. — Вып. 1. — С. 22—28.

93. Склифас А.Н. Газохроматографический анализ распределения и аккумуляции ПФОС в органах крыс после кровезамещения // Перфторированные углеводы в биологии и медицине. Пушино: НЦБИ ИБФ АН СССР, 1980. — С. 118—123.

94. Склифас А.Н., Шибяев Н.В., Брустовецкий Н.Н., Маевский Е.И. Содержание перфторуглеродов в органах животных после замещения массивных кровопотерь эмульсией ПФОС // Медико-биологические аспекты применения эмульсий перфторуглеродов. — Пушино: НЦБИ ИБФ АН СССР, 1983. — С. 90—96.

95. Смелова О.С. и др. Иммуномоделирующие свойства эмульсии перфторуглеродов. Гематология и трансфузиология. 1988, 33, 10, с.33—37.

96. Соколов С.С., Афонин Н.И., Божьев А.А. и др. О применении перфукола-кислородпереносящего кровезаменителя — при параллельной веноартериальной перфузии в эксперименте // Гематология и трансфузиология. — 1986. — № 7. — С. 53—56.

97. Степанян Е.П., Поспелова Е.П., Ярлыкова Е.И. и соавт. Экспериментальные данные по изучению влияния полиглобулина на метаболические процессы в организме // Экспериментальная хирургия и анестезиология. — 1970. — № 1. — С. 40—44.

98. Терешина Е.В., Доронина И.Н. Состав липидов, сорбируемых эмульсиями перфторсоединений в кровеносном русле // Гематология и трансфузиология. — 1986. — № 5. — С. 30—33.

99. Трахтенберг И.М., Сова Р.Е., Шефтель В.О., Оникиенко Ф.А. Показатели нормы у лабораторных животных в токсикологическом эксперименте. — М., 1978. — 176 с.

100. Туревский А.А., Малаков Д.А., Лагодский Я.В., Шаланда Т.И. Гистохимические изменения в печени под влиянием полиглюкина // Проблемы гематологии и переливания крови. — 1971. — Т. 16. — № 20. — С. 45—47.

101. Учитель И.Я. Макрофаги в иммунитете. — М.: Медицина, 1978. — 198 с.

102. Фрейдлин И.С. Система мононуклеарных фагоцитов. — М., Медицина, 1984. — 272 с.

103. Хмельницкий О.К., Медведев Ю.А. Патологоанатомические аспекты общего адаптационного синдрома // Архив патологии. — 1972. — № 12. — С. 62—72.

104. Хохлова М.П., Логинова Л.Н., Гласко Е.Н. Морфологическая оценка реакции системы мононуклеарных фагоцитов при введении различных перфторорганических соединений в эксперименте // Медико-биологические аспекты применения эмульсий перфторуглеродов. — Пушкино: НЦБИ ИБФ АН СССР, 1983. — С. 151—157.

105. Чаплыгина З.А., Кузнецова И.Н., Домрачева В.С. и соавт. Кислородотранспортные свойства эмульсий на основе перфтордекалина // Перфторированные углероды в биологии и медицине. — Пушкино: НЦБИ ИБФ АН СССР, 1980. — С. 123—125.

106. Чаплыгина З.А., Кузнецова И.Н. и соавт. Некоторые физико-химические и биологические свойства эмульсий на основе перфтордекалина // Проблемы гематологии и переливания крови. — 1982. — № 10. — С. 9—12.

107. Чернух А.М. Воспаление. — М., Медицина, 1979. — 447 с.

108. Шибаев Н.В., Попов В.И., Аллахвердов Б.Л. Ультраструктурный анализ внутриклеточного накопления и выведения перфторорганических соединений из организма животных // Медико-биологические аспекты применения эмульсий перфторуглеродов. — Пушкино: НЦБИ ИБФ АН СССР, 1983. — С. 175—186.

109. Шубич М.Г., Нечаев Б.С. Щелочная фосфатаза лейкоцитов в норме и патологии. — М., Медицина, 1980. — 224 с.

110. Ярочкин В.С., Козинер В.Б. Проблема создания «искусственной крови» на основе фторорганических соединений // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. — 1981. — № 3. — С. 78—87.

111. Ярочкин В.С., Козинер В.Б., Колонина И.Р., Афонин Н.И. Кислородное снабжение организма при полном замещении крови на фторорганические эмульсии // Гематология и трансфузиология. — 1983. — № 7. — С. 47—50.

112. Ambrose A. et al. The effects of fetal exchange transfusion with a red blood cell substitute. *Am.J.Obstet. — Gynecol.* — 1986. — 153,3. — P. 667—674.

113. Bainton D.F., Ulliyot J.L., Farguhar M.G. The developing of neutrophilic polymorphonuclear leukocytes in human bone marrow. Origin and content of azurophil and specific granules // *J.Exp. Med.* — 1971. — V. 134. — P. 907—934.

114. Bainton D.F. Sequential degranulation of the two types of polymorphonuclear leukocyte granules during phagocytosis of microorganisms // *J.Cell. Biol.* — 1973. — V. 58. — P. 249—264.

115. Baldwin J.M. Chelating agents as possible artificial blood substitutes // *Fed. Proc.* — 1975. — V. 34. — P. 1441—1443.

116. Biro G. et al. Perfluorocarbon blood substitutes // *CRS Crit. Rev. Oncol. Hematol.* — 1987. — 6,6. — P. 311—374.

117. Blaschke E., Novakova V. Partial-exchange transfusion with a perfluorochemical emulsion in the cat // *Res. perfluorochem. in medicine and biology. Proc., Symposium, 1977.* — Sweden. — P. 292—307.

118. Bruck S.D. Biological evaluation of biomaterials for cardiovascular applications: some current results // *Med. Programe Technol.* — 1977. — T. 5. — P. 51—56.

119. Чанг Т.М. Искусственные клетки: Пер. с англ. — Киев, Наукова думка, 1979. — 204 с.

120. Chang T.M. Semipermeable microcapsules // *Science.* — 1964. — V. 146. — P. 524—525.

121. Chang S. et al. Perfluorocarbon liquids in the management of traumatic retinal detachments // *Ophthalmology.* — 1989. — 96, 6. — P. 785—792.

122. Chang T. et al. Blood substitutes based on modified hemoglobin and fluorochemicals // *ASAIO Trans.* — 1987. — 33, 4. — P. 819—823.

123. Clark L.C., Collan F. Survival of mammals breathing organic liquids equilibrated with oxygen at atmospheric pressure // *Science.* — 1966. — V. 152. — P. 1755—1756.

124. Clark L.C. Properties of perfluorinated liquids // *Fed. Proc.* — 1970. — V. 29. — P. 1696—1820.

125. Clark L.C., Becattini F., Kaplan S., Obrock V., Cohem D., Becker C. Perfluorocarbons having a short dwell time in the liver // *Science.* — 1973. — V. 181. — P. 680—682.

126. Clark L.C., Wessler E.P., Miller M.L., Kaplan S. Ring versus strait perfluorocarbon emulsions for perfusion media // *Microvasc. Res.* — 1974. — V. 8. — P. 320—340.

127. Clark L.C., Wessler E.P., Kaplan S., Miller M.L., Becher C., Emory C., Stanley L. Emulsions of perfluorinated solvents for intravascular gas transport // *Fed.Proc.* — 1975. — V. 34. — № 6. — P. 1468—1477.

128. Clark L.C., Wessler E.P., Kaplan S., Emory C., Moor R., Denson D. Intravenous infusion of cis-trans perfluorodecalin emulsions in the Rhesus Monkey // *ACS Symp., Ser.* — 1976. — V. 28. — P. 135—170.

129. Clark L.C. Introduction // Proc.Symp. Res. on perfluorochem. in medicine and biology. — Sweden, 1977. — P. 309.
130. Clark L.C., Wesseler E.P., Denson D.D. Miller M.L. The infusion of emulsions of perfluorodecalin in the partly bled baboon // Proc.Symp. Res. on perfluorochem. in medicine and biology. — Sweden, 1977. — P. 10—31.
131. Clark L.C., Diver I.S., Miller M.L., Moor R.E. A new look at the vapor pressure problem in red cell substitutes // Proc. IV Int. Symp. on perfluorochem. blood subst. — Kyoto, 1978. — P. 55—67.
132. Clark L. et al. The nature of fluorocarbon enhanced cerebral oxygen transport // Adv. Exp. Med. Biol. — 1989. — 248. — P. 341—355.
133. Cline M.J., Colde D.W. A review and reevaluation of the histiocyte disorders // Amer. J. Med. — 1973. — V. 55. — P. 49—56.
134. Colman R.W., Chang L.K., Mukherji B., Sloviter H.A. Effects of a perfluoro erythrocyte substitutes on platelets in vitro and in vivo // J. Lab. Clin. Med. — 1980. — V. 95. — № 1. — P. 553—562.
135. Cotterell D.W. The production, purity and some properties of fluorocarbon liquids of value as oxygen solvents for medical applications // Pros. Symp. Res. on perfluorochem. in medicine and biology. — Sweden, 1977. — P. 32—41.
136. Daniel G.W., Stehen E.M. The mobilization and extracellular release of granules enzymes from human leukocytes during phagocytosis // J. Cell. Biol. — 1972. — V. 53. — P. 788—797.
137. Eriksson L.C., Elhammer A., Tomidal U.B. The study of biogenetic pathways using a perfusion technique containing perfluorochemicals // Proc. Symp. Res. on perfluorochem. in medicine and biology. — Sweden, 1977. — P. 160—184.
138. Endrich B., Newman M.M., Greenburg A.G., Intaglietta M. Fluorocarbon emulsions as a synthetic blood substitutes: effects on microvascular in the rabbit omentum // J. Surg. Res. — 1980. — V. 29. — № 6. — P. 516—526.
139. Fujita T., Suzuki C., Ogawa K. Effect of FL-DA on the R.E.S. function in surgical patients // Advances in blood substitute research. — New-York, 1983. P. 265—272.
140. Fukuschima K., Nokamura M., Hinuma K. Influence of FL-DA infusion on the complement activation and on the blood level of histamine in man // Advances in blood substitute research. — New-York, 1983. — P. 291—298.
141. Faithfull N.S., Feunema M., Essed C.E., Erdmann W., Ieekel H., Lapin R. Collateral oxygenation of the ischemic myocardium: the effect of viscosity and oxygen carrying fluorocarbons // Advances in blood substitute research. — New-York, 1983. — P. 229—236.
142. Faithfull N. et al. Protection against myocardial ischaemia by prior haemodilution with fluorocarbon emulsions // Br. J. Anaesth. — 1988. — 60, 7. — P. 773—778.
143. Faithfull B. et al. The effect of fluorocarbon emulsion on placental insufficiency // Adf. Exp. Med. Biol. — 1989. — 248. — P. 357—364.
144. Floyd T. et al. Intestinal ischemia: treatment by peritoneal lavage with oxygenated perfluorochemical // J. Pediatr. Surg. — 1987. — 22, 12. — P. 1191—1197.
145. Fuhrman B. Perfluorochemical liquid ventilation: the first human trial (editorial, comment) // J. Pediatr. — 1990. — 117, 1. — Pt. 16. — P. 73—74.
146. Ceyer R.H., Monroe G., Taylor K. Survival of rats having red cells totally replaced with emulsified fluorocarbon // Fed. Proc. — 1968. — V. 27. — P. 384 (Abstr. № 952).
147. Geyer R.P. Whole animal perfusion with fluorocarbon dispersions // Fed. Proc. — 1970. — V. 29. — P. 1758—1763.
148. Geuer R.P. Fluorocarbon-poliol artificial blood substitutes // New Engl. J. Med. — 1973. — V. 289. — P. 1077—1082.
149. Geyer R.P. «Bloodless» rats through the use of artificial blood substitutes // Fed. Proc. — 1975. — V. 34. — № 6. — P. 1499—1505.
150. Geyer R.P. Potential uses of artificial blood substitutes // Fed. Proc. — 1975. — V. 34. — P. 1525—1528.
151. Geyer R.P. Studies and uses of perfluorochemical emulsions as blood. // Proceedings of Symposium Research on perfluorochemicals in medicine and biology, Apr. 28—29, 1977. — Sweden. — P. 229—279.
152. Geyer R.P. Perfluorochemical blood replacement preparations // Proceedings of IV th International Symposium on perfluorochemical blood substitutes, Oct. 21—22, 1978. — Kyoto. — P. 5—32.
153. Geyer R.P. PFC as blood substitutes — an overview // Advances in blood substitute research. — New-York, 1983. — P. 157—168.
154. Geyer R.P. Perfluorochemicals as oxygen transport vehicles // Biomater. Artif. Cells, Artif. Organs. — 1988. — 16, 1—3. — P. 31—49.
155. Greenspan J. et al. Liquid ventilation of human preterm neonates // J. Pediatr. — 1990. — 117, 1. — Pt. 1. — P. 106—111.
156. Gollan F., Clark L.C. Organ perfusion with fluorocarbon fluid // Physiologist. — 1966. — V. 9. — P. 191.
157. Gollan F., Clark R.M. Experimental pathology after respiration and injection of various fluorocarbon liquids // Exp. Med. Surg. — 1968. — V. 26. — P. 250—262.
158. Grooman N.M., Parilla M., Tocws C.J. Influence of fluorocarbon emulsions on hepatic metabolism in perfused rat liver // American Journal Physiological. — 1973. — № 225. — P. 1384—1392.
159. Хэм А., Кормак Л. Гистология: Пер. с англ. — М.: Мир, 1982.
160. Хейхоу Ф.Г., Кваглино Д. Гематологическая цитохимия: Пер. с англ. — М.: Медицина, 1983. — 320 с.
161. Handa H., Nagasova S., Yonekawa Y., Naruo Y., Oda Y. New treatment of cerebral vasospasm with FL-DA 20%: protective effect on cerebral ischemia and change of cerebral blood flow (CBF) // Advances in blood substitute research. — New-York, 1983. — P. 299—306.

162. Horn R.G., Spicer G.S., Wetzel B.R. Phagocytosis of bacteria by heterophil leucocytes. Acid and alkaline phosphatase cytochemistry // *Amer. J. Pathol.* — 1964. — V. 45. — P. 327—333.

163. Hasegawa T. et al. Radiosensitizing effects on perfluorochemicals // *Gan. No Rinsho.* — 1988. — 34, 13. — P. 1864—1868.

164. Jensen B.S., Bainton D.F. Temporal changes in pH within the phagocytic vacuole of the polymorphonuclear neutrophilic leukocyte // *J. Cell. Biol.* — 1973. — V. 56. — P. 379.

165. Kaplow L.S. Cytochemical heterogeneity of human circulating monocytes // *Acta cytol.* — 1975. — V. 19. — P. 358—364.

166. Kent K. et al. Reduction of myocardial ischemia during percutaneous transluminal coronary angioplasty with oxygenated Fluosol // *Am.J. Cardiol.* — 1990. — 66, 3. — P. 279—284.

167. Kern M. et al. Influence of drug therapy on the ischemic response to acute coronary occlusion in man: supply-side economics // *Am. Heart J.* — 1989. — 118, 2. — P. 361—380.

168. Koen P. et al. Fluoro-carbon ventilation: maximal expiratory flows and CO₂ elimination // *Pediatr. Res.* — 1988. — 24, 3. — P. 291—296.

169. Kretschmar K. et al. Changes in the microcirculation in traumatic-hemorrhagic shock following therapy with blood substitutes based on perfluorochemicals // *Z. Med. Lab. Diagn.* — 1989. — 30, 1. — P. 56—57.

170. Карр Я. Макрофаги. Обзор ультраструктуры и функции: Пер. с англ. — М., Медицина, 1978. — 188 с.

171. Kobashi N., Yamanouchi K., Hosokawa Y., Kori Y., Ueda Y. The effect of perfluorotributylamine (FC-43) on the cysteine metabolism in isolated perfused rat liver // *Proceedings of IVth International Symposium on perfluorochemical blood substitutes*, Oct. 21—22, 1978. — Kyoto. — P. 107—121.

172. Kohno S., Bada T., Miyamoto A., Niiya K. Effect of exchange transfusion with Fluosol-DA 35% on delivery and consumption of oxygen in rabbits under normal air breathing // *Proceedings of IVth International Symposium on perfluorochemical substitutes*, Oct. 21—22, 1978. — Kyoto. — P. 361—371.

173. Kruse N. Zytochemie der Leukozyten im Kindersalter. 1. Veränderungen im Verlaufe von Leukozyten // *Folia Haematol.* — 1975. — B.102. — S. 1—2.

174. Kylstra J.A., Paganelli C.V., Lauphler E.H. Pulmonary gas exchange in dogs ventilated with hyperbarically oxygenated liquids // *J. Appl. Physiol.* — 1966. — V. 21. — P. 177—184.

175. Leonard E.P., Provenza D.V. Histochemical observations on the Swiss albino mouse as detected by azo dye and osmium-capture methods // *Arch. Oral Biol.* — 1970. — V. 15. — P. 635—643.

176. Li C.Y., Lam K.W., Yam L.T. Esterases in human leucocytes // *J. Histochem.* — 1975. — V. 21. — P. 1—12.

177. Lehtola A. et al. Single lung allotransplantation in pigs. A morphologic study of tissue preservation with modified Euro-Collins and

fluorochemicals solutions // *Transplantation.* — 1990. — 49, 6. — P. 1066—1074.

178. Lustig R. et al. Fluosol-DA in radiation therapy // *Prog. Clin. Biol. Res.* — 1986. — 211. — P. 29—38.

179. Lustig R. et al. Phase I/II study of Fluosol-DA and 100% oxygen as an adjuvant to radiation in the treatment of advanced squamous cell tumors of the head and neck // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* — 1989. — 16, 6. — P. 1587—1593.

180. Липперт Г. Международная система единиц в медицине: Пер. с нем. — М., Медицина, 1980. — 208 с.

181. Ллойда З., Госсрау Р., Шиблер П. Гистохимия ферментов. Лабораторные методы: Пер. с англ. — М.: Мир, 1982. — 270 с.

182. Long D.M., Liu M.S., Sranio S., Alrenga D.P., Patel M.M., Rios M.V., Nyhaus L.M. Efficacy and toxicity studies with radiopaque perfluorochemical // *Radiology.* — 1972. — V. 195. — P. 323—332.

183. Луппа Х. Основы гистохимии: Пер. с нем. — М.: Мир, 1980. — 343 с.

184. Lutz J., Bauml M., Schulze H. Comparison of Fluosol-DA 35% with 20% in the circulation of the liver. — *Proceedings of IVth International Symposium on perfluorochemical blood substitutes*, Oct. 21—22, 1978. — Kyoto. — P. 123—135.

185. Magnusson B.C., Anders L. Alkaline phosphatase, 5-nucleotidase and ATPase activity in the molar region of the mouse // *Histochemistry.* — 1974. — V. 42. — P. 221—232.

186. Makowski H., Tenchev P., Frey P. et al. Tolerance of oxygen-carrying colloidal plasma substitute in human beings // *Proceedings of IVth International Symposium on perfluorochemical blood substitutes*, Oct. 21—22, 1978. — Kyoto. — P. 47—52.

187. Matsumoto T., Watanabe M., Yokoyama K., Suyama T., Naito R. Toxicity studies on Fluosol-LA. Subacute toxicity in rats // *Amer. Blood Res. Assc.* — 1980. — P. 40—45.

188. Miller M.L., Moore R.E., Clark L.C. Morphology and morphometry of the liver after infusion of perfluorochemical emulsions: an assessment of 19 compounds // *Proceedings of IV International Symposium on perfluorochemical blood substitutes*, Oct. 21—22, 1978. — Kyoto. — P. 81—97.

189. Miller N.L., Wesseler E.P., Jones S.C., Clark L.C. Some morphologic effects of «inert» particulate loading on hemopoietic elements in mice // *Journal of the Reticuloendothelial Society.* — 1976. — V. 20. — P. 385—398.

190. Mitsuno T., Tabuchi Y., Ohyanagi H., Sugiyama T. Further studies on intake and retention of PFC substance of Fluosol-DA RTS in human // *Advances in blood substitute research.* — New-York, 1983. — P. 257—263.

191. Moore R.E. The synthesis and biological screening of new and improved fluorocarbon compounds for use artificial blood substitutes //

- Annual report for the period July 1, 1976 to June 30, 1977. Suntech. Inc., Box. 1135, Marcus Hook, p. 1—47.
192. Mori Y. et al. Fluorocarbon-encapsulated oxygen bubbles for blood oxygenation use: an experimental study // *Ann. Biomed. Eng.* — 1990. — 18, 3. — P. 285—298.
193. Мусил Я., Новикова О., Кунц К. Современная биохимия в схемах: Пер. с англ. — М.: Мир, 1981. — 215 с.
194. Naito R., Fujita Y., Suyama T. Studies on teratogenicity of Fluosol-DA in rats // *Proceedings of Symposium Research on perfluorochemicals in medicine and biology, Apr. 28—29, 1977.* — Sweden. — P. 321—339.
195. Naito R., Yokoyama K. Improvement of perfluorodecalion emulsion with special regard to vivo stability, offering «Fluosol-DA» // *Proceedings of Symposium Research on perfluorochemicals in medicine and biology, Apr. 28 — 29, 1977.* — Sweden. — P. 42—92.
196. Naito R., Doi T., Arimura H., Suyama N. On the carcinogenicity of Fluosol-DA. Studies by means of a hostmediated microbial assay for mutagenicity // *Proceedings of Symposium Research on perfluorochemicals in medicine and biology, Apr. 28—29, 1977.* — Sweden. — P. 362—373.
197. Naito R. Synthetic blood, what is it? And what will be its effect on the blood/plasma system? // *Amer. Blood Res. Assc.* — 1980. — P. 153—171.
198. Nishimura N., Sugi T., Niranuma N. The effect of Fluosol-DA on pulmonary vessels // *Advances in blood substitute research.* — New-York, 1983. — P. 283—289.
199. Nose Y., Kon T., Weber D. et al. Physiological effects of intravascular fluorocarbon liquids // *Fed. Proc.* — 1970. — V. 29. — № 5. — P. 1789—1804.
200. Novakova V., Plantiu O., Hakonsson I., Retlind A. Evaluation of perfluorochemical oxygen carriers using a method for perfusion of isolated rat liver // *Proceedings of Symposium Research on perfluorochemicals in medicine and biology, Apr. 28—29, 1977.* — Sweden. — P. 141—159.
201. Ohyanagi H., Ho T., Sekita M., Okamoto M., Mitsuno T. Kinetic studies of oxygen and carbon dioxide transport into or from perfluorochemicals // *Proceedings of Symposium Research on perfluorochemicals in medicine and biology, Apr. 28—29, 1977.* — Sweden. — P. 128—140.
202. Ohyanagi H., Nishijima M., Usani M., Nishimatsu S., Matsui E., Saiton Y. Experimental studies on the possible combined chemotherapy to neoplasms with Fluosol-DA infusion // *Advances in blood substitute research.* — New-York, 1983. — P. 315—320.
203. Okada K., Kosugi I. The effect of Fluosol-DA upon gas exchange in the lung (continuous measurement of oxygen, carbon dioxide diminution and A-a DO₂, A-a DCO₂) // *Proceedings of Symposium Research on*

- perfluorochemicals in medicine and biology, Apr. 28—29, 1977.* — Sweden. — P. 185—207.
204. Okada K., Takagi Y., Kosugi T., Kitagaki T. Effect of Fluosol-DA on tissue oxygenation during normovolemic hemodilution // *Proceedings IVth International Symposium on perfluorochemical blood substitutes, Oct. 21—22.* — Kyoto, 1978. — P. 391—399.
205. Okamoto H., Yamanouchi K., Yokoyama K. Retention of perfluorochemicals in circulating blood and organs of animals after intravenous injection of their emulsions // *Chem. Pharm. Bull.* — 1975. — V. 27. — № 7. — P. 1452—1457.
206. Ogino K. et al. Perfluorochemical emulsion as a perfusate in 24-hour liver preservation prior to transplantation in the rat // *Nippon Geka Gakkai Zasshi.* — 1988. — 89, 10. — P. 1662—1671.
207. Peerless S.I. The use of perfluorochemical in the treatment of acute cerebral ischemia // *Advances in blood substitute research.* — New-York, 1983. — P. 353—362.
208. Petuschnig D., Herrmann M., Hirlinger W. Morphologische Befunde an der Schweinee eber nach Fluosol-Infusion // *Z. Mikrosk. Anat.* — 1980. — B.94. — H.5. — S. 908—912.
209. Pfannkuch F., Schnoy N. Verbleib des blutgastransportierenden Fluorkohlenwasserstoffes Fluorocarbon-43 in Organismus bei parenteraler Anwendung im Tierversuch // *Anaesthesist.* — 1979. — B.28. — S. 511—516.
210. Pfannkuch F., Schnoy N. Long-term observation of P.F.C. storage in organs of rats after various dosages // *Advances in blood substitute research.* — New-York, 1983. — P. 209—219.
211. Пирс Э. Гистохимия (теоретическая и прикладная): Пер. с англ. — М., Иностран. литература, 1962. — 962 с.
212. Rabiner S.F. Hemoglobin solution as a plasma expander // *Fed. Proc.* — 1975. — V. 34. — № 6. — P. 1454—1457.
213. Riess L.G., Blanc M.L. Perfluorocompounds as blood substitutes // *Angewandte Chemie.* — V. 17. — № 9. — P. 621—634.
214. Reichelt H. et al. Changes in the pathobiochemical reactions in traumatic-hemorrhagic shock following therapy with blood substitutes based on perfluorocarbon // *Z. Med. Lab. Diagn.* — 1989. — 30, 1. — P. 53—55.
215. Roeser H.H., Cooksley W.G., Mack S. Evaluation of hepatocellular and kupffer cell function of the isolated guinea pig liver perfused by a fluorocarbon medium // *Gastroenterology.* — 1978. — V. 74. — P. 209—214.
216. Rosenblum U.I., Hadfield N.G., Martinez A.J., Schatzki P. Alteration of liver and spleen following intravenous infusion of fluorocarbon emulsions // *Arch. Pathol. Lab. Med.* — 1976. — V. 100. — № 4. — P. 213—217.
217. Rubini I.R. A role for alkaline phosphatase in controlling DNA synthesis // *J. Clin. Invest.* — 1963. — V. 42. — P. 974—982.

218. Sass D.J., von Dylce R.A., Wood K.H., Stewis A. et al. Gas embolism due to intravenous FC-80 liquid fluorocarbon // *Journal of Applied Physiology*. — 1976. — V. 40. — P. 745—751.

219. Schneeberger E.E. The use PFC exchange transfused rats in studies of lung microvascular permeability // *Advances in blood substitute research*. — New-York, 1983. — P. 249—256.

220. Sloviter H.A., Kamimoto T. Erythrocyte substitute for perfusion of brain // *Nature*. — 1967. — V. 216. — P. 458—460.

221. Sloviter H.A. Erythrocyte substitutes // *Med.Clinics of North America*. — 1970. — V. 54. — № 3. — P. 787—795.

222. Sloviter H.A., Mukherji B. Prolonged retention in circulation of emulsified lipid-coated perfluorochemicals // *Advances in blood substitute research*. — New-York. — 1983. — P. 181—187.

223. Steinberg H., Fischer A.B., Sloviter H.A. Accelerated removal of platelets during perfusion of isolated lungs with perfluoro erythrocyte substitute // *Proceedings of the Society for experimental biology and medicine*. — 1979. — V. 162. — № 1. — P. 179 — 182.

224. Sasai K. et al. Variation in tumor response to fluosol-DA (20%) // *Int.J.Radiat.Oncol. Biol. Phys.* — 1989. — 16, 5. — P. 1149—1152.

225. Soberman N. et al. Preischemic perfusion of hypertrophied myocardium with perfluorocarbons // *J.Surg. Res.* — 1989. — 47, 3. — P. 255—259.

226. Террито М.С. Исследование функции макрофагов в клинике // *Последние достижения в клинической иммунологии: Пер. с англ.* — М.: Медицина, 1983. — С. 298—375.

227. Trinder L., Vorosky M., Habib D.V., Nahas G.G. Perfusion of isolated liver with fluorocarbon emulsions // *Fed. Proc.* — 1970. — V. 29. — № 5. — P. 1778—1881.

228. Vigneron C., Ndong-Nkoume M., Zabrude P. // *I Congr. Inter. Technol. Pharm.* — 1977. — V. 4. — P. 63—68.

229. Virmani R. et al. Myocardial protection by perfluorochemical infusion during transient ischemia produced by balloon coronary occlusion // *Am. Heart J.* — 1988. — 116, 2. — Pt. 1. — P. 421—431.

230. Vogell H. et al. Hemodilution and myocardial oxygen supply. The influence of Fluosol-DA. // *Adv.Exp.Med. Biol.* — 1989. — 248. — P. 653—661.

231. Wang J.H. Haemoglobin studies 2. A synthetic material with haemoglobin-like property // *J.Amer. Chem. Soc.* — 1958. — V. 80. — P. 3168.

232. Warnes T.W. Alkaline phosphatase // *Gut*. — 1972. — V. 13. — P. 787—795.

233. Watanabe M., Hanada S., Yano K., Yokoyama K., Suama T., Naito R. Long-term survival of rats severely exchange-transfused with Fluosol-DA // *Proceedings of IVth International Symposium of perfluorochemical blood substitutes*, Oct. 21—22, 1978. — Kyoto. — P. 347—358.

234. Waldrop M. The (liquid) breath of life (news) // *Science*. — 1989. — 8, 245, 4922. — P. 1043—1045.

235. Yokoyama K., Yamanouchi K., Murashima R. Excretion of perfluorochemicals after intravenous injection of emulsion // *Chem. Pharm.Bull.* — 1975. — V. 23. — № 6. — P. 1368—1373.

236. Yokoyama K., Yamanouchi K., Suyama T. Further studies on the fate of perfluorochemicals of Fluosol-DA in animals following intravenous injection // *Proceedings of Symposium Research on perfluorochemicals in medicine and biology*, Apr.28—29, 1977. — Sweden. — P. 308—320.

237. Yokoyama K., Yamanouchi K., Ohyanagi H., Mitsuno T. Fate of perfluorochemicals in animals after intravenous injection or hemodilution with their emulsions // *Chem. Pharm. Bull.* — 1978. — V. 26. — № 3. — P. 956—966.

238. Zucali J.R., Mirand E.A., Gordon A.S. Erythropoiesis and artificial blood substitution with a perfluorocarbon-polyol. // *J.Lab. Clin. Med.* — 1979. — V. 94. — P. 742—746.