

Эффективность и безопасность нового изделия для ЛПС-селективной гемосорбции (экспериментальное исследование)

С. Е. Хорошилов^{1,2}, А. В. Никулин^{1,2}, И. В. Бессонов³, А. С. Морозов³, И. В. Ярема⁴

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

² Главный военный клинический госпиталь им. акад. Н. Н. Бурденко Минобороны России
Россия, 105229, Москва, Госпитальная пл., д. 3

³ ЗАО «Эфферон», Россия, 143026, Москва, Сколково, ул. Нобеля, д. 7

⁴ Московский государственный медико-стоматологический университет им. А. И. Евдокимова Минздрава России,
Россия, 127473, г. Москва, ул. Делегатская, д. 20, стр. 1

Efficacy and Safety of a Novel Adsorber for LPS-Selective Hemosorption (Experimental Study)

Sergey E. Khoroshilov^{1,2}, Artem V. Nikulin^{1,2}, Ivan V. Bessonov³, Alexander S. Morozov³, Ivan V. Yarema⁴

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

² N. N. Burdenko Central Military Clinical Hospital, 3 Gospitalnaya Square, 105229 Moscow, Russia

³ Efferon, JSC, 7 Nobel Str., Skolkovo, 143026 Moscow, Russia

⁴ A. I. Evdokimov Moscow State University of medicine and dentistry, Ministry of Health of Russia
20 Delegatskaya Str., Bldg 1, 127473 Moscow, Russia

Цель работы — оценка эффективности и безопасности нового мультимодального гемосорбента для экстракорпорального очищения крови *in vitro* и *ex vivo*.

Материалы и методы. Изучили сорбционные свойства и безопасность перфузии на сорбционной колонке с мультимодальным гемосорбентом на основе сверхсшитого стирол-дивинилбензольного сополимера в трех различных моделях:

- 1) раствор эндотоксина *Escherichia coli* в водном 0,9% NaCl с оценкой эффективности сорбции эндотоксина;
- 2) донорская эритроцитная взвесь с оценкой безопасности гемоперфузии для клеток крови;
- 3) цельная донорская кровь с оценкой эффективности гемосорбции и безопасности гемоперфузии.

Результаты. Наблюдали снижение концентрации эндотоксина в растворе натрия хлорида 0,9% за 2 часа перфузии — в 18,5 раз по сравнению с исходным значением, с сохранением остаточной сорбционной емкости колонки. При перфузии через исследуемый гемосорбент эритроцитной взвеси и свежеприготовленной донорской крови не выявили роста цитолитических маркеров, напротив, отметили двукратное снижение концентрации исходно присутствовавшего в эритроцитной взвеси свободного гемоглобина. Получили двукратное снижение концентрации витамина B12, в 3,54 раза — β_2 -микроглобулина, в 2,5 раза — креатинина. При атомно-силовой микроскопии не обнаружили критических нарушений морфологии эритроцитарных мембран.

Заключение. В испытаниях *in vitro* и *ex vivo* получены убедительные данные, демонстрирующие эффективность и безопасность нового устройства для ЛПС-селективной гемосорбции, не уступающие используемым в клинической практике аналогам.

Ключевые слова: сорбция липополисахарида; полимерный мультимодальный гемосорбент; эндотоксинемия

The purpose of the study is to evaluate the *in vitro* and *ex vivo* effectiveness and safety of a new device for extracorporeal blood purification.

Materials and methods. The sorption properties and safety of hemoperfusion using the LPS sorption column that employs hypercrosslinked styrene-divinylbenzene copolymer were studied using three different models:

- 1) *Escherichia coli* endotoxin solution in aqueous 0.9% NaCl solution with an assessment of the efficacy of endotoxin elimination,
- 2) donor erythrocyte suspension with assessment of the hemoperfusion column safety for blood cells,
- 3) whole donor blood with assessment of hemosorption efficacy and hemoperfusion safety of the new column.

Results. There was a 18.5-fold decrease in the endotoxin concentration in 0.9% sodium chloride solution over 2 hours of perfusion vs. the baseline, while maintaining the residual sorption capacity of the column. Perfusion of RBC suspension and freshly prepared donor blood through the new LPS column did not demonstrate the emergence and growth of cytolytic markers; on the contrary, a two-fold decrease in the concentration of free hemoglobin con-

Адрес для корреспонденции:

Сергей Хорошилов
E-mail: intensive@list.ru

Correspondence to:

Sergey E. Khoroshilov
E-mail: intensive@list.ru

taining in the RBC suspension was observed. There was a two-fold decrease in the vitamin B12 concentration, a 3.54-fold decrease in β_2 -microglobulin and a 2.5-fold decrease in creatinine levels. The atomic force microscopy did not find critical impairment of the morphology of erythrocyte membranes.

Conclusion. *In vitro* and *ex vivo* tests demonstrated reliable experimental data on the effectiveness and safety of the device that employs a hypercrosslinked styrene-divinylbenzene copolymer for LPS-selective hemosorption, which was not inferior to one of analogues for hemosorption currently employed in clinical practice.

Key words: *lipopolysaccharide adsorption; polymeric multimodal adsorbent; endotoxemia*

DOI:10.15360/1813-9779-2018-6-51-60

Введение

Сепсис является одной из наиболее сложных проблем современной медицины, которая определяется большим количеством больных и стабильно высокой летальностью. Ежегодно в мире сепсис (тяжелый сепсис согласно дефиниции SSC-2014) диагностируется у 19 млн. человек, из них погибает около 5 млн. Сепсис — самая частая причина летальных исходов в отделениях реаниматологии Европы и Северной Америки. У 20,2% больных с инфекцией любой локализации и тяжести, находящихся в отделениях реаниматологии, развивается септический шок [1], при этом полугодовая летальность после перенесенного септического шока составляет 45% [2].

Эндотоксин — мощный индуктор локальной воспалительной реакции и системных проявлений инфекции, которые составляют основные клинические проявления сепсиса [3, 4]. Активация медиаторного каскада при сепсисе приводит к повреждению эндотелия и значимым нарушениям микро- и макрогемодинамики: увеличению, а затем и снижению сердечного выброса, снижению периферического сосудистого сопротивления, повышению проницаемости эндотелия, легочной гипертензии, перераспределению органного кровотока и снижению сократительной способности миокарда. Патологические эффекты, реализуемые на микроциркуляторном уровне, ведут к тому, что у значительной части больных сепсис осложняется развитием септического шока и полиорганной недостаточности, которая является основной причиной гибели этих больных. Лечение сепсиса предусматривает хирургическую санацию инфекционного очага и антимикробную химиотерапию, однако интенсивное лечение должно дополняться методами экстракорпоральной детоксикации с целью коррекции клеточного метаболизма, восстановления тканевой перфузии и снижения степени эндотоксинемии.

Широкая распространенность сепсиса у больных реанимационного профиля, неудовлетворительная эффективность применяющихся в настоящее время методов консервативного лечения сепсиса требует разработки и внедрения инновационных методик экстракорпоральной детоксикации с детальным изучением их биологической совместимости и эффективности.

Перспективным направлением решения проблемы экстракорпорального очищения крови при

Introduction

Sepsis is one of the most difficult, still unsolved problems of contemporary medicine, which is continuing to be diagnosed in a large number of patients with high rate of mortality. Every year, sepsis (according to SEPSIS-3, 2016, or severe sepsis according to the SSC-2014 definitions) is diagnosed in 19 million people worldwide, about 5 million of whom die. Sepsis is the most common cause of deaths in the intensive care units of Europe and North America. Septic shock develops in 20.2% of ICU patients with infections of any localization and severity [1]; at that, the semiannual mortality after septic shock is 45% [2].

Bacterial endotoxin (lipopolysaccharide) is a potent inducer of the local inflammatory response and systemic manifestations of infection, which constitute main clinical manifestations of sepsis [3, 4]. Activation of the mediator cascade in sepsis leads to endothelial damage and significant micro- and macrohemodynamic disorders: an increase and then a decrease in cardiac output, a decrease in peripheral vascular resistance, an increase in endothelium permeability, pulmonary hypertension, a redistribution of organ blood flow and a decrease in myocardial contractility. In a significant number of septic patients, the pathophysiological effects at the microcirculatory level lead to such complications of sepsis as septic shock and multiple organ failure, which are the main cause of death in these patients. Treatment of sepsis involves surgical debridement of the infectious focus and antimicrobial chemotherapy. However, damage to anti-endotoxin immunity and natural detoxification mechanisms leads to the need to supplement intensive treatment with extracorporeal detoxification methods.

The prevalence of sepsis in ICU patients and unsatisfactory effectiveness of existing methods of conservative treatment of sepsis requires development and implementation of innovative methods of extracorporeal detoxification with detailed study of their biological compatibility and effectiveness.

The use of new highly effective biocompatible sorbents that selectively remove the primary pathogenesis of sepsis from the blood, i.e. bacterial endotoxin (lipopolysaccharide, LPS) is a promising way for solving the problem of extracorporeal blood purification in septic conditions.

Currently, several different types of products are used in clinical practice for LPS-selective hemosorption. Toraymyxin (Toray Medical Co., Ltd. Japan) is the

гнойно-септических состояниях является использование новых высокоэффективных биосовместимых сорбентов, избирательно удаляющих из крови первичное звено патогенеза сепсиса — бактериальный эндотоксин (липополисахарид, ЛПС).

На настоящий момент в клинической практике используется несколько различных типов изделий для ЛПС-селективной гемосорбции как отечественного, так и импортного производства. Исторически первой колонкой для экстракорпоральной терапии сепсиса является *Toraymyxin* (Toray Medical Co., Ltd Япония), которая применяется в Японии для лечения сепсиса с 1994 года [5]. К 2014 г. в мире эти колонки были использованы с низкой частотой неблагоприятных эффектов (менее 1%) при лечении более 100 000 больных с сепсисом. Картридж построен следующим образом: полимиксин В ковалентно иммобилизован на нитях из полистирола/полиэтилена, что позволяет селективно удалять эндотоксин без вымывания лиганда. Иммобилизация осуществляется благодаря реакции между аминогруппой фрагмента диаминомасляной кислоты; при этом содержание полимиксина В составляет 5 мг на 1 г полистирола. Механизм действия устройства заключается в удалении эндотоксина, при этом наблюдается снижение содержания в крови и провоспалительных цитокинов, например, фактора некроза опухоли α [6]. Колонка «позволяла» удалять путем гемоперфузии до 64 мкг (640000 ЕЭ) эндотоксина из бычьей плазмы. Эффективность использования колонки была исследована также и *in vivo* на собаках для лечения *E.coli*-индуцированного сепсиса. Существуют и другие колонки для гемосорбции, адаптированные для лечения септических больных: LPS Adsorber (Alteco Medical AB, Швеция) [7], гемофильтр oXiris (Gambro Lundia AB, Швеция) [8], сорбционная колонка Токсипак (ЗАО «Научно-производственная фирма ПОКАРД», Москва) [9] и т. д.

Тем не менее, стратегия детоксикации, основанная исключительно на создании ЛПС-специфичных сорбентов для гемосорбции, не всегда позволяет достигнуть стабилизации состояния больных при критических состояниях вследствие многообразия «условных эндотоксикантов» — веществ, избыточное содержание которых в циркулирующей крови может быть существенным фактором нарушения целостности эндотелия сосудов, структуры и функции эритроцитов, клеток иммунной системы, клеток жизненно важных органов. Такие циркулирующие молекулы (провоспалительные цитокины, продукты гибнущих клеток — в частности, HMGB1, хемокины, иммуносупрессорные молекулы, митохондриальная ДНК, циркулирующая ДНК и ее окисленные формы) могут вносить существенный вклад в развитие полиорганной недостаточности и иммунокомпрометации. Последнее состояние, чреватое усилением бактериальной

first ever column for extracorporeal therapy of sepsis, which has been used in Japan for the treatment of sepsis since 1994 [5]. By 2014, these columns were used worldwide in the treatment of more than 100,000 patients with sepsis with a low incidence of adverse effects (less than 1%). The cartridge is constructed as follows: polymyxin B is covalently immobilized on polystyrene / polyethylene filaments, which allows for the selective removal of endotoxin and does not elute the ligand. Immobilization is carried out due to the reaction between the amino group of the diamino butyric acid fragment; at that, the content of polymyxin B is 5 mg per 1 g of polystyrene. The mechanism of action of the device is based on the endotoxin elimination; at that, there is also a decrease in blood levels of proinflammatory cytokines, for example, tumor necrosis factor α [6]. The column made it possible to remove up to 64 μ g (640,000 EU) of bovine plasma endotoxin by hemoperfusion. The effectiveness of the column was also investigated *in vivo* in dogs for the treatment of *E. coli*-induced sepsis. There are also other columns for hemosorption adapted for the treatment of septic patients: LPS Adsorber (Alteco Medical AB, Sweden) [7], oXiris hemofilter (Gambro Lundia AB, Sweden) [8], Toxipack sorption column (CJSC Scientific Research Production Company POKARD, Moscow) [9], etc.

However, a detoxification strategy based solely on the creation of LPS-specific sorbents for hemosorption does not always allow stabilization of clinical parameters of critically ill patients due to a variety of «conditional endotoxins», i.e. substances whose excessive content in the circulating blood may damage the vascular endothelium, structure and function of red blood cells, cells of the immune system, and cells of vital organs. Such circulating molecules (proinflammatory cytokines, products of dying cells, in particular, HMGB1, chemokines, immunosuppressive molecules, mitochondrial DNA, circulating DNA and its oxidized forms) can make a significant contribution to development of multiple organ failure and immunocompromising. The latter state is associated with increased bacterial load and, as a consequence, an increase in the content of bacterial endotoxins; it can eliminate positive, but short-term effects of LPS-specific hemosorption.

On the other hand, non-specific hemosorption is ineffective in reducing the level of bacterial endotoxins. Pro-inflammatory factors, bacterial products that are toxic to cells, and immunosuppressive factors coexist and support each other's products, so it's difficult to hope that removal of only one of these groups can break this vicious circle. Sorbents with unique physicochemical properties and structure are required for simultaneous directional removal of several types of clinically significant targets.

Thus, the optimal hemosorbent must combine the properties of LPS-selective and non-selective sorbent, i.e. be multimodal. The development of such multimodal sorbents is possible due to methods of sur-

нагрузки и, как следствие, увеличением содержания бактериальных эндотоксинов, может «сводить на нет» положительные, но кратковременные, эффекты ЛПС-специфической гемосорбции.

С другой стороны, неспецифическая гемосорбция малоэффективна для снижения уровня бактериальных эндотоксинов. Провоспалительные факторы, токсичные для клеток бактериальные продукты и иммуносупрессорные факторы сосуществуют и поддерживают продукцию друг друга, поэтому трудно надеяться на то, что разорвать порочный круг может лишь удаление какой-либо одной из этих групп. Для одновременного направленного удаления нескольких типов клинически значимых мишеней требуются сорбенты с уникальными физико-химическими свойствами и строением.

Таким образом, оптимальный гемосорбент должен сочетать в себе свойства ЛПС-селективного и неселективного сорбента, т. е. являться мультимодальным. Создание таких мультимодальных сорбентов возможно за счет методов поверхностной модификации пористых полимерных материалов биоспецифическими лигандами, не оказывающих негативного влияния на их пористую структуру. Подобным образом устроен сорбент, входящий в состав устройства для экстракорпорального очищения крови Эфферон ЛПС. В качестве матрицы используется сополимер стирола и дивинилбензола, на поверхность которого ковалентно привиты специфичные по отношению к липополисахаридам синтетические лиганды [10]. Эфферон ЛПС является первым представленным устройством для ЛПС-гемосорбции на основе мультимодального сорбента, поэтому оценка эффективности и безопасности его использования представляет несомненную научную и практическую значимость. В связи с этим целью работы стала оценка эффективности и безопасности нового мультимодального гемосорбента для экстракорпорального очищения крови *in vitro* и *ex vivo*.

Материал и методы

Протокол оценки сорбционных свойств и безопасности гемоперфузии *in vitro* на сорбционной колонке Эфферон ЛПС предусматривал проведение испытаний в три этапа, соответствующих поставленным задачам:

- 1) использование раствора эндотоксина в 0,9% NaCl для оценки эффективности сорбции эндотоксина,
- 2) использование донорской эритроцитной взвеси для оценки безопасности гемоперфузии Эфферон ЛПС для клеток крови
- 3) использование цельной донорской крови для оценки эффективности гемосорбции и безопасности гемоперфузии

Реагенты. Контрольный стандарт эндотоксина *Escherichia coli* O55:B5 10.000.000 ЕЭ (Charles River ENDOSAFE, США), ЛАЛ-реактив Pyrochrome® (чувствительность 0,005 ЕЭ/мл) (Cape Cod, США), апиrogenная ЛАЛ-вода (Cape Cod, США), апиrogenные пробирки Pyrotube®-D 12×75 мм (Cape Cod, США), изо-

face modification of porous polymeric materials by biospecific ligands that do not adversely affect their porous structure. The sorbent, which is part of the device for the extracorporeal blood purification Efferon LPS, is arranged in this particular way. A copolymer of styrene and divinylbenzene is used as a matrix, while the synthetic LPS-selective ligands are covalently grafted to its surface [10]. Efferon LPS is the first presented device for LPS-hemosorption on the basis of a multimodal sorbent, therefore, the evaluation of the effectiveness and safety of its use is of undoubted scientific and practical significance.

Materials and Methods

The protocol for assessing the sorption properties and safety of hemoperfusion *in vitro* on the Efferon LPS sorption column was the purpose of this work; it specified three-stage testing related to the study tasks:

- 1) using endotoxin solution in 0.9% NaCl with an assessment of the efficacy of endotoxin elimination,
- 2) using donor RBC suspension with assessment of the Efferon LPS hemoperfusion safety for blood cells
- 3) using whole donor blood with assessment of efficacy of hemosorption and safety of hemoperfusion

Reagents. *Escherichia coli* reference standard O55:B5 10.000.000 EU (Charles River ENDOSAFE, USA), Pyrochrome® LAL-reagent (sensitivity 0.005 EU/ml) (Cape Cod, USA), pyrogen-free LAL-water (Cape Cod, USA), pyrogen-free Pyrotube®-D 12×75 mm test tubes (Cape Cod, USA), isotonic sodium chloride solution (solution for injection, 0.9% NaCl; Grotex LLC, Russia), chemically pure glacial acetic acid (Component-Reactant LLC, Russia).

Equipment. U-2900 Dual Beam UV-Vis Spectrophotometer (Hitachi, Japan), High Precision Cell 100-QS 100-10–40 3500 µl photometric cuvettes with an optical path length of 10 mm (Hellma Analytics, Germany). Magnetic stirrer IKA C-MAG HS7 digital (IKA Werke, Germany) with a thermocouple as a controller. Peristaltic pump LOIP LS-301 (LOIP JSC, Russia). Infusion system with a disposable plastic needle (SFM, Germany). Three-way tap BD Connecta (Becton Dickinson, USA). Device for extracorporeal blood purification Efferon LPS (Efferon JSC, Russia). Scanning probe microscopy was performed using Ntegra PRIMA atomic-force microscope (NT-MDT Spectrum Instruments, Zelenograd, Russia).

Elimination of endotoxin in a sodium chloride isotonic solution by isolated perfusion on a polymeric sorbent.

Description of the experiment 1. The endotoxin reference solution (2 million EU in a vial) was dissolved in 10 ml of pyrogen-free water and added to 2 liters of isotonic sodium chloride solution (0.9%) heated to 37°C. Thus, the initial concentration of endotoxin was 1000 EU/ml. A glass vial with the solution was placed in a water bath with a maintained temperature of 37°C and the solution was mixed using a magnetic stirrer. 30 minutes later, we connected the device for extracorporeal blood purification Efferon LPS using a line from the infusion system and a peristaltic pump so that the solution returns back to the vial after passing through the column. The solution was pumped at a rate of 100±10 ml/min for 2 h at a temperature of 37°C and continuous stirring in the vial using an anchor of the magnetic stirrer (fig. 1).

The sampling was carried out at the entrance and exit from the column through three-way taps in 30 minutes, 1

тонический раствор хлорида натрия (раствор для инъекций, 0,9% NaCl; ООО «Гротекс», Россия), кислота уксусная ледяная химически чистая (ООО «Компонент-Реактив», Россия).

Оборудование. Спектрофотометр двулучевой УФ-видимого диапазона U-2900 (Hitachi, Япония), фотометрические кюветы High Precision Cell 100-QS 100-10-40 с объемом 3500 мкл и длиной оптического пути 10 мм (Hellma Analytics, Германия). Магнитное перемешивающее устройство IKA C-MAG HS7 digital (IKA Werke, Германия) с термопарой в качестве контроллера. Перистальтический насос LOIP LS-301 (АО «ЛОИП», Россия). Система инфузионная с пластиковой иглой однократного применения (SFM, Германия). Кран трехходовой BD Connecta (Becton Dickinson, США). Устройство для экстракорпорального очищения крови Эфферон ЛПС (АО «Эфферон», Россия). Сканирующая зондовая микроскопия выполнялась с помощью атомно-силового микроскопа Ntegra PRIMA (НТ-МДТ Спектрум Инструментс, Зеленоград, Россия).

Элиминация эндотоксина в изотоническом растворе натрия хлорида путем изолированной перфузии на полимерном сорбенте.

Описание эксперимента 1. Контрольный раствор эндотоксина (2 млн ЕЭ в вials) растворили в 10 мл апиригенной воды и прибавили к 2 л изотонического раствора хлорида натрия, подогретого до 37°C. Таким образом, исходная концентрация эндотоксина составила 1000 ЕЭ/мл. Стеклообразную колбу с раствором поместили в водяную баню с поддерживаемой температурой 37°C, перемешивание осуществляли с помощью магнитного перемешивающего устройства. Через 30 мин, используя магистраль от инфузионной системы и перистальтический насос, подключили устройство для экстракорпорального очищения крови Эфферон ЛПС таким образом, чтобы раствор после пропускания через колонку возвращался обратно в колбу. Раствор перекачивали со скоростью 100±10 мл/мин в течение 2 ч при термостатировании 37°C и непрерывном перемешивании в колбе с помощью магнитного перемешивающего устройства (рис. 1).

Отбор пробы осуществляли на входе и выходе из колонки через трехходовые краны через 30 мин, 1 ч и 2 ч. Определение содержания ЛПС осуществляли спектрофотометрическим методом хромогенного ЛАЛ-теста по конечной точке, используя реагенты Pyrochrome® по ранее построенной калибровочной прямой.

Результаты и обсуждение

Применяемая методика (исходная концентрация ЛПС 1000 ЕЭ/мл в изотоническом растворе NaCl) аналогична описанным в работах [12, 14], в которых приведены количественные показатели сорбционной активности колонки Toraymyxin PMX-20R. Таким образом, мы имели возможность прямого сравнительного анализа с «золотым стандартом» ЛПС-специфичной гемосорбции. Наблюдали значительное снижение концентрации эндотоксина в растворе: через 30 минут — в 1,7 раза; через 1 ч — в 7,7 раз и через 2 ч — в 18,5 раз по сравнению с исходным значением (табл. 1). Как видно из табл. 1, сходными параметрами сорбции обладала и колонка Toraymyxin.

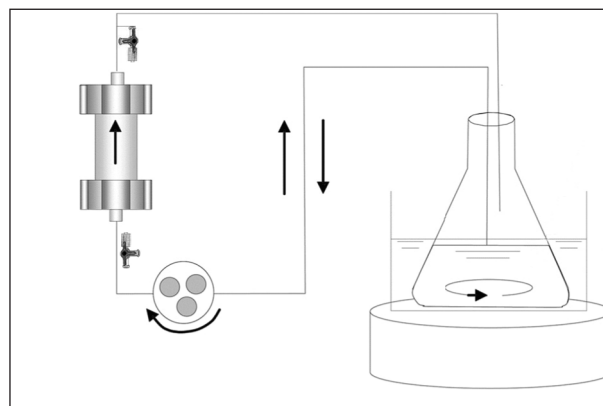


Рис. 1. Схема экспериментальной циркуляции раствора эндотоксина.

Fig. 1. Scheme of an experimental endotoxin solution circulation circuit.

hour and 2 hours. LPS content was determined spectrophotometrically by the end point chromogenic LAL test method using Pyrochrome® reagents according to a previously constructed calibration line.

Results and Discussion

The technique (initial concentration of LPS is 1000 EU/ml in isotonic NaCl solution) is similar to that described in [12, 14], where quantitative parameters of the sorption activity of the Toraymyxin PMX-20R column were published. Thus, we have a possibility of a direct comparative analysis with the “golden standard” of LPS-specific hemosorption. There was a significant decrease in the endotoxin concentration in the solution: 1.7-fold in 30 minutes, 7.7-fold in 1 h, and 18.5-fold in 2 h vs. the baseline (table 1). As can be seen from Table 1, Toraymyxin and Efferon LPS possess similar values for parameters of sorption.

At the same time, an even more noticeable decrease in the LPS concentration was observed at the exit from the column, which indicates a high efficiency of the sorbent for removing bacterial endotoxins from the solution. It should be noted that even after two hours of sorption, a concentration gradient of endotoxin is maintained at the inlet and at the exit of the device, which indicates that the sorption capacity has not been exhausted within the specified time intervals (fig. 2). The data obtained indicate high sorption activity and capacity, not inferior to the «recognized leader» in the field of LPS-selective hemosorption, the comprehensive life-saving technology in sepsis.

Study of the safety of Efferon LPS perfusion on donor RBC suspension.

Description of the experiment 2. An RBC suspension was used in a SAGM resuspending solution (100 ml) with a leukoplatelet layer removed; it was obtained in accordance with the Technical Regulations [13] and collected in a sterile polymeric container Hemocon (Ravimed, Poland). The volume of the RBC suspension was 290 ml; it was donated 17 days ago and its hematocrit was 0.7. After mixing with 210 ml of sterile sodium

Таблица 1. Сравнительные данные по элиминации эндотоксина с помощью колонок.
Table 1. Comparative data on elimination of endotoxin by columns.

Time, min	Concentration of endotoxin, EU/ml		
	Efferon LPS, Inlet	Efferon LPS, Outlet	Toraymixin*, Inlet
0	1000	—	1000
30	606	245	500
60	130	67	250
120	54	42	180

Note. * — data are given for the column Toraymixin PMX-20R [12].

Примечание. Time — время; Inlet — вход; Outlet — выход (колонок). * — данные приведены для колонки Toraymixin PMX-20R [12].

При этом на выходе из колонки наблюдали еще более заметное снижение концентрации ЛПС, что говорит о высокой эффективности сорбента по удалению бактериальных эндотоксинов из раствора. Следует отметить, что даже после 2-х часов сорбции сохранялся градиент концентраций эндотоксина на входе и на выходе из устройства, что указывает на отсутствие исчерпания сорбционной емкости за указанные промежутки времени (см. табл. 1). Полученные данные свидетельствуют о высокой сорбционной активности и емкости разрабатываемой колонки, не уступающей по сорбционной активности колонке Тогаумухин, широко используемой в мировой клинической практике колонки для ЛПС-селективной гемосорбции — современной технологии жизнеобеспечения при сепсисе.

Изучение безопасности перфузии Эфферон ЛПС на донорской эритроцитной взвеси.

Описание эксперимента 2. Использовали эритроцитную взвесь в ресуспендирующем растворе SAGM (100 мл) с удаленным лейкоцитомоноцитарным слоем, полученную в соответствии с нормативными положениями Технического регламента [13] и собранную в стерильный полимерный контейнер Немосон (Ravimed, Польша). Объем эритроцитной взвеси составил 290 мл, с «возрастом» донации 17 сут и гематокритом 0,7. После смешивания с 210 мл стерильного раствора натрия хлорида (0,9%) полученную среду перфузировали через колонку Эфферон ЛПС на модуле Hospal BSM-21sc с кровотоком 200 мл/мин в безгепариновом режиме с рециркуляцией объема заполнения, замкнутого на гемоконтейнер. Исследовали содержание свободного гемоглобина по контрольным точкам: t_0 — на старте перфузии, t_1 — 97 мин, t_2 — 236 мин, а также определяли морфологические характеристики эритроцитов при помощи атомно-силовой микроскопии в тех же контрольных точках.

Исходное содержание свободного гемоглобина превышало показатели, допущенные Техническим регламентом, что является лабораторным маркером гемолиза (табл. 2). Разрушение красных кровяных телец вызвано достаточно большим сроком хранения трансфузионной среды и закономерным старением форменных элементов.

На 97 мин отметили двукратное снижение уровня свободного гемоглобина, что объясняется неселективной сорбционной активностью напол-

chloride solution (0.9%), the resulting medium was perfused through an Efferon LPS column on a Hospal BSM-21sc module at a blood flow rate of 200 ml/min in non-heparin mode with recirculation of the filling volume looped to the hemocontainer. The free hemoglobin content was studied by control points: t_0 — at the start of perfusion, t_1 — 97 min, t_2 — 236 min; and the morphological characteristics of RBCs were determined using atomic force microscopy at the same control points.

The original concentration of free hemoglobin exceeded the values allowed by the technical regulations, which is a laboratory marker of hemolysis (table 2). The destruction of red blood cells is caused by a rather long shelf life of the transfusion medium and the regular aging of the corpuscles.

At 97 min, a two-fold decrease in the level of free hemoglobin was observed, which is explained by the non-selective sorption activity of the filler. The use of such a high blood flow in the clinical setting is impractical, taking into account the physico-chemical principle of sorbent detoxification and the risk of mechanical damage to blood cells. However, the laboratory hemolytic effect was not registered.

Morphological changes in blood cells do not always lead to cytolysis. Degenerative changes of RBCs under pathological conditions may relate to their size, shape and color. Poikilocytosis (a change in the shape of red blood cells of varying severity) is observed in almost any anemia, intoxication, and injuries. Even under normal conditions, a small part of the cells may have a shape other than discoid.

Atomic force microscopy of a blood smear at the first control point revealed a change in the shape of red blood cells with the emergence of echinocytes, i.e. spherical cells with many spicules on the surface (fig. 2).

At the same time, the ratio of the cell surface to the volume remains unchanged, and the transformation of the cell to the discocyte-echinocyte in the initial stage is reversible. At the second control point, the echinocytes count increased. Despite this, laboratory signs of hemolysis were not recorded, which indicates sufficient hemocompatibility of the polymer sorbent.

Biologically, the preserved components of donor blood are not a perfect replacement. Since the erythrocyte suspension is a more vulnerable medium than blood *in vivo*, a safety assessment at the next stage of the study was performed using fresh whole blood obtained from a healthy volunteer.

Таблица 2. Свободный гемоглобин во время перфузии эритроцитов через колонку Эфферон ЛПС.
Table 2. Free hemoglobin during perfusion of RBC suspension through Efferon LPS column.

Control point	Free hemoglobin concentration (%)
t_0	1.7
t_1	0.9
t_2	0.8

Примечание. Control point — контрольная точка; free hemoglobin concentration — концентрация свободного гемоглобина.

нителя. Применение подобного высокого кровотока в клинических условиях нецелесообразно, учитывая физико-химический принцип детоксикации сорбента и риск механического повреждения клеток крови. Тем не менее, лабораторный гемолитический эффект не был зарегистрирован.

Морфологические изменения клеток крови не всегда приводят к цитолизу. Дегенеративные изменения эритроцитов при патологических состояниях могут касаться их величины, формы и окраски. Пойкилоцитоз наблюдается практически при любых анемиях, интоксикации, травмах. Даже в норме небольшая часть клеток может иметь форму, отличную от дисковидной.

Атомно-силовая микроскопия мазка крови в первой контрольной точке выявила появление эхиноцитов — клеток сферической формы со множеством спикул на поверхности (рис. 2).

Отношение поверхности клеток к объему при этом оставалось нормальным, и трансформация клетки дискоцит-эхиноцит в начальной стадии была обратима. Во второй контрольной точке содержание эхиноцитов увеличилось. Несмотря на это, лабораторных признаков гемолиза не зафиксировали, что говорит о достаточной гемосовместимости полимерного сорбента.

В биологическом отношении консервированные компоненты донорской крови не являются полноценным протезом. Эритроцитная взвесь является более уязвимой средой, чем кровь *in vivo*, в связи с чем на следующем этапе исследования оценку безопасности решили провести на свежеприготовленной донорской крови.

Изучение сорбционных свойств и безопасности гемоперфузии Эфферон ЛПС на цельной донорской крови.

Описание эксперимента 3. В соответствии с требованиями этического комитета ФГБНУ «НИИОР» получили информированное добровольное согласие донора на проведение исследования. Использовали свежеприготовленную цельную кровь объемом 450 мл, 63 мл антикоагулянта СРД. Кровь перфузировали через колонку Эфферон ЛПС на модуле Носпал BSM-21sc с кровотоком 100 мл/мин и рециркуляцией объема заполнения, замкнутого на гемоконтейнер. Выполняли дозированную гепаринизацию через встроенную помпу со скоростью 500 Ед/ч.

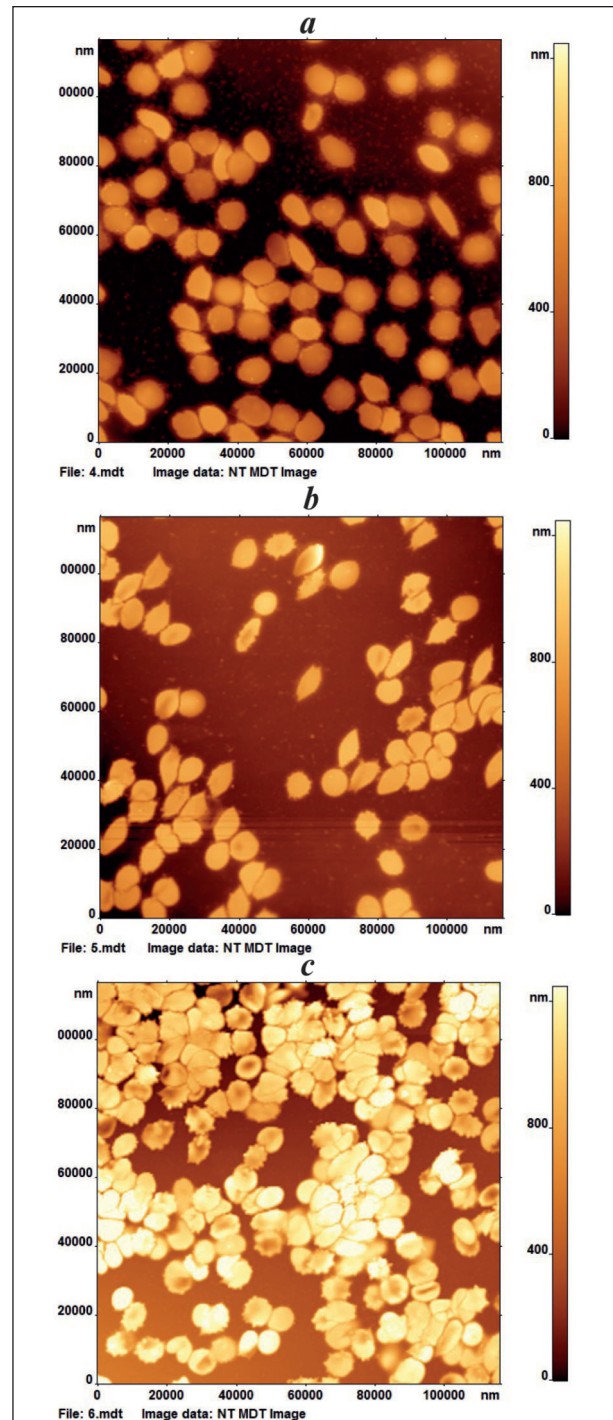


Рис. 2. Микрофотографии эритроцитов, полученные до и после перфузии суспензии эритроцитов через колонку Эфферон ЛПС.
Fig. 2. Microphotographs of red blood cells obtained by perfusion of the donor erythrocyte suspension through the Efferon LPS column.

Note. *a* — before connection; *b* — in 97 minutes; *c* — in 236 minutes. For Fig. 2, 3: Images of RBCs and their membranes were obtained by the staff of the Laboratory of biophysics of cell membranes in critical illness, V. A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology, Federal Research and Clinical Center of Clinical Care Medicine and Rehabilitation.

Примечание. *a* — перед пропусканием эритроцитарной суспензии; *b* — через 97 мин и *c* — через 236 мин от начала перфузии. Для рис. 2, 3: изображения эритроцитов и их мембран получены сотрудниками лаборатории биофизики мембран при критических состояниях Института общей реаниматологии им. В. А. Неговского ФНКЦ РР.

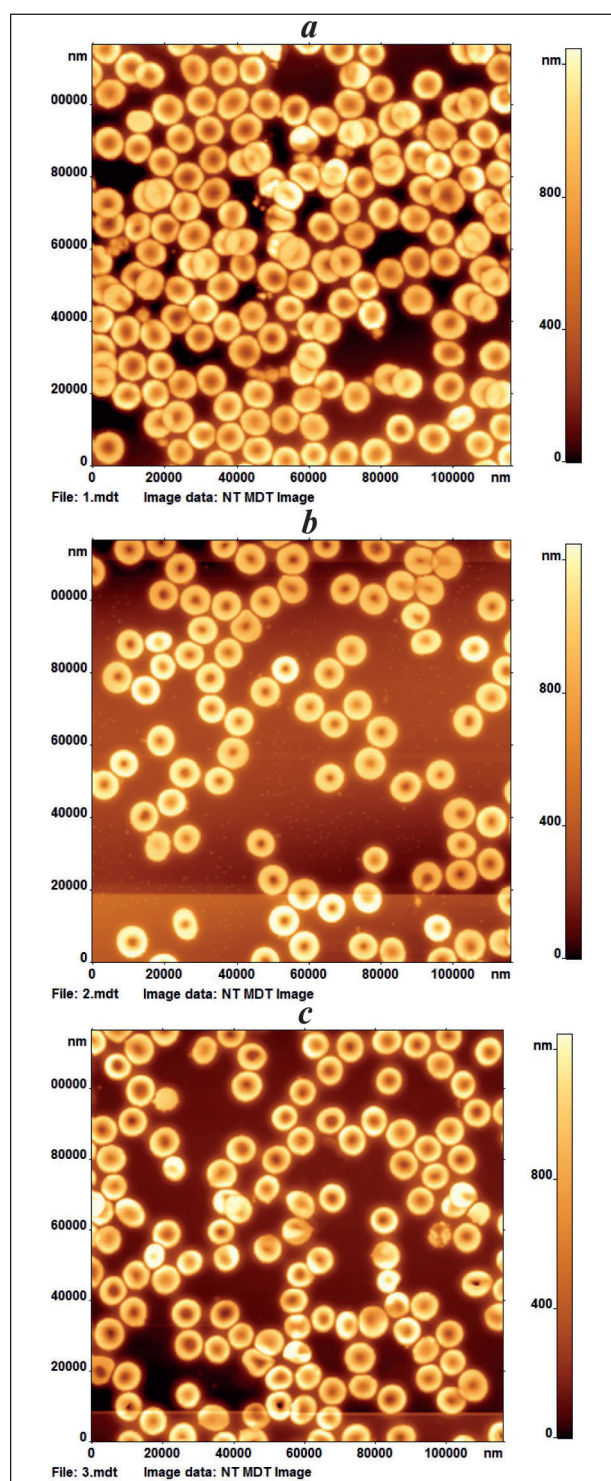


Рис. 3. Микрофотографии эритроцитов, полученные до и после перфузии цельной донорской крови через колонку Эфферон ЛПС.

Fig. 3. Microphotographs of red blood cells obtained before and after perfusion of the whole blood through the Efferon LPS column.

Note. *a* – before connection; *b* – in 30 minutes; *c* – in 90 minutes.

Примечание. *a* – перед пропуском пробы; *b* – через 30 мин.; *c* – через 90 мин.

Исследовали биохимические показатели сыворотки крови по контрольным точкам: t_0 – на старте перфузии, t_1 – 30 мин, t_2 – 90 мин, а также

Study of the sorption properties and safety of hemoperfusion of Efferon LPS on whole donor blood.

Description of the experiment 3. In accordance with the requirements of the Ethical Committee of the Federal Research and Clinical Center of Critical Care Medicine and Rehabilitation, donor's informed consent was obtained. 450 ml of freshly prepared whole blood preserved with 63 ml of CPD anticoagulant was used. Blood was perfused through the Efferon LPS column on a Hospital BSM-21sc module at a blood flow rate of 100 ml/min and recirculation of the filling volume looped to the hemocontainer. A dosed heparinization was performed through the built-in pump at a rate of 500 U/h.

The biochemical parameters of blood serum were studied at following time points: t_0 – start of perfusion, t_1 – 30 min, and t_2 – 90 min after the beginning of the perfusion. Morphological characteristics of erythrocytes were evaluated using atomic force microscopy at the same time points.

A twofold decrease in the vitamin B12 concentration, a traditional marker of medium molecular toxicity, as well as a 3.54-fold decrease in the β_2 -microglobulin level (Table 3) was observed, which may have clinical significance in sepsis, in addition to the main expected effect. The concentration of creatinine, a marker of low molecular weight (uremic) intoxication, decreased by 2.5-fold, however, the clinical significance of this effect remains unknown and requires further studies.

The atomic force microscopy of blood smears demonstrated that the membrane structure turned out to be normal in 98% of red blood cells before connecting to hemosorption and at the first control point (fig. 3).

Discocytes remained the predominant form at the second control point, however, other cellular forms appeared (up to 10% of the cells). Considering the small circulating volume in the experiment, the number of turnovers of the fluid through the sorption column is ten times greater than the blood turnover in actual clinical practice. Thus, data confirm the high hemocompatibility of the polymer sorbent.

Conclusion

The bench tests showed a high efficacy of the Efferon LPS device based on an innovative LPS-selective multimodal sorbent in relation to the elimination of endotoxin from a crystalloid solution. Hemocompatibility of polymeric sorbent for blood cells based on hemogram data, spectrophotometric blood analysis and scanning probe microscopy was demonstrated.

The results demonstrates significant adsorption clearance of substances of the medium molecular weight range, the clinical significance of which will be clarified in further studies.

Таблица 3. Изменения концентрации маркеров интоксикации в результате гемосорбции с использованием колонок «Эфферон ЛПС».**Table 3. Changes in the concentration of intoxication markers as a result of hemosorption by the Efferon LPS column.**

Biochemical parameters	Control point		
	t ₀	t ₁	t ₂
Vitamin B ₁₂ (pmol/l)	85.1	32.9	42.2
β_2 -microglobulin	1.1	0.24	0.31
Creatinine	90	36	36

Примечание. Biochemical parameter — биохимический показатель; control point — временная точка взятия пробы на анализ.

определяли морфологические характеристики эритроцитов при помощи атомно-силовой микроскопии в тех же контрольных точках.

Получили двукратное снижение концентрации традиционного маркера среднемолекулярной интоксикации — витамина B₁₂, а также β_2 -микроглобулина — в 3,54 раза (табл. 3), что может иметь существенное клиническое значение при сепсисе, помимо основного заявленного эффекта. Концентрация креатинина — маркера низкомолекулярной (уремической) интоксикации — снизилась в 2,5 раза, однако клиническое значение этого эффекта требует дальнейших исследований.

При атомно-силовой микроскопии мазков крови выявили, что структура мембран 98% эритроцитов перед подключением гемосорбции и в первой контрольной точке не отличается, т.е. является нормальной (рис. 3).

Преобладающей формой дискоциты оставались и во второй контрольной точке, однако появилось до 10% других клеточных форм. Учитывая

малый ОЦК в эксперименте, число оборотов объема через сорбционную колонку десятикратно превышает оборот крови в реальной клинической практике. Таким образом, можно говорить о высокой гемосовместимости полимерного сорбента.

Заключение

В стендовых испытаниях показали высокую эффективность устройства Эфферон ЛПС на основе инновационного ЛПС-селективного мультимодального сорбента в отношении элиминации эндотоксина из кристаллоидного раствора. На основе данных гемограммы, спектрофотометрического анализа крови и сканирующей зондовой микроскопии продемонстрировали гемосовместимость полимерного сорбента для форменных элементов крови.

Полученные данные свидетельствуют о сорбционном клиренсе веществ среднемолекулярного диапазона, клиническое значение которого будет установлено в последующих исследованиях.

Литература

1. Руднов В.А., Бельский Д.В., Дехнич А.В., Матвеев А.С., Гиевская О.Л., Дрозд А.В., Фесенко А.А., Малкова О.Г., Черкасов Г.В., Багин В.А., Бельский Д.В., Пионтек А.Э., Носков И.Ю., Колмаков В.В., Лопушов Д.В., Григорьев Е.В., Мацкевич В.А., Бочанова Е.Н., Кучеренко И.В., Гельфанд Б.Р., Попов Т.В., Фридкин В.И., Бережанский Б.В., Проценко Д.Н., Игнатенко О.В., Кулабухов В.В., Ярустовский М.Б., Векслер Н.Ю., Климова Е.А., Фёдорова О.Б., Белоцерковский Б.З., Чурадзе Б.Т., Ширяев М.И., Бельский В.А., Стрельцова Е.И., Лащенко Е.В., Саматов И.Ю., Верещинский А.М., Белокоца Т.Г., Макиёнок И.В., Латышев П.Э., Толкач А.Б., Зубарева Н.А., Ляпустин С.Б., Стародубцева Н.В., Перепелин Р.В., Волкова Ю.В., Федотов Ю.Н., Бузанов Д.В., Паньчек М.М., Городков С.Ю., Дудников В.Ф., Пятаев Н.А., Зверков А.В., Бурдянская Ю.В., Зузов С.А., Николаев С.В., Семенова Г.В., Мухачева С.Ю., Сивков О.Г., Кухтерин А.А., Шень Н.П., Швечкова М.В., Берестов А.Л., Ишмухаметов И.Х., Золотухин К.Н., Лешкова В.Е., Абубакирова А.И., Лыков А.В., Насретдинова С.М., Миронов П.И., Ушаков В.А., Слободенюк Е.В., Гороховский В.С., Кокарев Е.А., Плоткин Л.Л., Палютин Ш.Х., Матвеев А.С. Инфекции в ОРИТ России: результаты национального многоцентрового исследования. *Клинико-микробиол. антимикроб. химиотерапия*. 2011; 13 (4): 294–303.
2. Nesseler N., Defontaine A., Launey Y., Morcet J., Mallédant Y., Seguin P. Long-term mortality and quality of life after septic shock: a follow-up observational study. *Intensive Care Med*. 2013; 39 (5): 881–888. DOI: 10.1007/s00134-013-2815-1. PMID: 23358541
3. Голазян Н.М., Белая О.Ф., Малов В.А., Пак С.Г., Волчкова Е.В. Липополисахариды/эндотоксины грамотрицательных бактерий: роль в развитии интоксикации. *Эпидемиология и инфекц. болезни*. 2014; 2: 11–16.
4. Титов В.Н., Дугин С.Ф. Синдром транслокации, липополисахариды бактерий, нарушения биологических реакций воспаления и артериального давления (лекция). *Клинико-микробиол. диагностика*. 2010; 4: 21–37. PMID: 20527077
5. Shimizu T., Miyake T., Kitamura N., Tani M., Endo Y. Endotoxin adsorption: direct hemoperfusion with the polymyxin B-immobilized fiber column (PMX). *Transfus. Apher. Sci.* 2017; 56 (5): 682–688. DOI: 10.1016/j.transci.2017.08.015. PMID: 28923774

References

1. Rudnov V.A., Belsky D.V., Dekhnich A.V., Matveyev A.S., Gievskaya O.L., Drozd A.V., Fesenko A.A., Malkova O.G., Cherkasov G.V., Bagin V.A., Belsky D.V., Piontek A.E., Noskov I.Yu., Kolmakov V.V., Lopushov D.V., Grigoryev E.V., Matskevich V.A., Bochanova E.N., Kucherenko I.V., Gelfand B.R., Popov T.V., Fridkin V.I., Berezhansky B.V., Protsenko D.N., Ignatenko O.V., Kulabukhov V.V., Yarustovsky M.B., Veksler N.Yu., Klimova E.A., Fedorova O.B., Belotserkovsky B.Z., Churadze B.T., Shiryaev M.I., Belsky V.A., Streltsova E.I., Lashchenko E.V., Samatov I.Yu., Vereshchinsky A.M., Belotskaya T.G., Makienok I.V., Latyshev P.E., Tolkach A.B., Zubareva N.A., Lyapustin S.B., Starodubtseva N.V., Perepelin R.V., Volkova Yu.V., Fedotov Yu.N., Buzanov D.V., Panychek M.M., Gorodkov S.Yu., Dudnikov V.F., Pyataev N.A., Zverkov A.V., Burdyanskaya Yu.V., Zuzov S.A., Nikolaev S.V., Semenkova G.V., Mukhacheva S.Yu., Sivkov O.G., Kukhterin A.A., Shen N.P., Shvachkova M.V., Berestov A.L., Ishmukhametov I.Kh., Zolotukhin K.N., Leshkova V.E., Abubakirova A.I., Lykov A.V., Nasretdinova S.M., Mironov P.I., Ushakov V.A., Slobodenyuk E.V., Gorokhovskiy V.S., Kokarev E.A., Plotkin L.L., Palyutin Sh.Kh., Matveyev A.S. Infections in Russian ICUs: results of the nationwide multicenter study. *Klinicheskaya Mikrobiologiya i Antimikrobnaya Khimioterapiya*. 2011; 13 (4): 294–303. [In Russ.]
2. Nesseler N., Defontaine A., Launey Y., Morcet J., Mallédant Y., Seguin P. Long-term mortality and quality of life after septic shock: a follow-up observational study. *Intensive Care Med*. 2013; 39 (5): 881–888. DOI: 10.1007/s00134-013-2815-1. PMID: 23358541
3. Gyulazyan N.M., Belaya O.F., Malov V.A., Pak S.G., Volchkova E.V. Lipopolysaccharides/endotoxins of gram-negative bacteria: their role in the development of intoxication. *Epidemiologiya i Infektsionnye Bolezni*. 2014; 2: 11–16. [In Russ.]
4. Titov V.N., Dugin S.F. Translocation syndrome, bacterial lipopolysaccharides, impaired biological inflammatory reactions and blood pressure disorders (a lecture). *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2010; 4: 21–37. PMID: 20527077. [In Russ.]
5. Shimizu T., Miyake T., Kitamura N., Tani M., Endo Y. Endotoxin adsorption: direct hemoperfusion with the polymyxin B-immobilized fiber column (PMX). *Transfus. Apher. Sci.* 2017; 56 (5): 682v688. DOI: 10.1016/j.transci.2017.08.015. PMID: 28923774

6. Bauquier J.R., Tennent-Brown B.S., Tudor E., Bailey S.R. Effects of polymyxin-B on TNF- production in equine whole blood stimulated with three different bacterial toxins. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 2018; 41 (1): e35-e39. DOI: 10.1111/jvp.12445. PMID: 28804940
7. Lipcsey M., Tenhunen J., Sjölin J., Frithiof R., Bendel S., Flaatten H., Kawati R., Kuitunen A., Tønnessen T.I., Rubertsson S. Abdominal Septic Shock – Endotoxin Adsorption Treatment (ASSET) – endotoxin removal in abdominal and urogenital septic shock with the Alteco® LPS Adsorber: study protocol for a double-blinded, randomized placebo-controlled trial. *Trials.* 2016; 17 (1): 587. DOI: 10.1186/s13063-016-1723-4. PMID: 27931259
8. Malard B., Lambert C., Kellum J.A. *In vitro* comparison of the adsorption of inflammatory mediators by blood purification devices. *Intensive Care Med. Exp.* 2018; 6 (1): 12. DOI: 10.1186/s40635-018-0177-2. PMID: 29728790
9. Гендель Л.Л., Соколов А.А., Губанова С.Н., Адамова И.Ю., Левашов П.А. Первый клинический опыт применения колонок для ЛПС-адсорбции «Токсипак» в лечении пациентов с сепсисом. *Вестн. анестезиологии и реаниматологии.* 2017; 14 (5): 42-50. DOI: 10.21292/2078-5658-2017-14-5-42-50
10. Морозов А.С., Копицына М.Н., Бессонов И.В., Карелина Н.В., Нурждина А.В., Саркисов И.Ю., Павлова Л.А., Цюрупа М.П., Блиникова З.К., Даванков В.А. Селективный сорбент для удаления из крови бактериальных эндотоксинов. *Журнал физ. химии.* 2016; 90 (12): 1876–1882. DOI: 10.7868/S0044453716120165
11. Морозов А.С., Бессонов И.В., Нурждина А.В., Писарев В.М. Сорбенты для экстракорпорального удаления токсических веществ и молекул с нежелательной биологической активностью (обзор). *Общая реаниматология.* 2016; 12 (6): 82-107. DOI: 10.15360/1813-9779-2016-6-82-107
12. Shoji H., Minaga M., Sakai Y., Kunitomo T., Takeyama T., Tani T., Kodama M. Design and development of endotoxin detoxifying column PMX and its clinical application. *Japan. J. Artif. Organs.* 1993; 22 (1): 204-211.
13. Постановление Правительства РФ от 26.01.2010 N 29 (ред. от 04.09.2012) «Об утверждении технического регламента о требованиях безопасности крови, ее продуктов, кровезаменяющих растворов и технических средств, используемых в трансфузионно-инфузионной терапии». <http://www.consultant.ru/cons/cgi/online.cgi?req=doc&base=LAW&n=135176&fld=134&dst=100178,0&rnd=0.5630885760251418#04564728471827679>
6. Bauquier J.R., Tennent-Brown B.S., Tudor E., Bailey S.R. Effects of polymyxin-B on TNF- production in equine whole blood stimulated with three different bacterial toxins. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 2018; 41 (1): e35-e39. DOI: 10.1111/jvp.12445. PMID: 28804940
7. Lipcsey M., Tenhunen J., Sjölin J., Frithiof R., Bendel S., Flaatten H., Kawati R., Kuitunen A., Tønnessen T.I., Rubertsson S. Abdominal Septic Shock – Endotoxin Adsorption Treatment (ASSET) – endotoxin removal in abdominal and urogenital septic shock with the Alteco® LPS Adsorber: study protocol for a double-blinded, randomized placebo-controlled trial. *Trials.* 2016; 17 (1): 587. DOI: 10.1186/s13063-016-1723-4. PMID: 27931259
8. Malard B., Lambert C., Kellum J.A. *In vitro* comparison of the adsorption of inflammatory mediators by blood purification devices. *Intensive Care Med. Exp.* 2018; 6 (1): 12. DOI: 10.1186/s40635-018-0177-2. PMID: 29728790
9. Gendel L.L., Sokolov A.A., Gubanov S.N., Adamova I.Yu., Levashov P.A. First clinical experience of using column for LPS-adsorption of Toxipak in treatment of sepsis patients. *Vestnik Anesteziologii i Reanimatologii.* 2017; 14 (5): 42-50. DOI: 10.21292/2078-5658-2017-14-5-42-50. [In Russ.]
10. Morozov A.S., Kopitsyna M.N., Bessonov I.V., Karelina N.V., Nuzhdina A.V., Sarkisov I.Y., Pavlova L.A., Tsyurupa M.P., Blinnikova Z.K., Davankov V.A. A selective sorbent for removing bacterial endotoxins from blood. *Rus. J. Physic. Chem. A.* 2016; 90 (12): 2465-2470. DOI: 10.7868/S0044453716120165. [In Russ., In Engl.]
11. Morozov A.S., Bessonov I.V., Nuzhdina A.V., Pisarev V.M. Sorbents for extracorporeal removal of toxic substances and molecules with adverse biological activity (review). *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology.* 2016; 12 (6): 82-107. DOI: 10.15360/1813-9779-2016-6-82-107. [In Russ., In Engl.]
12. Shoji H., Minaga M., Sakai Y., Kunitomo T., Takeyama T., Tani T., Kodama M. Design and development of endotoxin detoxifying column PMX and its clinical application. *Japan. J. Artif. Organs.* 1993; 22 (1): 204-211.
13. Decree of the Government of the Russian Federation, January 26, 2010 No. 29 (ed. September 4, 2012) «On approval of technical regulations on safety requirements for blood, its products, blood-substituting solutions and technical means used for transfusions and infusions». <http://www.consultant.ru/cons/cgi/online.cgi?req=doc&base=LAW&n=135176&fld=134&dst=100178,0&rnd=0.5630885760251418#04564728471827679>. [In Russ.]

Поступила 15.11.18

Received 15.11.18

МЕЖДУНАРОДНЫЙ КАЛЕНДАРЬ КОНФЕРЕНЦИЙ АНЕСТЕЗИОЛОГОВ-РЕАНИМАТОЛОГОВ 2019

17–19 мая

XVI Всероссийская научно-образовательная конференция
«Рекомендации и индивидуальные подходы в анестезиологии и реаниматологии»
Геленджик, Россия • www.conf-airkuban.ru

1–3 июня

ЕВРОАНЕСТЕЗИЯ 2019 – Euroanaesthesia 2019 (Европейский анестезиологический конгресс)
Вена, Австрия • www.esahq.org

22–23 июня

Беломорский симпозиум VIII Всероссийская конференция с международным участием
Архангельск, Россия • www.anesth.ru

4–6 сентября

ЕАСТА Annual Congress 2019
Гент, Бельгия • www.eacta.org

4–6 октября

III съезд анестезиологов-реаниматологов северо-запада с участием медицинских сестер анестезистов
и IX Балтийский форум «Актуальные проблемы анестезиологии и реаниматологии»
Санкт-Петербург, Россия • www.anesth.ru

ноябрь

XI Euro Neuro
www.euroneuro2019.org