

DOI: <https://doi.org/10.31089/1026-9428-2022-62-2-91-100>

УДК 57.084.1

© Коллектив авторов, 2022

Котский М.А.¹, Бонитенко Е.Ю.^{1,2}, Макаров А.Ф.¹, Каниболоцкий А.А.³, Кочоян А.А.⁴, Литвинов Н.А.¹**О возможности использования жидкостного дыхания для профилактики развития декомпрессионных нарушений**¹ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицины труда имени академика Н.Ф. Измерова», пр-т Будённого, 31, Москва, 105275;²ФГОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Пискаревский пр-т, 47, Санкт-Петербург, 195067;³ГБУЗ «Научно-исследовательский институт скорой помощи имени Н.В. Склифосовского департамента здравоохранения города Москвы», Большая Сухаревская площадь, 3, Москва, 129090;⁴ФГБУ «Российский центр судебно-медицинской экспертизы» Министерства здравоохранения Российской Федерации, ул. Поликарпова, 12/13, г. Москва, 125284

Введение. Проблема экстренной эвакуации лиц, длительно пребывавших в условиях гипербарии, осложняется необходимостью проведения длительной декомпрессии, так как в подавляющем большинстве случаев количество растворенных индифферентных газов в тканях не позволит перейти к нормальным условиям без риска возникновения декомпрессионной болезни.

К рассмотрению предлагается метод элиминации индифферентных газов из тканей организма в дыхательную жидкость в процессе жидкостного дыхания. Отсутствие индифферентных газов в дыхательной жидкости при её высоких газотранспортных характеристиках создаёт необходимый градиент напряжения, позволяющий газам диффундировать через альвеоларно-капиллярный барьер из крови в дыхательную жидкость.

Цель исследования — оценка возможности использования жидкостного дыхания для профилактики развития декомпрессионных нарушений после предшествовавшего пребывания в условиях повышенного давления газовой среды.

Материалы и методы. Исследование выполнено на половозрелых самцах сирийских хомяков возрастом 4 месяца, массой 120–140 г. В качестве дыхательной жидкости была использована смесь перфтордекалина и перфторгексана в соотношении 40:60. Животные были разделены на четыре группы: контрольную (№ 1) и три опытных, различавшиеся по продолжительности жидкостного дыхания, которое для № 2, № 3 и № 4 составляло 15, 30 и 60 минут соответственно. Для перевода животных на жидкостное дыхание в условиях изобарии был разработан специальный лабораторный стенд, позволяющий замещать газовую среду на жидкостную и наоборот. Моделирование декомпрессионной болезни у лабораторных животных осуществляли безостановочной декомпрессией в течение 15 секунд после 60-минутной экспозиции в воздушной среде при повышенном давлении 0,6 МПа (60 м. вод. ст.). Методика исследования основана на оценке клинической картины декомпрессионных нарушений, а также данных патоморфологического исследования. Оценивались следующие показатели: длительность скрытого периода до развития проявлений декомпрессионной болезни; выраженность проявлений; количество погибших животных в группе; среднее время гибели животных; ректальная температура до и после эксперимента; результаты патоморфологического исследования.

Результаты. У животных опытной группы № 2 декомпрессионные нарушения были менее выражены, чем в контрольной, о чем свидетельствовали судорожные паттерны, а также морфологическая картина, наблюдавшаяся у погибших животных при некропии.

У животных опытных групп № 3 и № 4 декомпрессионные нарушения не наблюдались.

Выводы. Жидкостное дыхание в условиях гипербарии с использованием оксигенированной и деазотированной в нормобарических условиях дыхательной жидкости может быть использовано для профилактики развития декомпрессионной болезни. Степень удаления из организма азота, растворенного в тканях, в условиях гипербарии непосредственно зависит от продолжительности ЖД.

Этика. Исследования с участием лабораторных животных проходили с соблюдением следующих нормативных актов: Хельсинкской декларации 2000 г. «О гуманном отношении к животным», Приказа Минздрава СССР № 755 от 12.08.1977 г. «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных», Приказа Минздравсоцразвития России № 199н от 01.04.2016 г. «Об утверждении правил лабораторной практики». Протокол исследования был одобрен этическим комитетом ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицины труда имени академика Н.Ф. Измерова».

Ключевые слова: жидкостное дыхание; дыхательная жидкость; перфтордекалин; перфторгексан; гипербария; декомпрессионная болезнь; кессонная болезнь

Для цитирования: Котский М.А., Бонитенко Е.Ю., Макаров А.Ф., Каниболоцкий А.А., Кочоян А.А., Литвинов Н.А. О возможности использования жидкостного дыхания для профилактики развития декомпрессионных нарушений. *Мед. труда и пром. экол.* 2022; 62(2): 91–100. <https://doi.org/10.31089/1026-9428-2022-62-2-91-100>

Для корреспонденции: Котский Михаил Андреевич, главный научный сотрудник целевой поисковой лаборатории трансляционной медицины ФПИ, ФГБНУ «НИИ МТ». E-mail: 79031227522@yandex.ru

Участие авторов:

- | | |
|-------------------|---|
| Котский М.А. | — концепция и дизайн исследования, разработка и создание экспериментального гипербарического стенда, сбор и обработка данных, написание текста; |
| Бонитенко Е.Ю. | — концепция и дизайн исследования, написание текста; |
| Макаров А.Ф. | — разработка и создание экспериментального гипербарического стенда, сбор и обработка данных; |
| Каниболоцкий А.А. | — проведение патоморфологических исследований; |
| Кочоян А.А. | — проведение патоморфологических исследований, редактирование; |
| Литвинов Н.А. | — сбор и обработка данных, редактирование. |

Финансирование. Работа была выполнена при финансовой поддержке Фонда перспективных исследований.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Дата поступления: 02.02.2022 / Дата принятия к печати: 17.02.2022 / Дата публикации: 25.03.2022

Mikhail A. Kotsky¹, Evgeny Yu. Bonitenko^{1,2}, Arthur F. Makarov¹, Alexander A. Kanibolotsky³, Arman L. Kochoyan⁴, Nikolai A. Litvinov¹

About possibility of using liquid respiration to prevent the development of decompression disorders

¹Izmerov Research Institute of Occupational Health, 31, Budyonnogo Ave. Moscow, 105275;

²North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, 47, Piskarevskij Ave., St. Petersburg, 195067;

³Research Institute of Emergency Care named after N.I. Sklifosovsky, 3, Bolshaya Sukharevskaya Sq., Moscow, 129090;

⁴Russian Center of Forensic Medical Examination, 12/13, Polikarpov St., Moscow, 125284

Introduction. The problem of crew emergency evacuation after prolonged hyperbaric conditions is complicated by the extended decompression necessity. It is impossible to reach normal pressure conditions without risk of decompression sickness in the most cases due to large amount of dissolved indifferent gases in the tissues.

Method for indifferent gases eliminating out of tissues to breathing liquid while liquid breathing is proposed. The absence of dissolved gases in the breathing liquid creates the pressure gradient that allows indifferent gases to diffuse through the alveolar-capillary barrier from the blood into the breathing liquid.

The purpose of the study is to assess the possibility of liquid breathing application to prevent the development of decompression disorders after a long previous stay in conditions of excessive pressure of the gas environment.

Materials and methods. Syrian hamsters, 4 months old, 120–140 g weight were used in the study. A mixture of perfluorodecalin and perfluorohexane 40:60 ratio was used as a breathing liquid. The animals were divided into four groups: control (№ 1) and three experimental by liquid breathing duration (№ 2, № 3 and № 4 was 15, 30 and 60 minutes, respectively).

For isobaric transition from gas to liquid breathing the special test bed was designed. The decompression sickness simulation in laboratory animals was carried out by ultrafast decompression (within 15 seconds) after a 60-minute exposure of 0.6 MPa air gauge pressure. The research method is based on the assessment of decompression disorders clinical picture and pathomorphological studies. The duration of the decompression sickness latent period, severity, animals' lethality, the average animals' lethal time, rectal temperature, results of pathomorphological examinations were evaluated.

Results. Decompression sickness symptoms such as twitches, convulsions and paresis were observed in the № 1 group animals. Rather less explicit symptoms of decompression sickness were found in the group № 2 in comparison of group № 1. It was assessed by clinical pictures and pathomorphological examinations. Decompression sickness symptoms were not found in none of animals of the groups № 3 and № 4.

Conclusions. The technology of liquid breathing with oxygenated and denitrogenated normobaric breathing liquid while hyperbaric conditions is possible to be applied for decompression sickness prevention. The dissolved in tissues nitrogen removal degree depends on the liquid breathing duration.

Ethics. The study was conducted in accordance with the ethical principles of the Declaration of Helsinki. The Clinical Study Protocol was reviewed at a meeting of the local Ethics Committee FSBSI IRIOH.

Keywords: liquid breathing; breathing liquid; perfluorodecaline; perfluorohexane; hyperbaria; decompression sickness; caisson disease

For citation: Kotsky M.A., Bonitenko E.Yu., Makarov A.F., Kanibolotsky A.A., Kochoyan A.L., Litvinov N.A. About possibility of using liquid respiration to prevent the development of decompression disorders. *Med. truda i prom. ecol.* 2022; 62(2): 91–100. <https://doi.org/10.31089/1026-9428-2022-62-2-91-100> (in Russian)

For correspondence: Mikhail A. Kotsky, Chief researcher of the target laboratory of translational medicine, Izmerov Research Institute of Occupational Health. E-mail: 79031227522@yandex.ru

Information about the authors: Makarov A.F. <https://orcid.org/0000-0002-0146-3862>

Kanibolotsky A.A. <https://orcid.org/0000-0001-6118-1405>

Kochoyan A.L. <https://orcid.org/0000-0002-1455-1247>

Contribution:

Kotsky M.A. — concept and design of the study, experimental hyperbaric setup development, data collection and processing, text writing;

Bonitenko E.Yu. — concept and design of the study, text writing;

Makarov A.F. — experimental hyperbaric setup development, data collection and processing;

Kanibolotsky A.A. — pathomorphological studies;

Kochoyan A.L. — pathomorphological studies, editing;

Litvinov N.A. — data collection and processing, editing.

Funding. The study was funded by The Advanced Research Foundation, Moscow, Russian Federation.

Conflict of interests. The authors declare no conflict of interests.

Received: 02.02.2022 / Accepted: 17.02.2022 / Published: 25.03.2022

Введение. На организм человека во время пребывания под избыточным давлением в барокамере или под водой действует комплекс неблагоприятных факторов, основными из которых являются повышенное давление газовой и/или водной среды, его перепады, а также обусловленные этим изменения парциальных давлений газов дыхательных смесей и градиентов напряжения газов, растворенных в тканях организма. Указанные факторы при определенных условиях могут приводить к возникновению специфических заболеваний и травм, протекающих в большинстве случаев остро с нарушением жизненно важных функций организма [1].

Лидирующие позиции среди нозологических форм, приводящих к стойкой утрате трудоспособности или гибели лиц, испытывающих воздействие повышенного давления и его перепадов, занимают декомпрессионная болезнь (ДКБ) и баротравма лёгких [2].

Под ДКБ в настоящее время понимают заболевание, возникающее вследствие однократного или повторяющегося воздействия неадекватной декомпрессии (снижения окружающего давления), которое сопровождается образованием в организме свободного газа и проявляется как комплекс патологических явлений в результате поражения ряда систем и расстройства их функций [3]. В патогенезе

заболевания играют роль как физические факторы (эмболия сосудов органов и тканей пузырьками газа, их механическое воздействие внутри и вне сосудистого русла, осмотические сдвиги вследствие неравномерного насыщения различных тканей газами-разбавителями) так и биохимические (свёртывание крови в сосудах, активация системы комплимента при контакте газа с кровью или тканями и др.). Особую значимость риск возникновения ДКБ приобретает при спасении подводников в тех случаях, когда возможности выхода из отсеков с повышенным давлением по «буйрепу» исчерпаны из-за превышения длительности пребывания, так как самостоятельный выход с прохождением ступенчатой декомпрессии в этом случае невозможен [4].

Физической предпосылкой к развитию указанных нарушений является газовое дыхание, предполагающее неизбежное наличие в дыхательных смесях газов-разбавителей, или метаболически индифферентных газов (азота, гелия и других), являющихся субстратом для внутри- и внесосудистого газообразования.

Однако открытие технологии синтеза перфторуглеродных (ПФУ) жидкостей позволило рассмотреть возможность использования принципиально нового субстрата для внешнего дыхания — дыхательных жидкостей (ДЖ), позволяющих транспортировать большое количество газа в растворенном виде. Исследования возможности обеспечить газообмен организма млекопитающих с помощью специальной ДЖ начались с начала 60-х годов прошлого века [5]. Особый интерес к этой технологии был отмечен со стороны специалистов, занимающихся гипербарической физиологией. Дыхание жидкостью, незначительно меняющей свой объем, позволяет минимизировать риск механических деформаций грудной клетки даже при значительных перепадах окружающего давления. Отсутствие индифферентных газов позволяет исключить риск внутри- и внесосудистого газообразования при любой скорости всплытия с любой глубины. Проведённые исследования подтвердили возможность экскурсионных спусков лабораторных животных из нормобарических условий на экстремальные, ранее недоступные глубины без риска развития ДКБ и баротравмы лёгких [6, 7].

Но вопрос внедрения метода жидкостного дыхания (ЖД) в практику до сих пор остаётся предметом дискуссий. Основоположающим контраргументом противников разработки этого метода является его актуальность с учётом существующих подходов к необходимости обеспечения пребывания человека в гипербарических средах. Интенсивное развитие автоматизированных систем и робототехники призвано обеспечить выполнение производственных задач на предельных для человека глубинах. В то время как проблема экстренной эвакуации лиц, выполнявших задачи в условиях гипербарии, осложняется необходимостью проведения длительной декомпрессии, так как в подавляющем большинстве случаев количество растворенных индифферентных газов в тканях не позволит перейти к нормальным условиям без риска возникновения смертельных форм ДКБ.

Высказано предположение о возможности создания на основе метода ЖД нового способа профилактики декомпрессионных нарушений в организме, пребывавшем под повышенным давлением и, как следствие, насыщенном растворенными метаболически индифферентными газами. Сущность способа заключается в элиминации индифферентных газов из тканей организ-

ма в окружающую среду в процессе дыхания жидкостью, содержащей только кислород в необходимом для метаболизма количестве. Отсутствие индифферентных газов в дыхательной жидкости при её высоких газотранспортных характеристиках создаёт необходимый градиент напряжений, позволяющий газам диффундировать через альвеоларно-капиллярный барьер в неё из крови. Указанный эффект представляет интерес с точки зрения возможности насыщения организма в гипербарических условиях для последующего быстрого перехода к нормобарическим условиям без необходимости соблюдения режима декомпрессии. Результаты математического моделирования и расчётных экспериментов подтвердили указанную выше гипотезу и показали теоретическую возможность быстрого насыщения организма, изначально пребывавшего в условиях повышенного давления воздушной среды, в процессе дыхания жидкостью, оксигенированной и деазотированной при нормобарических условиях.

Настоящее исследование посвящено экспериментальному подтверждению указанной выше гипотезы.

Цель исследования — оценка возможности использования жидкостного дыхания для профилактики развития декомпрессионных нарушений после предшествовавшего пребывания в условиях повышенного давления газовой среды.

Материалы и методы. Исследование основано на сравнительном анализе клинической картины смертельной формы ДКБ у хомяков сирийских в контрольной группе и результатов включения выдержки в течение 15, 30 или 60 минут на спонтанном дыхании в ДЖ перед безостановочной декомпрессией животных соответствующих опытных групп, подвергнутых аналогичному режиму гипербарического воздействия.

Исследование выполнено на половозрелых самцах сирийских хомяков, полученных из ООО «Крол-Инфо» возрастом 4 месяца, массой 120–140 г. Перед проведением исследования животных карантинировали в течение 14 дней. Во время карантина и в процессе исследования животные содержались в соответствии с требованиями ГОСТ 33215-2014¹ и ГОСТ 33215-2014² на стандартном водном и пищевом рационе в отдельном помещении.

Животные были распределены на четыре группы по 6 особей, с использованием массы тела в качестве основного критерия, таким образом, чтобы индивидуальное значение массы тела не отклонялось от среднего более чем на 10%. Характеристика условий проведения экспериментов для каждой из групп лабораторных животных представлена в **таблице 1**.

В процессе проведения исследования было установлено, что лабораторные животные существенно различаются, как по способности переходить на ЖД, так и длительно находиться на нём. В связи с чем из выборки были исключены животные:

- погибшие в процессе иммерсии в ДЖ в изобарических условиях. Гибели животных предшествовало затухание амплитуды и частоты дыхательных движений, среднее время наступления летальных исходов составило 29 ± 8 мин от начала иммерсии;

¹ ГОСТ 33215-2014 Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур.

² ГОСТ 33216-2014 Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами.

Распределение животных по группам в зависимости от условий тестирования
Distribution of animals into groups depending on the testing conditions

№ группы	Длительность, мин		Температура ДЖ, °С	Время декомпрессии, секунды*
	пребывания в среде сжатого воздуха при 6 АТИ	рассыщения с помощью ЖД при 6 АТИ		
1 (контроль)	60	0	ДЖ не использовали	120
2		15		
3		30		
4		60		

Примечание: * — декомпрессию проводили безостановочно с двухкратным замедлением скорости при переходе от 2 АТИ к нормальным условиям (для снижения риска возникновения баротравмы).

Note: * — decompression was performed non-stop with a twofold deceleration of speed during the transition from 2 ATI to normal conditions (to reduce the risk of barotrauma).

– у которых после ЖД в течение первых 20 мин после извлечения из камеры наблюдалось затухания дыхательной активности, приводящее к гибели.

Для проведения исследования был разработан экспериментальный лабораторный стенд, предназначенный для временного содержания мелких лабораторных животных под избыточным давлением до 0,8 МПа в газовой или жидкостной среде с возможностью смены одной среды на другую в изобарических условиях. Конструкция стенда позволяет варьировать как величиной, так и скоростями набора/сброса избыточного давления, а также временем воздействия на биообъект.

Стенд состоит из: монтажной панели; 2-х колб объёмом 1,6 л (одной для фиксации животного, второй для временного хранения ДЖ под заданным давлением в процессе эксперимента); замкнутого контура трубопроводов и газогидравлической арматуры, обеспечивающих поддержание и управление режимом гипербарического воздействия, а также процессом смены среды; баллона со сжатым воздухом, оснащенного редуктором для дозированной подачи сжатого воздуха при компрессии, поддержания заданного давления и вентиляции внутреннего объема колб (рис. 1).

Для моделирования гипербарического воздействия биообъект фиксировали в камере для содержания животного (1), позволяющей провести выдержку в условиях повышенного давления сжатого воздуха при осуществлении постоянной вентиляции для удаления образующегося в процессе жизнедеятельности биообъекта углекислого газа. Контроль величины избыточного давления осуществлялся с помощью манометра (3). По завершению экспозиции в газовой среде биообъект переводили на самостоятельное ЖД в иммерсии в ДЖ. Для этого ДЖ, изолированная от газообмена во время гипербарической выдержки, из резервуара (2) самотёком поступала в камеру (1), где содержалось животное, тем самым создавая условия для перехода последнего в изобарических условиях на самостоятельное ЖД в иммерсии в ДЖ. Перед проведением эксперимента ДЖ насыщалась кислородом до максимальных значений при температуре 22,0–24,0°С в условиях атмосферного давления.

Временем выдержки модельного биообъекта в иммерсии варьировали степень насыщения тканей от азота. Предотвращение газообмена между ДЖ и сжатым воздухом в процессе эксперимента, осуществлялось изоляцией резервуара запорными кранами (4), а также заполнением водой (5) всех трубопроводов, обеспечивающих процесс

смены газовой среды на дыхательную жидкость в изобарических условиях.

В качестве дыхательной жидкости была использована смесь перфтордекалина (ПФД) и перфторгексана (ПФГ) в соотношении 40:60.

Оксигенация ДЖ проводилась методом барботирования с помощью концентратора *Nidek Mark 5 nuvo Lite* (США) в течение часа с расходом кислорода 3 л/мин. Концентрация кислорода в ДЖ определялась в нормобарических условиях с помощью кислородомера Актаком АТТ-3010 (Россия) с функцией термометра и составляла ~90,0 об% от максимально возможного насыщения.

Давление в камере для содержания животного повышали путём добавления сжатого воздуха, пригодного для дыхания, до избыточного давления 0,6 МПа в течение 2-х минут с двухкратным замедлением скорости при наборе давления в интервале от 0 до 0,2 МПа. Животных выдерживали в гипербарической среде в течение 60 минут. Вентиляцию камеры обеспечивали постоянной подменой га-

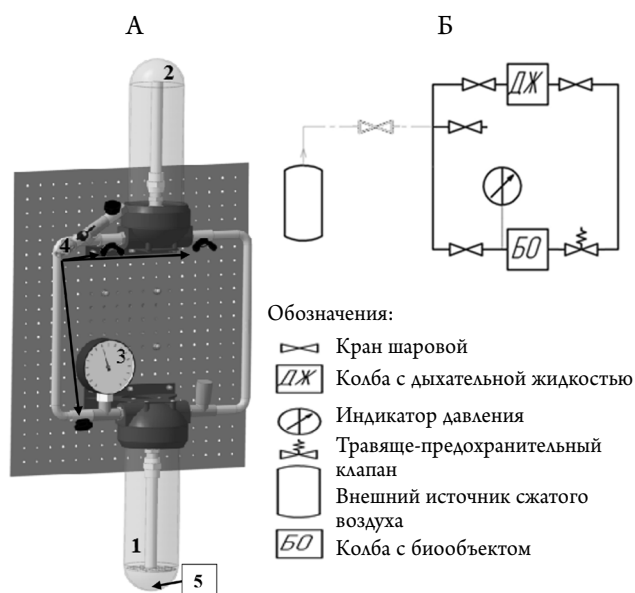


Рис. 1. Экспериментальный лабораторный стенд. А — общий вид: 1 — камера для содержания животного, 2 — резервуар, 3 — манометр, 4 — регулятор давления; Б — газогидравлическая схема.

Fig. 1. Experimental laboratory test bed. А — general view: 1 — animal holding chamber, 2 — reservoir, 3 — pressure gauge, 4 — pressure regulator; Б — gas-hydraulic circuit.

зового объёма камеры за счёт автоматической подачи воздуха при утечке газа через травяще-предохранительный клапан со скоростью около 1,0 л/мин. Декомпрессию животным контрольной группы проводили безостановочно с двукратным замедлением скорости при достижении значения давления 0,2 МПа до перехода к нормальным условиям (для снижения риска возникновения баротравмы). Аналогичная профилактика баротравмы лёгких животным опытных групп не осуществлялась — декомпрессию осуществляли с одинаковой скоростью в течение 15 секунд. Выбранный режим пребывания в гипербарической среде обеспечивал насыщение тканей азотом, приводящим к смертельным формам ДКБ у животных контрольной группы после декомпрессии, и исключал возникновение судорожной формы кислородного отравления в процессе пребывания под давлением.

Животных опытных групп перед началом декомпрессии переводили на спонтанное дыхание в иммерсии путём смены газовой среды камеры на ДЖ, предварительно оксигенированную до максимальных значений при нормобарических условиях и изолированную от контакта с газами под давлением. Заполнение осуществлялось со дна камеры с животным путём перетекания ДЖ по трубопроводу, свободный конец которого расположен в толще водного экрана, над которым располагалось животное. Тем самым обеспечивалось отсутствие прямого контакта ДЖ с гипербарической средой в процессе заполнения камеры. Время выдержки животных на спонтанном дыхании составляло 15, 30 и 60 минут в соответствующих группах. По окончании экспозиции проводили безостановочную декомпрессию в течение 15 секунд.

В процессе эксперимента регистрировали следующие показатели:

- длительность скрытого периода до развития проявлений ДКБ (мин);
- выраженность проявлений ДКБ по следующей полуколичественной шкале: «–» — признаки отсутствуют; «+» — повышенная двигательная активность, почёсывание; «++» — выраженные двигательные нарушения, генерализованные судороги.
- количество погибших животных в группе (%);
- среднее время гибели животных от декомпрессионной болезни и от других причин (мин);
- ректальная температура (°C) до и после эксперимента;
- результаты патоморфологического исследования.

Патоморфологическое исследование включало в себя аутопсию, макро- и микроскопическое (гистологическое) исследование внутренних органов. Фрагменты исследуемых органов фиксировались в 10% растворе забуференного формалина в течение 24 часов, далее материал проходил стандартную обработку в изопропиловом спирте и парафине для изготовления гистологических препаратов. Для микроскопического исследования срезы окрашивались гематоксилином и эозином. Морфологическое и микроморфометрическое исследование гистологических препаратов, проводилось при помощи светооптического микроскопа *Leica DM LS* (Германия) оснащенного окуляр-микрометром, микрофотографирование при помощи цифровой фотокамеры *Leica DC320*.

Протокол исследования был одобрен этическим комитетом ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицины труда имени академика Н.Ф. Измерова».

Статистическую обработку полученных данных проводили методами вариационной статистики при помощи программы *Microsoft Excel*. Для анализа данных применялась описательная статистика: подсчитаны средние значения (M) и стандартные ошибки среднего (m). Данные проверены на нормальность распределения с помощью критерия Шапиро–Уилка. Межгрупповые различия анализировались параметрическими методами с помощью критерия Стьюдента. Различия считали достоверными при $p < 0,05$. В отношении данных, принадлежащих к распределению, отличному от нормального, применяли непараметрический метод Манна–Уитни.

Результаты. В процессе исследований было установлено, что температура тела у животных контрольной группы (№ 1) после проведения декомпрессии и извлечения из камеры составляла $34,5 \pm 0,4^\circ\text{C}$ (табл. 2). У всех животных после короткого скрытого периода (продолжительностью до 7 мин) развивалась клиническая картина тяжёлой формы ДКБ, которая проявлялась выраженными неврологическими расстройствами. Сразу после извлечения из камеры у всех животных отмечались почёсывания и повышенная двигательная активность, в дальнейшем присоединялись мышечное дрожание и судорожные подёргивания, которые модифицировались в генерализованные клонические судороги. После нескольких судорожных приступов наблюдалось два варианта развития неврологических расстройств, заканчивавшихся неблагоприятным исходом: увеличение длительности судорог и сокращение светлых промежутков с последующим развитием бокового положения (с единичными судорожными паттернами) на фоне прогрессирующего угнетения дыхания; развитие гемипарезов и параличей передних и задних конечностей на фоне угасающей двигательной активности с периодами замирания и развитием клонико-тонических судорог с последующей адинамией и быстрым развитием апноэ. Гибель животных в контрольной группе составила 100%, при среднем времени развития летальных исходов — $10,3 \pm 2,8$ мин (табл. 3).

В группе № 2, находившейся на ЖД в течение 15 мин, температура тела после извлечения составляла $27,3 \pm 0,3^\circ\text{C}$. Клинические проявления ДКБ развивались после скрытого периода, продолжительность которого составляла 132 ± 20 мин. В отличие от контрольной группы, неврологические нарушения проявлялись единичными судорожными подёргиваниями, развивавшимися на фоне атаксии и субступорозного состояния.

При неблагоприятном течении (в 66,7% случаев) наблюдалось угасание дыхательной активности, при этом среднее время гибели животных составляло 141 ± 21 мин (таблица 3). При благоприятном течении судорожные приступы не наблюдались. Гибели животных в более поздние сроки в этой группе не регистрировалось.

В свою очередь, в группе № 3 (с длительностью ЖД — 30 мин) температура тела после извлечения составляла $25,0 \pm 0,3^\circ\text{C}$. Декомпрессионные нарушения в этой группе не наблюдались. Неблагоприятные исходы были зарегистрированы в 83,3% случаев. Причём отмечалось два пика гибели животных: первый (ранний) на 328 ± 34 мин, второй (поздний) — на 840 и 920 мин (таблица 3). В первом случае гибели животных предшествовал эпизод тахипноэ с последующим угнетением дыхания, во втором — наблюдалось только угнетение дыхания.

При анализе результатов, полученных в группе № 4, обращала на себя внимание наиболее низкая температура

Таблица 2 / Table 2

Клинические проявления декомпрессионных нарушений Decompression disorders clinical manifestations

№ группы	t ректальная, °C		Скрытый период до развития ДКБ, мин	Выраженность проявлений ДКБ	Количество погибших к общему числу животных в группе
	до	после			
1	36,5±0,3	34,5±0,4	5,9±1,1	++	6/6
2		27,3±0,3	132±20	+ / ++	4/6
3		25,0±0,3	–	–	5/6
4		23,0±0,5	–	–	5/6

Примечание: «–» — признаки отсутствуют; «+» — повышенная двигательная активность, почёсывание; «++» — выраженные двигательные нарушения, генерализованные судороги.

Note: "–" — there are no signs; "+" — increased motor activity, scratching; "++" — pronounced motor disorders, generalized seizures.

Таблица 3 / Table 3

Причины и сроки гибели лабораторных животных Causes and timing of death of laboratory animals

№ группы	Количество погибших животных (%)	Среднее время гибели, мин (количество животных)		
		от ДКБ	не от ДКБ	
			Пик гибели № 1	Пик гибели № 2
1	6 (100)	10,3±2,8	–	–
2	4 (66,7)	141±21	–	–
3	5 (83,3)	–	328±34 (3)	880±40 (2)
4	5 (83,3)	–	960±92 (4)	4320 (1)

тела лабораторных животных при извлечении из камеры, которая составляла 23,0±0,5°C. Декомпрессионные нарушения в течение всего периода наблюдения в этой группе не регистрировались. Летальность животных за весь период наблюдения составила — 83,3%. Основное количество неблагоприятных исходов было зарегистрировано через 960±92 мин после извлечения животных из камеры и один — через 3 суток (4320 мин). Гибель всех животных наблюдалась на фоне снижения дыхательной активности. Характерным признаком во всех случаях являлось наличие кровянистых выделений из носа и рта.

Проведено 28 (патологоанатомических исследований погибших (6 в контрольной и 14 в опытных группах), а также 4 выживших животных, подвергшихся эвтаназии на 7 сутки после эксперимента, и 4 животных опытных групп, исключённых из эксперимента в связи с их гибелью в период пребывания животного в иммерсии в ДЖ (2) или в первые минуты после извлечения из станда при полном отсутствии самостоятельной двигательной активности (2).

При патоморфологическом исследовании было установлено, что в контрольной группе морфологическая картина соответствует тяжёлой форме ДКБ, что проявляется наличием газовых эмболов в артериальных и венозных сосудах сердца; обильным пенообразованием, регистрируемом при рассечении крупных сосудов грудной и брюшной полости, а также камер сердца; отёком головного мозга с множественными очаговыми кровоизлияниями при отсутствии морфологических и гистологических изменений со стороны других органов.

Значительный интерес представляли результаты морфологических исследований животных опытных групп, исключённых из эксперимента в связи с их гибелью в период пребывания в иммерсии в ДЖ. У этих животных при

макроскопическом исследовании регистрировалось пенообразование после рассечения крупных сосудов грудной и брюшной полости и полостей сердца, а также газовые эмболы в артериальных и венозных сосудах сердца. Отличительной особенностью этой группы являлись «мармеладные» лёгкие: с поверхности и на разрезе гладкие, блестящие, светло-красного (розового) цвета, на ощупь — эластичной консистенции; с поверхностей разрезов стекает большое количество светлой прозрачной и светло-розовой жидкости (рис. 2А).

При гистологическом исследовании «мармеладных» лёгких бронхи и альвеолы были пустыми, с признаками слабо выраженной эмфиземы, отмечалось также полнокровие капилляров межальвеолярных перегородок и очаговые кровоизлияния (рис. 3А, 3Б). У этих животных также регистрировался умеренный отёк ткани головного мозга, преимущественно периваскулярный, со стороны других органов и тканей изменений выявлено не было.

Во второй группе гибель животных наблюдалась на фоне прогрессирующей дыхательной недостаточности. Наблюдалась пенистые кровянистые выделения из верхних дыхательных путей. Лёгкие «печёночные»: с поверхности и на разрезе гладкие, блестящие, тёмно-красного цвета, плотно-эластичной консистенции, с поверхностей разрезов стекает умеренное количество розовой полупрозрачной жидкости (рис. 2Б). При микроскопическом исследовании определялась очаговая эмфизема и кровоизлияния. Отмечался выраженный периваскулярный отёк вещества мозга. Кроме того, в печени регистрировалось полнокровие синусоидов, зернистость цитоплазмы. Со стороны других органов и тканей изменений не наблюдалось.

Как упоминалось ранее, для животных третьей группы были зарегистрированы два пика гибели. Развитие летальных исходов в обоих случаях наблюдалось также на

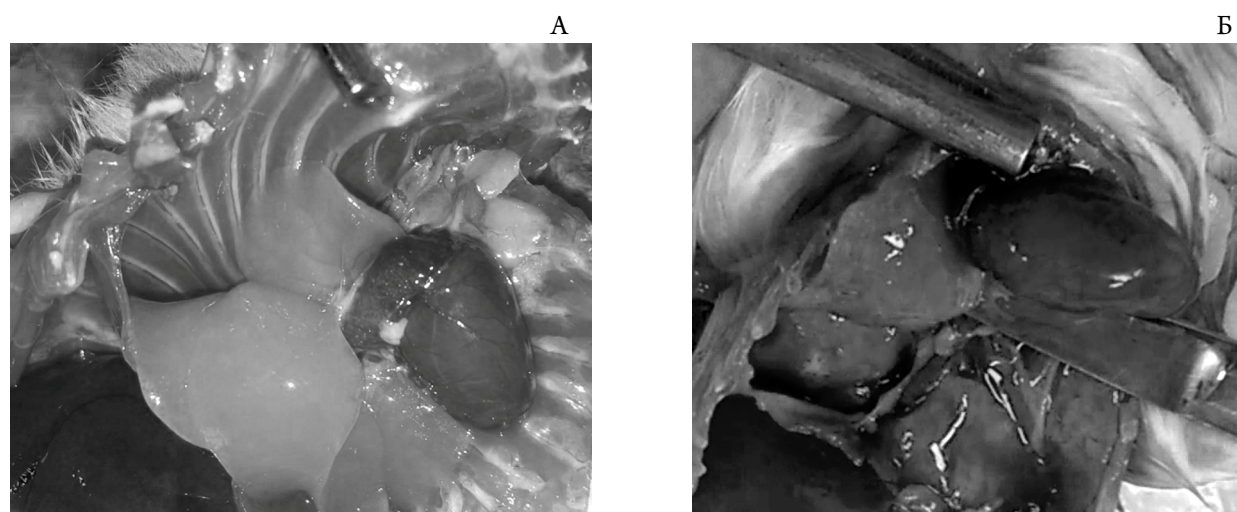


Рис. 2. Макроскопическая картина лёгких после жидкостного дыхания. А — «мармеладные»; Б — «печёночные»

Fig. 2. Macroscopic image of the lungs after liquid breathing. A — «marmalade» B — «liver»

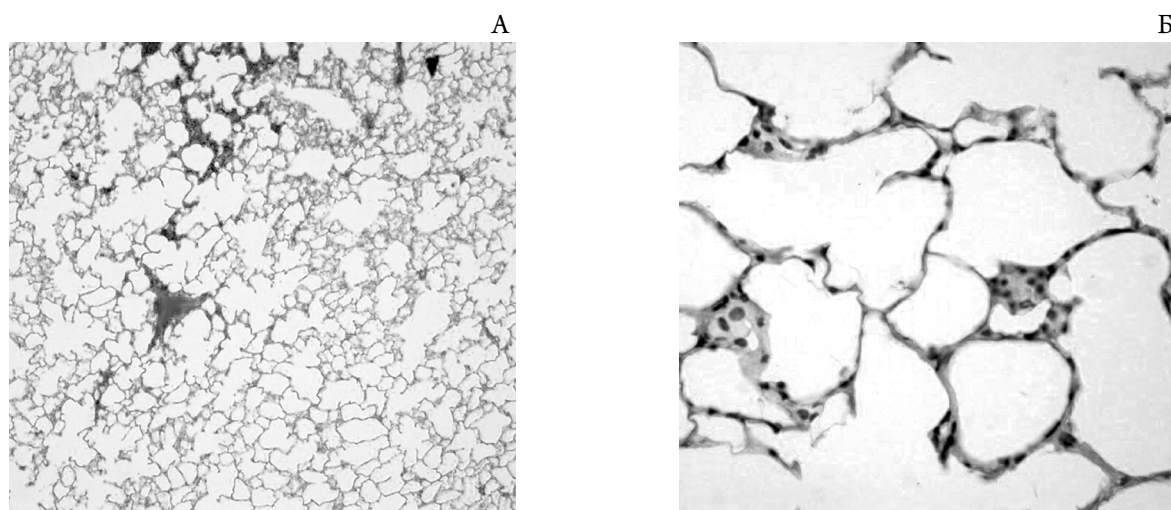


Рис. 3. Микроскопическое исследование «мармеладных» лёгких. Окраска гематоксилин и эозин: А — увеличение $\times 50$; Б — увеличение $\times 400$

Fig. 3. Microscopic examination of «marmalade» lungs. Staining hematoxylin and eosin: A — magnification $\times 50$; B — magnification $\times 400$

фоне прогрессирующей дыхательной недостаточности. При макроскопическом исследовании во всех случаях отмечались «печёночные» лёгкие, других особенностей выявлено не было.

В свою очередь, результаты микроскопического исследования существенно различались в зависимости от сроков гибели животных. Так, при исследовании ткани лёгких в первом случае наблюдалась очаговая эмфизема, в части альвеол пенистое содержимое, капилляры были резко полнокровны, во втором случае — признаки эмфиземы отсутствовали. При гибели в ранние сроки полости сердца не были расширены, миокард обычного строения, наблюдалось полнокровие сосудов. В поздние сроки отличительной особенностью была дистрофия миокардиоцитов. В обоих случаях регистрировался выраженный периваскулярный и перицеллюлярный отёк вещества мозга. При микроскопии печени в ранние сроки наблюдалось резко выраженное полнокровие центральных вен, зернистая и мелкокапельная дистрофия гепатоцитов, в поздние — дистрофия гепатоцитов носила тотальный характер.

В четвёртой группе гибель животных так же, как и во всех группах, развивалась на фоне прогрессирующей дыхательной недостаточности. При гибели в ранние сроки (на 880 ± 40 мин) макроскопически регистрировались пенные кровянистые выделения из дыхательных путей, а также «печёночные» лёгкие. Микроскопическая картина органов и тканей полностью соответствовала картине, зарегистрированной в третьей группе при ранней гибели животных.

Особое внимание обращали на себя результаты макро- и микроскопического исследования животного 4-й группы, погибшего на 4320 мин (в конце 3-х суток). У этого животного при макроскопическом исследовании в левой плевральной полости был обнаружен свёрток крови, располагающийся между нижней поверхностью нижней доли и диафрагмой. Левое лёгкое было уменьшено в размерах и заполняло плевральную полость на $\frac{1}{3}$, с поверхности серо-красного цвета с коричневым оттенком, на ощупь плотноватое. В прикорневой области левого лёгкого было зарегистрировано интенсивное темно-красное кровоизлияние размерами $0,5 \times 0,3$ см с вертикальным прямолинейным

разрывом лёгочной паренхимы. Правое лёгкое — расширено, полностью заполняет плевральную полость — викарная эмфизема. На ощупь — неравномерное воздушное, коричневатого-красного цвета с очаговым тёмно-красным кровоизлиянием 0,3×0,1 см на нижней поверхности нижней доли, ориентированное горизонтально. На разрезах ткань лёгких коричнево-красного цвета, по периферии — серо-красного цвета. Плавающая (поплавковая) проба положительная на обоих лёгких. Сердце дрябкое, кровоизлияний под оболочками нет. Головной мозг — мягкая мозговая оболочка неравномерного кровенаполнения. При микроскопическом исследовании: лёгкие без признаков эмфиземы, в части альвеол пенистое содержимое, капилляры резко полнокровны; полости сердца расширены, дистрофия миокардиоцитов; выраженный периваскулярный и перичеллюлярный отёк головного мозга; зернистая и мелкокапельная дистрофия гепатоцитов, резко выраженное полнокровие синусоидов. Со стороны других органов и систем без особенностей.

У животных опытных групп, подвергшихся эвтаназии в конце 7-х суток после проведения эксперимента, данные макро- и микроскопического исследования были схожими. Обращали на себя внимание «печёночные» лёгкие. Микроскопически определялась: очаговая субплевральная эмфизема альвеол в ряде случаев с разрывом межальвеолярных перегородок, интраальвеолярные кровоизлияния, во многих альвеолах определялось пенистое содержимое (рис. 4А); гипертрофия миокардиоцитов; полнокровие капилляров головного мозга, очаговые кровоизлияния под мягкой мозговой оболочкой; полнокровие центральных вен печени; вакуольная мелко- и среднекапельная жировая дистрофия 100% гепатоцитов (рис. 4Б).

Обсуждение. Спецификой настоящего исследования являлась необходимость предварительного подбора ряда ключевых элементов таких, как модельный биообъект, состав ДЖ, режимы гипербарического воздействия, а также критериев оценки выраженности ДКБ.

В качестве тест-объекта нами был выбран хомяк сирийский, как наиболее устойчивый вид к самостоятельному ЖД в условиях иммерсии.

Выбор в качестве ДЖ смеси ПФУ соединений в соотношении 40:60 перфтордекалина и перфторгексана был

обусловлен тем обстоятельством, что в случае использования чистого ПФД возникали сложности с обеспечением необходимой продолжительности самостоятельного ЖД, а при применении ПФГ — проблемы с выживаемостью экспериментальных животных после ЖД. По результатам проведённых предварительных исследований смесь ПФУ соединений в использованном нами соотношении обладала наилучшими характеристиками, как по продолжительности самостоятельного ЖД, так и по выживаемости.

Основным критерием выбора режимов компрессии, выдержки и последующей декомпрессии являлся факт развития тяжёлой формы ДКБ с гибелью 100% животных в контрольной группе в течение 10–15 минут после декомпрессии.

Факт развития ДКБ и её степень подтверждались динамикой клинических проявлений, а причина гибели устанавливалась на основании патологоанатомического исследования, включавшего в себя визуальное обследование погибшего животного и его органов, а также результатов гистологического исследования.

В процессе исследования у животных всех групп развивалась гипотермия. В контрольной группе за время пребывания животных в гипербарии ректальная температура снижалась на 2,0°C. В свою очередь, в экспериментальных группах снижение температуры тела было более значительным и непосредственно зависело от продолжительности ЖД. Так, в группах № 2, № 3 и № 4 температура тела была ниже, чем в контроле на 7,2, 9,4 и 11,5°C соответственно, что свидетельствовало о развитии у животных экспериментальных групп глубокой гипотермии, что, в свою очередь, не могло не повлиять на развитие и течение декомпрессионных нарушений. О таком влиянии свидетельствуют результаты, полученные нами у животных, исключённых из выборки, в связи с их гибелью в опытных группах в первые минуты после извлечения из стэнда при полном отсутствии самостоятельной двигательной активности. Гибель этих животных наступала в результате прогрессирующей дыхательной недостаточности, развивавшейся без предшествовавших неврологических нарушений. В свою очередь, при патоморфологическом исследовании регистрировались достоверные признаки декомпрессионной болезни — пенообразование при пере-

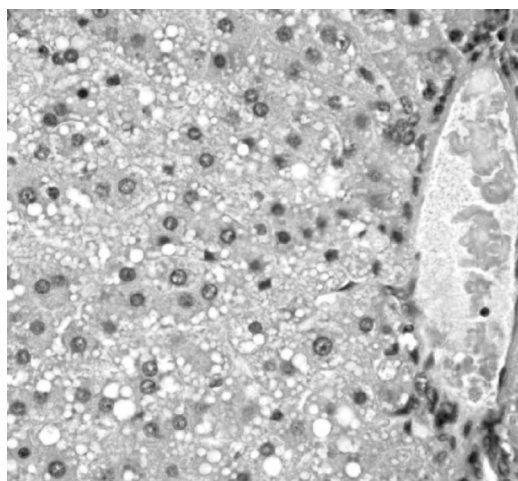
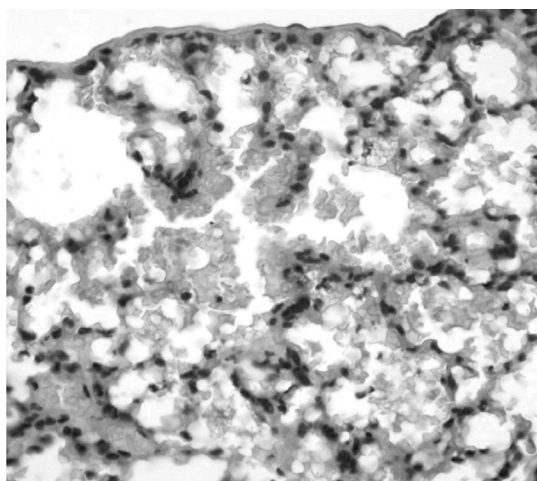


Рис. 4. Микроскопическое исследование тканей животных опытных групп, подвергшихся эвтаназии на 7-е сутки. Окраска гематоксилин и эозин: А — лёгкое, увеличение ×400; Б — печень, увеличение ×400
Fig. 4. Microscopic examination of the tissue of animals of experimental group, euthanized on the day 7. Staining hematoxylin and eosin: A — lungs, magnification ×400; B — liver, magnification ×400

сечении крупных сосудов грудной, брюшной полости и камер сердца.

Характерные признаки ДКБ наблюдались и у животных, погибших в процессе спонтанного дыхания в иммерсии в ДЖ. Отличительной особенностью у этих животных были «мармеладные» лёгкие. При гистологическом исследовании «мармеладных» лёгких бронхи и альвеолы были пустыми, с признаками слабо выраженной эмфиземы, отмечалось также полнокровие капилляров межальвеолярных перегородок и очаговые кровоизлияния. Следует отметить, что такая гистологическая картина была связана с особенностями подготовки препаратов для световой микроскопии, при которой ПФУ соединения испарялись из бронхиол и альвеол, а об их присутствии свидетельствовала только сохранившаяся эмфизема различной степени выраженности. Случаи гибели животных с указанными признаками наблюдались нами и на этапе подбора состава ДЖ, что позволяет исключить фактор гипербарического воздействия как основной в развитии описываемой патологии. Учитывая клиническую картину гибели животных, результаты макро- и микроскопического исследования лёгких, можно с высокой степенью вероятности говорить о развитии у этих животных особой формы острого респираторного дистресс-синдрома, характерного только для ЖД. Возможной причиной последнего могла являться токсико-аллергическая реакция на ДЖ или содержащиеся в ней примеси. Можно предположить, что развитие «мармеладных» лёгких приводило к нарушению газообмена в лёгочной ткани, что не позволяло, с одной стороны эффективно удалять из организма индифферентные газы, накопившиеся в организме в условиях избыточного давления газовой среды, а с другой, — обеспечивать адекватное поступление кислорода и удаление углекислого газа.

Как показывают результаты исследований в группе № 2, у животных развивались декомпрессионные нарушения, однако менее выраженные, чем в контрольной, о чем свидетельствовали судорожные паттерны, а также морфологическая картина, наблюдавшаяся у погибших животных. Уменьшение выраженности декомпрессионных нарушений, а также гибели животных было, с одной стороны, связано с развитием у животных гипотермии, а с другой, — удалением из организма в процессе ЖД части азота, растворенного в процессе воздействия избыточного давления газовой среды.

У животных групп № 3 и № 4 декомпрессионные нарушения не наблюдались, что свидетельствует о более полном удалении из организма в процессе ЖД растворенного при гипербарическом воздействии азота. Гибель животных в этих группах была связана с неблагоприятным действием самой дыхательной жидкости, в котором можно выделить два компонента. Первый — это неблагоприятное действие на лёгочную паренхиму, которое было зарегистрировано при ранней гибели животных в группах № 3 и № 4, и проявлялось пенистым отделяемым из верхних дыхательных путей, а при гистологическом исследовании — наличием очаговой эмфиземы, пенистым содержимым в альвеолах, а также полнокровием капилляров при не выраженных изменениях в миокарде, печени и головном мозге. Второй — неблагоприятное действие на организм в целом, которое наиболее ярко проявлялось при поздней гибели животных 3-й группы. У этих животных признаки поражения лёгких отсутствовали, однако наблюдались

серьёзные гистологические изменения со стороны других органов и тканей, такие как выраженная дистрофия миокардиоцитов, периваскулярный и перичеллюлярный отёк вещества мозга, а также тотальная дистрофия гепатоцитов. Указанные выше изменения свидетельствовали о развитии у животных полиорганной недостаточности, которая и являлась основной причиной неблагоприятных исходов. Подтверждением этому могут быть результаты патоморфологического исследования погибшего в поздние сроки в 4-й группе животного, а также эвтаназированных на 7-е сутки.

Кроме того, следует отметить, что несмотря на быструю безостановочную декомпрессию в течение 15 секунд в ходе исследования не было зафиксировано случаев гибели животных от баротравмы лёгких, являющейся жизнеугрожающим нарушением независимо от клинической формы. При этом результаты патоморфологического исследования животного 4-й группы, погибшего на 4320 мин (в конце 3-х суток), согласно которым было отмечено повреждение висцеральной плевры и лёгочной паренхимы, не опровергают высказанное, так как плевральная полость содержала продукты кровотечения и не содержала ДЖ, что может свидетельствовать о развитии травмы уже после декомпрессии. Однако мы не исключаем возможность существования и других причин, которые могли привести к указанным выше изменениям. В завершении обсуждения следует отметить, что полученные результаты подтверждают высказанную нами ранее гипотезу.

Выводы:

1. ЖД в условиях гипербарии с использованием оксигенированной и деазотированной в нормобарических условиях ДЖ может быть использовано для удаления из организма азота, растворенного в тканях организма при воздействии повышенного давления газовой (воздушной) среды, а, следовательно, и для профилактики развития ДКБ при проведении ультрабыстрых режимов декомпрессии. Степень удаления из организма азота, растворенного в тканях, в условиях гипербарии непосредственно зависит от продолжительности ЖД.

2. ЖД в иммерсии в ДЖ температурой 22,0–24,0°C в гипербарии приводит к развитию у мелких лабораторных животных гипотермии, степень выраженности которой пропорциональна длительности ЖД.

3. Причинами летальных исходов при использовании в условиях гипербарии ЖД, предварительно оксигенированной и деазотированной в нормобарии ДЖ (смеси ПФД и ПФГ в соотношении 40:60), после воздействия избыточного давления газовой (воздушной) среды могут быть патологические процессы, вызванные различными факторами:

- сочетанным воздействием ДЖ и глубокой гипотермии;
- сочетанным действием неполной декомпрессии и ДЖ на лёгочную паренхиму;
- токсическим действием ДЖ преимущественно на лёгочную ткань (синдром «мармеладных» лёгких);
- токсическим действием ДЖ на организм в целом (синдром полиорганной недостаточности).

4. Синдром «мармеладных» лёгких является самостоятельным вариантом течения острого респираторного дистресс-синдрома, развивающегося в процессе дыхания перфторуглеродными жидкостями.

Список литературы

1. Приказ Минздравсоцразвития России от 17.12.2020 № 922н «Об утверждении Правил по охране труда при проведении водолазных работ».
2. Щеголев В.А., Попов С.В. Несчастные случаи, возникающие с водолазами в связи с особенностями водной среды и несоблюдением мер безопасности. *Медико-биологические и социально-психологические проблемы безопасности в чрезвычайных ситуациях*. 2013; 2: 27–31.
3. Смолин В.В., Соколов Г.М., Павлов Б.Н. *Декомпрессионная болезнь*. Калининград: Страж Балтики; 2010.
4. Советов В.И. Перспективы медицинского обеспечения операций военно-морского флота России по спасению личного состава аварийных подводных лодок методом свободного всплытия. *Медико-биологические и социально-психологические проблемы безопасности в чрезвычайных ситуациях*. 2010; 4–2: 51–3.
5. Clark L.C. Jr, Gollan F. Survival of mammals breathing organic liquids equilibrated with oxygen at atmospheric pressure. *Science*. 1966; 152(3730): 1755–6. <https://doi.org/10.1126/science.152.3730.1755> PMID: 5938414.
6. Gollan F, Clark L.C. Jr. Rapid decompression of mice breathing fluorocarbon liquid at 500 PSI. *Ala J Med Sci*. 1967; 4(3): 336–7. PMID: 6075351.
7. Kylstra J.A., Nantz R., Crowe J., Wagner W., Saltzman H.A. Hydraulic compression of mice to 166 atmospheres. *Science*. 1967; 158(3802): 793–4. <https://doi.org/10.1126/science.158.3802.793> PMID: 5233373.

References

1. Order of the Ministry of Health and Social Development of Russia dated 17.12.2020 No. 922n "On Approval of Rules for Labor Protection during Diving Operations" (in Russian).
2. Shchegolev V.A., Popov S.V. Accidents arising with divers in connection with the peculiarities of the aquatic environment and non-compliance with safety measures. *Mediko-biologicheskie i sotsial'no-psikhologicheskie problemy bezopasnosti v chrezvychajnykh situatsiyakh*. 2013; 2: 27–31 (in Russian).
3. Smolin V.V., Sokolov G.M., Pavlov B.N. *Decompression disease*. Kaliningrad: Guardian of the Baltic; 2010 (in Russian).
4. Sovetov V.I. Prospects for medical support of operations of the Russian Navy to rescue the personnel of emergency submarines by the method of free surfacing. *Mediko-biologicheskie i sotsial'no-psikhologicheskie problemy bezopasnosti v chrezvychajnykh situatsiyakh*. 2010; 4–2: 51–3 (in Russian).
5. Clark L.C. Jr, Gollan F. Survival of mammals breathing organic liquids equilibrated with oxygen at atmospheric pressure. *Science*. 1966; 152(3730): 1755–6. <https://doi.org/10.1126/science.152.3730.1755> PMID: 5938414.
6. Gollan F, Clark L.C. Jr. Rapid decompression of mice breathing fluorocarbon liquid at 500 PSI. *Ala J Med Sci*. 1967; 4(3): 336–7. PMID: 6075351.
7. Kylstra J.A., Nantz R., Crowe J., Wagner W., Saltzman H.A. Hydraulic compression of mice to 166 atmospheres. *Science*. 1967; 158(3802): 793–4. <https://doi.org/10.1126/science.158.3802.793> PMID: 5233373.