

DOI:10.15360/1813-9779-2019-4-76-87

Experimental Studies

Предупреждение нарушений барьерной функции кишечника при острой массивной кровопотере (экспериментальное исследование)

А. Ю. Яковлев¹, Г. А. Бояринов², Д. В. Рябиков³,
М. А. Рябикова³, Д. М. Протасов¹, И. В. Мухина²

¹ Нижегородская областная клиническая больница им. Н. А. Семашко,
Россия, 603126, г. Нижний Новгород, ул. Родионова, д. 190

² Приволжский исследовательский медицинский университет,
Россия, 603005, г. Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, д.10/1

³ Городская клиническая больница № 13,
Россия, 603018, г. Нижний Новгород, ул. Патриотов, д. 51

Prevention of Gut Barrier Dysfunction During Acute Massive Blood Loss (Experimental Study)

Alexey Y. Yakovlev¹, Gennady A. Boyarinov², Dmitry V. Ryabikov³,
Mariya A. Ryabikova³, Dmitry M. Protasov¹, Irina V. Mukhina²

¹ N. A. Semashko Nizhny Novgorod Regional Clinical Hospital,
190 Rodionova Str., 603126 Nizhny Novgorod, Russia

² Privolzhsky Research Medical University,
10/1 Minin and Pozharsky Square, N. Novgorod 603950, Russia

³ City Clinical Hospital № 13,
51 Patriotov Str., 603018 Nizhny Novgorod, Russia

Цель исследования: изучить влияние инфузионной коррекции гиповолемии малатсодержащими препаратами и последующей глутаминобогатой нутритивной поддержки на поддержание барьерной функции кишечника и гипергидратацию у животных с острой массивной кровопотерей.

Материалы и методы. У 100 крыс после острой кровопотери (30% ОЦК) провели бактериальные «посевы» крови, исследование липополисахарида и пресепсина в крови хвостовой и воротной вен, структуры толстой кишки и веса животных через 1 час, сутки и 3 суток после восполнения гиповолемии. В 1-й серии применяли раствор Рингера и стандартную питательную смесь, во 2-й серии — малатсодержащий раствор и стандартную питательную смесь, в 3-й серии — малатсодержащий раствор и глутаминобогатую питательную смесь.

Результаты. У интактных животных в крови воротной вены значения эндотоксина составляли $17,8 \pm 3,9$ пг/мл, пресепсина — $405,6 \pm 80,1$ пг/мл. «Посевы» крови из хвостовой и воротной вен на всех эта-пах показали отсутствие бактериального роста, что подтверждает сохранение кишечного барьера для живых микроорганизмов. Через 1 час после восполнения гиповолемии и реинфузии крови отмечали многократный рост эндотоксина в крови воротной и хвостовой вены с достоверным увеличением уровня пресепсина. Через сутки после кровопотери во 2-й и 3-й сериях животных значения эндотоксина, пресепсина, отека слизистой оболочки и подслизистого пространства толстой кишки были меньше, чем в 1-й серии. Через 3 суток определили преимущества глутаминсодержащего питания в 3-й серии эксперимента: сдерживание нарастания эндотоксина и пресепсина в крови воротной и хвостовой вены, интерстициального отека толстой кишки, увеличения веса животного.

Заключение. Применение малатсодержащих инфузионных препаратов и глутаминобогатого питания после острой массивной кровопотери способствует снижению выработки пресепсина в органах желудочно-кишечного тракта, транслокации эндотоксина в воротную вену и системный кровоток, уменьшению степени выраженности отека слизистой оболочки, подслизистого пространства толстой кишки и нарастания веса животных.

Ключевые слова: кровопотеря; липополисахарид; пресепсин; глутамин; малат

Purpose of the study: to investigate the influence of hypovolemia correction by infusion of malate-containing preparations and subsequent glutamine-enriched nutritional support on the maintenance of gut barrier and overhydration in animals with acute massive blood loss.

Адресс для корреспонденции:

Алексей Юрьевич Яковлев
E-mail: aritnru@list.ru

Correspondence to:

Alexey Yu. Yakovlev
E-mail: aritnru@list.ru

Materials and methods. Blood samples were harvested from the tail and portal veins of rats ($n=100$) at different time points after the acute blood loss ($>30\%$ V/V). Bacterial blood cultures for growth, lipopolysaccharide and presepsin concentrations, colon structures and animal weight were analyzed in blood and plasma specimens 1 hour, one day and 3 days after the hypovolemia correction. To correct the hypovolemia, in the 1st series of experiments, the Ringer's solution and standard nutrient mixture were used; in the 2nd series malate-containing solution and standard nutrient mixture were administered; in the 3rd series a malate-containing solution and glutamine-enriched nutrient mixture were employed.

Results. In the portal vein blood of intact animals, endotoxin measurement was equal to 17.8 ± 3.9 pg/ml, that of presepsin — 405.6 ± 80.1 pg/ml. At all stages, tail and portal blood bacterial cultures were negative demonstrating an absence of bacterial growth and gut barrier intactness for live microorganisms. One hour after hypovolemia correction and blood reinfusion, multifold increase in endotoxin concentration in the blood from both portal and tail veins was accompanied by significant increase of presepsin concentration. 24 hours after the blood loss, in the animals of the 2nd and 3rd series, the levels of endotoxin, presepsin, and edema of the colon mucous membrane and submucosal space has become lower than those in the 1st series. Three days later, the advantages of glutamine-containing nutrition in the 3rd series of the experiment were determined that revealed decreasing the endotoxin and presepsin concentrations in the portal and tail vein blood and diminishing the levels of interstitial edema of colon and animal weight growth.

Conclusion. Administration of malate-containing infusion preparations and glutamine-enriched nutrition after an acute massive blood loss contributes to decreasing presepsin production in GIT organs, abrogating endotoxin translocation into the portal vein and systemic circulation, lessening severity of edema of the mucous membrane and submucosal space of the colon, and reducing the previously increased animal body mass.

Keywords: blood loss; lipopolysaccharide; presepsin; glutamine; malate

DOI:10.15360/1813-9779-2019-4-76-87

Введение

Возникающие при критических состояниях нарушения перфузии кишечника вызывают его ишемические, реперфузионные и в последующем — воспалительные повреждения. Продолжительное нарушение барьерной функции кишечника требует разработки эффективных методов предупреждения транслокации микроорганизмов и биологически активных продуктов их жизнедеятельности [1, 2]. Резидентные макрофаги кишечника могут быстро реагировать на действие стимулов окружающей среды [3]. Активация макрофагов приводит к увеличению выработки ими цитокинов, хемокинов и других медиаторов воспаления, в том числе и пресеписина при взаимодействии с живыми микроорганизмами [4].

В этих условиях положительное постоянное влияние низких концентраций эндотоксина на функционирование иммунной системы здоровых людей сменяется резко увеличивающимся потоком транслоцируемого липополисахарида (ЛПС) грамотрицательных бактерий в бассейн воротной вены с последующим попаданием в системный кровоток, что может активно влиять как на тяжесть развивающейся полиорганной дисфункции, так и на лабораторную оценку выявленных нарушений с разработкой мероприятий, влияющих на механизмы выявленных нарушений [5–7]. Развивающаяся при повреждении и воспалении повышенная проницаемость кишечного барьера может отрицательно отразиться на динамике жидкостного баланса и гипергидратации не только

Introduction

Gut perfusion alterations occurring during critical conditions cause ischemia, reperfusion, and later — inflammatory damage. Prolonged gut barrier dysfunction requires development of effective methods of preventing the translocation of microorganisms and biologically active products of their vital activity into the circulation [1, 2]. Resident macrophages of the gut might respond fast to the effects of environmental stimuli [3]. Following interactions with live microorganisms, activation of macrophages leads to increased production cytokines, chemokines and other mediators of inflammation, including presepsin [4].

Under these circumstances, the positive immunostimulating effect of low concentrations of endotoxin on immune system in healthy people is changing, due to drastically increased flow of translocated lipopolysaccharide (LPS) of gram-negative bacteria into the portal vein and systemic circulation, to overwhelming concentration of endotoxin. That may intensively affect both the severity of multiple organ dysfunction and the laboratory assessment of consequences of increased endotoxin concentration [5–7]. Increased gut barrier permeability during damage and inflammation might adversely affect the fluid balance dynamics and overhydration not only in the gut but in other vital organs as well. Preventing acute intestinal failure and endotoxemia in experimental animals after an acute massive bleeding seems highly promising in increasing surviving following blood loss.

Purpose of the study: to investigate the influence of correction of hypovolemia using infusion of

в кишечнике, но и в других жизненно важных органах.

В связи с этим представляется перспективным поиск новых направлений предупреждения острой кишечной недостаточности и эндотоксемии у экспериментальных животных после острой массивной кровопотери.

Цель исследования — изучить влияние инфузионной коррекции гиповолемии малатсодержащими препаратами и последующей глутаминобогатенной нутритивной поддержки на поддержание барьерной функции кишечника и гипергидратацию у животных с острой массивной кровопотерей.

Материал и методы

Эксперименты проводили в ЦНИЛ ФГБОУ ВПО «Приволжский исследовательский медицинский университет» на 100 половозрелых крысах самца линии Wistar, массой 220–250 г. Содержание животных, оперативные вмешательства и эвтаназию осуществляли в соответствии с нормативами, данным в руководстве Guide for care and use of laboratory animals. ILAR publication, 1996, National Academy Press. и с требованиями Приказа Минздрава России № 267 от 19.06.2003 «Об утверждении правил лабораторной практики в Российской Федерации». Наркоз осуществляли внутривенным введением нембутала в дозе 45 мг/кг. С целью инвазивного контроля гемодинамики, забора и реинфузии крови, введения исследуемых инфузионных растворов в начале эксперимента катетеризировали хвостовую артерию и вену. Катетеризацию осуществляли после выделения сосудистого пучка и подведения лигатур выше и ниже места предполагаемой катетеризации. Введение катетеров 30 G в вену и артерию проводили после рассечения стенки сосуда с помощью сосудистых ножниц. Установленный катетер ежедневно промывали с помощью 0,1 мл раствора нефракционированного гепарина (50 ЕД/мл). Выбранная экспериментальная модель острой фиксированной по объему кровопотери позволяла оценить как динамику постгеморрагических повреждений внутренних органов, так и эффективность применяемых компонентов лечения [8, 9].

Эксперимент проводили в несколько этапов:

1. Исходное состояние. Проводили взвешивание и наркотизацию животного, катетеризацию сосудов под местной анестезией 0,5% раствором новокаина до 0,5 мл и забор крови на исследование из хвостовой вены. После наркотизации у 10 животных после лапаротомии из воротной вены забирали кровь на исследование.

2. Проводили фиксированное кровопускание из хвостовой артерии в объеме 30% ОЦК со скоростью 2 мл/мин. ОЦК крысы рассчитывали как 6,5% от массы тела. Кровь забирали в шприц, содержащий 0,5 мл раствора гепарина (50 ЕД/мл) для последующей реинфузии.

3. Период гиповолемии продолжался 1 час после кровопотери. Выбранный объем кровопотери, ее скорость и длительность до начала лечебных мероприятий создают критически значимую гиповоле-

malate-containing preparations and subsequent glutamine-enriched nutritional support on the maintenance of gut barrier and overhydration in animals with acute massive blood loss.

Materials and Methods

The experiments were carried out at the Central Research Laboratory of Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Professional Education, The Volga Research Medical University using 100 adult Wistar male rats weighing 220–250 g. The animal husbandry, operative interventions and euthanasia were performed according to the norms given in the Guide for Care and Use of Laboratory Animals. ILAR publication, 1996, National Academy Press, and requirements of Order No. 267 of the Russian Ministry of Health dated 19.06.2003 «On Approval of the Laboratory Practice Rules in the Russian Federation». Animals were anesthetized by intraperitoneal administration of Nembutal at a dose of 45 mg/kg. For the purpose of invasive monitoring of hemodynamics, blood sampling and reinfusion, administration of infusion solutions under study, tail artery and vein catheterization were performed at the beginning of the experiment. The catheterization was carried out after the vascular bundle had been singled out and ligatures had been placed above and below the point of contemplated catheterization. 30 G catheters were placed in the vein and artery after the vessel wall had been cut with the help of vessels scissors. The placed catheter was washed every hour with 0.1 ml of non-fractionated heparin solution (50 U/ml). The selected experimental model of a volume-limited acute blood loss allowed evaluating both the dynamics of post-hemorrhagic damages of internal organs and the efficacy of the therapeutic components [8, 9].

The experiments were carried out in several stages:

1. Baseline. The animal was weighted and anesthetized, catheterization of vessels was carried out under topical anesthesia with 0.5% Novocain solution up to 0.5 ml, and blood was sampled from the tail vein for analysis. After anesthetization, in 10 post-laparotomy animals, blood was sampled for analysis.

2. Limited blood loss by harvesting the 30% blood (V/V) from the tail artery at a rate of 2 ml/min was implemented. The rat circulation volume was calculated as 6.5% of the body weight. Blood was taken into a syringe containing 0.5 ml of heparin solution (50 U/ml) for subsequent reinfusion.

3. The period of hypovolemia lasted for 1 hour after the blood loss. The chosen blood loss volume, its speed and duration before commencement of therapeutic measures create a critically significant hypovolemia suitable for developing irreversible ischemic damages and reperfusion alterations later during hypovolemia replacement [8, 9].

4. The period of hypovolemia correction. In the 1st series of experiments (30 rats), hypovolemia correction was performed using the Ringer's solution (Biokhimik, Russia) in a volume equal to 2X of blood loss as follows: ½ of the calculated dose of Ringer's solution was administered as a bolus within 5 minutes using an infusion pump, thereafter, the remainder of the calculated dose of the preparation was administered within 55 minutes. In the 2nd and 3rd series (30 rats in each), hypovolemia replacement was performed using a malate-containing so-

мию для развития необратимых ишемических повреждений, а в последующем при восполнении гиповолемии — реперфузионных повреждений [8, 9].

4. Период коррекции гиповолемии. В 1-й серии экспериментов (30 крыс) коррекцию гиповолемии проводили раствором Рингера (Биохимик, Россия) в объеме 200% от кровопотери следующим образом: $\frac{1}{2}$ часть расчетной дозы раствора Рингера вводили с помощью инфузomата болюсно в течение 5 минут, затем за 55 минут вводили оставшуюся половину расчетной дозы препарата. Во 2-й и 3-й сериях (по 30 крыс в каждой) восполнение гиповолемии проводили с помощью малатсодержащего раствора («Стерофундин изотонический», ООО «Гематек», Россия) по схеме, применяемой в 1-й серии эксперимента. Объем, скорость инфузии и использование только кристаллоидных кровезаменителей выбрали исходя из рекомендаций, формирующихся по мере накопления проверенной информации об эффективности и безопасности применяемой тактики восполнения гиповолемии [10, 11].

5. Период реинфузии крови начинался с момента окончания введения раствора Рингера и продолжался в течение 1 часа. С целью сохранения умеренной гемодилюции в постгеморагическом периоде реинфузия составляла 70% от объема крови, забранной на 2-м этапе эксперимента. Через 1 час после окончания реинфузии и забора крови для лабораторного анализа хвостовую артерию и вену перевязывали, рану хвоста ушивали узловыми швами (капрон №1). После лапаротомии в каждой серии у 10 животных, отобранных с помощью метода «конвертов», проводили забор крови из воротной вены с последующим выведением из эксперимента. Оставшихся животных помещали в отдельную клетку под наблюдение.

6. Период нутритивной поддержки. Через 8 часов после кровопотери осуществляли свободный доступ животных к еде и воде. В 1-й и 2-й сериях эксперимента животные самостоятельно питались нутритивным препаратом «Нутрикомп стандарт ликвид» (Bbraun, Германия), в 3-й серии — глутаминобогатым нутритивным препаратом «Нутрикомп иммунн ликвид» (Bbraun, Германия). Выбор жидкой питательной смеси был обусловлен необходимостью раннего одновременного восстановления режима питья и еды, оптимальной осмолярностью смеси, а также предупреждения механического повреждения кишечника сухой питательной смесью. Проводили взвешивание животных, а также оценку количества потребленной пищи, энергоемкость которой во всех сериях животных статистически не отличалась и составила в среднем 309 ккал за 3 суток исследования.

7. Выведение из эксперимента осуществляли через 4 часа, 1 и 3 суток после кровопотери с помощью внутривенного введения нембутала в дозе 150 мг/кг после забора крови на лабораторный анализ. Этап забора крови на исследование через 4 часа после кровопотери выделили для оценки эффективности применяемых препаратов в раннем реперфузионном постгеморагическом периоде. На каждом этапе исследования из эксперимента выводили по 10 животных.

Распределение животных по сериям представили в табл. 1.

lution (Sterofundin Isotonic, Hematek LLC, Russia) according to the regimen as described for the 1st series of experiment. The volume, infusion speed and utilization of crystalloid blood substitutes were chosen based on existed recommendations on the efficacy and safety of hypovolemia replacement management accumulated in recent years [10,11].

5. The blood reinfusion period commenced from the end of Ringer's solution administration and continued for 1 hour. To maintain moderate hemodilution during the post-hemorrhagic period, the reinfusion equaled to 70% of the blood volume was undertaken at the 2nd stage of the experiment. 1 hour before the end of reinfusion and blood sampling for the laboratory analysis, the tail artery and vein were dressed and the tail wound was sealed with interrupted sutures (Capron No.1). After laparotomy, in each series, in 10 animals selected using the 'envelope' method, blood was taken from the portal vein, and the animals were subsequently withdrawn from the experiment. The remaining animals were put in a separate cage for monitoring.

6. The nutritive support period. 8 hours after the blood loss, the animals were allowed free access to food and water. In the 1st and 2nd series of the experiment, the animals fed themselves with a nutrient mixture 'Nutricomp standard liquid' (Bbraun, Germany), in the 3rd series animals were fed with glutamine-enriched nutrient mixture 'Nutricomp immune liquid' (Bbraun, Germany). The liquid nutrient mixture was chosen because of the necessity to restore simultaneously the pattern of drinking and eating, the optimal osmolality of the mixture, and prevention of mechanical damage to the gut caused by a dry nutrient mixture. Animal weighing was carried out as well as assessment of the quantity of food consumed, the energy of which did not differ statistically between all animals and amounted to 309 kcal on average for the 3 days of the study.

7. Withdrawal from the experiment was done 4 hours, 1 and 3 days after the blood loss using intravenous Nembutal at a dose of 150 mg/kg after the blood sampling for the laboratory analysis. The stage of blood sampling for analysis 4 hours after blood loss was selected for evaluating the efficacy of preparations administered during the early reperfusion post-hemorrhagic period. 10 animals were withdrawn at each stage of the experiment.

Distribution of animals by series of experiments is shown in table 1.

Blood harvested from tail and poertal veins was analyzed for content of LPS of gram-negative bacteria (endotoxin) at the premises of Clinical Laboratory Department of Nizhny Novgorod Regional Clinical Hospital named after N. A. Semashko using diagnostic kit 'MACH-endotox.spp.test' manufactured by ROKHAT Research & Production Company, LLC, jointly with A. N. Bakulev Research Center of Cardiovascular Surgery (Russia). Presepsin, a soluble marker of bacterial phagocytosis cells, was determined by PATHFAST Presepsin kit (Mitsubishi Chemical Medience Corporation, Japan). At all stages, tail and portal vein blood cultures for bacteria were analyzed.

Specimens for light-optical microscopy were prepared after 24–72 hrs. of fixation in 10% neutral buffered formalin solution, desiccation in alcohols of ascending concentrations, and paraffin embedding. 7 μ m-thick slices were made using microtome Leica SM 2000R and stained with hematoxylin-eosin. Histological specimens

Таблица 1. Распределение животных по сериям.
Table 1. Distribution of animals by series.

| Experiment series | Preparations | |
|-------------------|-----------------------------|---------------------------|
| | for hypovolemia replacement | for nutritive support |
| 1 st | Ringer's solution | Nutricomp standard liquid |
| 2 nd | Sterofundin Isotonic | Nutricomp standard liquid |
| 3 rd | Sterofundin Isotonic | Nutricomp immune liquid |

Примечание. Experiment series — серия опытов; preparations — препараты; for hypovolemia replacement — для восполнения гиповолемии; for nutritive support — для нутритивной поддержки. Для табл. 1, 2: Ringer's solution — раствор Рингера; Sterofundin isotonic — Стерофундин изотонический; Nutricomp standard/immune liquid — Нутрикомп стандарт /иммунн ликвид.

В качестве микробного маркера эндотоксикоза у крыс в крови хвостовой и воротной вены в отделении клинично-лабораторной диагностики ГБУЗ НО «Нижегородская областная клиническая больница им. Н. А. Семашко» исследовали ЛПС грамотрицательных бактерий (эндотоксин) с помощью диагностического набора «МАЧ-endotox.spp.тест», выпускаемого ООО НПФ «РОХАТ» совместно с ГОУ «НЦССХ им. А.Н. Бакулева» (Россия). Пресепсин, как маркер активности фагоцитоза в отношении бактерий, определяли с помощью набора «PATHFAST Presepsin» (Mitsubishi Chemical Medience Corporation, Япония). На всех этапах проводили «посев» крови из хвостовой и воротных вен на бактериальный анализ.

Препараты для светооптической микроскопии приготавливали после 24–72 ч фиксации в 10% растворе нейтрального формалина, обезвоживания в спиртах восходящей концентрации и заливки в парафин. Срезы толщиной в 7 мкм изготавливали на микротоме Leica SM 2000R и окрашивали гематоксилин-эозином. Просмотр гистологических препаратов, регистрацию изображений и подсчет морфометрических показателей проводили на микровизоре μ Vizo-103 (ЛОМО, Россия).

Статистическую обработку результатов исследования осуществляли с помощью пакета прикладных программ Microsoft Exel 2007 и StatSoft Statistica 6.0. В статистическом анализе использовали непараметрические методы сравнения Манна–Уитни и Уилкоксона. Значения считали достоверными при заданном критерии вероятности $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Взятые на бактериальный «посев» пробы крови из хвостовой и воротной вены показали отрицательный результат у всех животных, что свидетельствовало об отсутствии микробной транслокации в воротную вену и системный кровоток для микрофлоры кишечника при кровопотере до 30% ОЦК. По литературным данным для нарушения барьерной функции кишечника в отношении живых микроорганизмов требуется более длительное или интенсивное воздействие повреждающих факторов, чем выбранные нами в эксперименте [12–14].

До кровопотери значения ЛПС и пресепсина в крови из хвостовой вены соответствовали уровню должных величин у людей, но при этом значения эндотоксина в крови из ворот-

were viewed, images were recorded, and morphometric parameters were counted with the aid of microvisor μ Vizo-103 (LOMO, Russia).

Statistical treatment of the data was performed using software packages Microsoft Exel 2007 and StatSoft Statistica 6.0 to calculate medians and significance by Mann–Whitney–Wilcoxon nonparametric tests. Differences between groups were considered significant at $P < 0.05$.

Results and Discussion

Blood samples taken from the tail and portal veins for bacterial culture showed absence of growth in all specimens, which evidenced absence of microbial translocation into the portal vein and systemic circulation for intestinal microflora in case of blood loss up to 30% of the circulation volume. According to literature, gut barrier dysfunction in respect of live microorganisms requires a longer or more intensive impact of damaging factors than chosen in our experiment [12–14].

Before the blood loss, the values of LPS and presepsin concentration in the tail vein blood was within the norm values; however, the endotoxin values of the portal vein blood were 2.6 higher than those of the tail vein blood (table 2). This supports the essential detoxifying function of the liver, specifically, by Kupffer cells, in respect to LPS metabolism [15, 16]. There was no statistical difference in blood presepsin concentration between tail and portal veins, which indirectly proved an absence of baseline activation of tissue macrophages located in the abdominal cavity by intestinal microflora.

However, 1 hour after blood reinfusion in the 1st series animals, LPS in blood from the tail vein and portal vein exceeded the baseline figures 20.6 and 32.8 times, respectively. The correlation between the significantly different content of LPS in the portal and tail veins grew from baseline 2.6 to 4.6 times.

Mean presepsin in blood of the portal and tail veins increased vs. baseline by 266% and 135%, correspondingly. The significant difference in the presepsin content between the portal and systemic circulation was equal to 84.6%.

In the 2nd and 3rd series of experiments, during the early post-hemorrhagic period, similar dynam-

Таблица 2. Динамика ЛПС и пресепсина ($M \pm \sigma$).Table 2. LPS and presepsin dynamics ($M \pm \sigma$).

| Indexes | Blood sampling point | Index values at study stages | | | |
|---|----------------------|------------------------------|------------------------------|---------------------------|------------------------------|
| | | Baseline | 1 hr. after blood reinfusion | 24 hrs. after blood loss | 3 days after blood loss |
| 1st series (Ringer's solution + Nutricomp standard liquid) | | | | | |
| LPS, pg/ml | Portal vein | 17.8±3.9 | 583.5±107.4 [#] | 206.4±23.1 [#] | 254.3±31.0 [#] |
| | Tail vein | 6.8±1.8 ^{##} | 140.0±44.7 ^{##} | 72.3±24.0 ^{###} | 94.1±29.7 ^{##} |
| Presepsin, pg/ml | Portal vein | 405.6±80.1 | 1484.7±196.1 [#] | 651.4±66.2 [#] | 697.6±63.2 [#] |
| | Tail vein | 342.1±31.2 | 804.4±74.3 ^{##} | 483.6±59.5 ^{###} | 579.2±50.6 ^{##} |
| 2nd series (Sterofundin Isotonic + Nutricomp standard liquid) | | | | | |
| LPS, pg/ml | Portal vein | 18.5±4.1 | 489.3±113.2 [#] | 124.2±21.5 ^{**} | 128.0±24.5 ^{#,**} |
| | Tail vein | 6.7±1.5 ^{##} | 112.1±33.0 ^{##} | 38.0±12.1 ^{###} | 41.6±10.3 ^{##,*} |
| Presepsin, pg/ml | Portal vein | 402.9±74.0 | 1195.3±202.9 [#] | 467.4±60.8 ^{**} | 513.3±52.1 ^{#,**} |
| | Tail vein | 355.8±25.4 | 771.6±80.5 ^{##} | 415.3±53.5 ^{###} | 431.8±40.6 ^{##,*} |
| 3rd series (Sterofundin Isotonic + Nutricomp immune liquid) | | | | | |
| LPS, pg/ml | Portal vein | 16.9±3.7 | 492.4±93.7 [#] | 109.8±22.6 ^{**} | 79.7±20.2 ^{#,***} |
| | Tail vein | 6.2±1.7 ^{##} | 105.6±37.0 ^{##} | 35.5±10.3 ^{###} | 27.6±9.5 ^{##,*,**} |
| Presepsin, pg/ml | Portal vein | 397.5±65.4 | 1253.5±152.7 [#] | 484.1±82.0 ^{**} | 408.3±42.7 ^{#,***} |
| | Tail vein | 339.3±39.7 | 759.2±68.4 ^{##} | 383.8±40.5 ^{###} | 363.1±32.9 ^{##,***} |

Note. [#] — significance of differences vs. baseline; ^{##} — significance of differences vs. venous blood from the portal vein at the same stages of the study; ^{*} — significance of differences vs. the 1st series; ^{**} — significance of differences vs. the 2nd series.

Примечание. Для табл. 2, рис.: Indexes — показатели; values at experimental stages — значения на этапах исследования; Baseline — исходные значения; after — через; blood reinfusion — реинфузии крови; blood loss — кровопотери; hrs./days — часов/суток; blood sampling point — место забора крови; LPS — ЛПС; Presepsin — Пресепсин; vein — вена; portal, tail — воротная/хвостовая. [#] — статистическая значимость различий относительно исходных значений; ^{##} — статистическая значимость различий относительно значений венозной крови из воротной вены на одинаковых этапах исследования; ^{*} — статистическая значимость различий относительной значений 1-й серии; ^{**} — статистическая значимость различий относительной значений 2-й серии.

ной вены были в 2,6 раза выше таковых в крови из хвостовой вены (табл. 2). Тем самым подтверждается важнейшая детоксицирующая роль печени и в частности клеток Купфера в отношении ЛПС [15, 16]. Значения пресепсина в крови хвостовой и воротной вены не имели статистических различий, что служило косвенным доказательством отсутствия в исходном состоянии активации кишечной микрофлорой тканевых макрофагов, расположенных в брюшной полости.

Однако через 1 час после реинфузии крови у животных 1-й серии содержание ЛПС в крови из хвостовой вены и воротной вены превышало исходные значения соответственно в 20,6 и 32,8 раза. Соотношение между статистически различным содержанием ЛПС в воротной и хвостовой венахросло с 2,6 в исходном состоянии до 4,6 раз.

Средние значения пресепсина в крови воротной и хвостовой вены относительно исходных значений увеличились соответственно на 266 и 135%. Статистически значимая разница содержания пресепсина в портальном и системной кровотоке составила 84,6%.

Во 2-й и 3-й сериях опытов в раннем постгеморрагическом периоде отмечали аналогичную динамику ЛПС и пресепсина. Следует отметить, что уже на этом этапе величины изучаемых показателей были незначительно ниже, чем в 1-й серии, что может быть связано с началом реализации протективного действия

ЛПС и пресепсина были замечены. Следует отметить, что уже на этом этапе величины изучаемых показателей были незначительно ниже, чем в 1-й серии, что может быть связано с началом реализации протективного действия

ЛПС и пресепсина были замечены. Следует отметить, что уже на этом этапе величины изучаемых показателей были незначительно ниже, чем в 1-й серии, что может быть связано с началом реализации протективного действия

ЛПС и пресепсина были замечены. Следует отметить, что уже на этом этапе величины изучаемых показателей были незначительно ниже, чем в 1-й серии, что может быть связано с началом реализации протективного действия

ЛПС и пресепсина были замечены. Следует отметить, что уже на этом этапе величины изучаемых показателей были незначительно ниже, чем в 1-й серии, что может быть связано с началом реализации протективного действия

используемого малатсодержащего раствора, описанного нами ранее [17].

Основным механизмом нарастания значений ЛПС, по-видимому, является переход эндотоксина в сосудистой русло из просвета кишечника и несостоятельность детоксицирующей функции печени в предупреждении его проникновения в системный кровоток. Второй механизм, на наш взгляд, реализуется через увеличение доли портокавального шунтирования в условиях гиповолемии и реперфузионных нарушений внутрипеченочной микроциркуляции. Третьим механизмом является перенос изучаемых веществ с лимфой, в том числе и с экзосомами, в системный кровоток, также минуя клетки Купфера печени [18, 19].

Все это в последующем может приводить к ранней манифестации эндотоксиновой агрессии, инфекционным осложнениям, дополнительным повреждениям печени, почек и грамотрицательному сепсису [20, 21].

Рост пресепсина в воротной вене при отсутствии положительных результатов посевов крови может свидетельствовать о проникновении микроорганизмов в интерстициальное пространство кишечника и их полного поглощения макрофагами, т. е. о состоятельности местного клеточного иммунитета. Следовательно, антибактериальная защита уже на уровне микроциркуляции кишечной трубки оставалась дееспособной на этом и последующих этапах раннего постгеморрагического периода. Но следует учитывать, что повреждения кишечника при реперфузии приводят к росту его проницаемости, активности трансцеллюлярной миграции бактерий с захватом их субэпителиальными макрофагами и длительно протекающих воспалительных реакций в кишечнике [22, 23]. Значения пресепсина в крови из хвостовой вены были статистически значимо ниже, чем в крови из воротной вены.

Взаимосвязь нарушений метаболизма в стенке кишечника, транслокации, эндотоксикоза и развития органных повреждений при кровопотере более 30% ОЦК в настоящее время подтверждают определение кишечника, как «двигателя или мотора ПОН» [24, 25], что подчеркивает важность своевременного применения метаболически ориентированной терапии.

Через сутки после острой кровопотери отмечалось снижение маркеров микробного эндотоксикоза в крови из портальной и хвостовой вен, но при этом они оставались повышенными относительно исходных значений. В 1-й серии опытов величины ЛПС и пресепсина в хвостовой вене превышали исходные значения в 10,6 раза и на 41,2% соответственно. Содержание эндотоксина и пресепсина в воротной вене превышало на 186% и 34,8% соответственно его

count that intestinal damage during reperfusion increases intestinal permeability, and transcellularly migrating bacteria might be captured by sub-epithelial macrophages that leads to prolonged inflammatory responses in the bowels [22, 23]. Indeed, the presepsin values in the tail vein blood were significantly lower than those in the portal vein blood.

The relation between disturbed metabolism in the intestinal wall, translocation, endotoxemia and development of organ damages in case of blood loss exceeding 30% of the circulation volume is currently confirm the intestine definition as 'the engine or motor of multiple organ failure' [24, 25], which underlines the importance of timely use of a metabolically oriented therapy.

24 hours after an acute blood loss, decrease of microbial endotoxemia markers in blood from the portal and tail veins was noted; however, they remained increased vs. baseline figures. In the 1st series of experiments, tail vein LPS and presepsin were higher than the baseline figures 10.6-fold and by 41.2%, respectively. Portal vein endotoxin and presepsin were higher than in the blood taken from the tail vein by 186% and 34.8%, respectively. In the 2nd series, the tail vein endotoxin and presepsin were higher than the baseline 5.7-fold and by 16.9%, and in the portal vein — 6.7-fold and by 16.1%, respectively. In the 3rd series, the figures of indices under study had no statistically significant difference from the figures of the 2nd series of experiments.

The peak of values of indices under study, which was observed at the previous stage of investigation during early reperfusion, might be representative of the fact of massive «washing» into the hepatic and systemic blood flow of LPS and presepsin accumulated during ischemia in the intestinal microcirculation system. It is known that blood loss is associated with reduced perfusion of the gastrointestinal tract accompanied with vasoconstriction of mesenteric arterioles and decreased microvascular blood flow during several hours after hypovolemia replacement and blood reinfusion [26, 27]. Intensified adhesion and extravasation of neutrophil leukocytes and macrophages is an additional long-acting factor of damage during the post-hemorrhagic period [28]. That could also affect the peak and persistent later high presepsin values in the blood of portal and tail veins because presepsin production is related to the intensity of phagocytosis in macrophages of the bowels, blood circulation and lymphatic systems of the abdominal cavity [29–31].

Endotoxemia, in turn, might render an independent influence on the intestinal microcirculation, portal hypertension, reducing the portal blood flow to form vicious circle: intestine damage → endotoxemia → intestine damage. The administration of a balanced malate-containing solution to replace

значения в крови, взятой из хвостовой вены. Во 2-й серии — в хвостовой вене значения эндотоксина и пресепсина были выше исходных в 5,7 раза и на 16,9%, а в воротной вене — соответственно в 6,7 раза и на 16,1%. В 3-й серии — значения исследуемых показателей не имели статистически значимых отличий от таковых во 2-й серии экспериментов.

Наблюдаемый на предыдущем этапе исследования во время ранней реперфузии пик значений изучаемых показателей может служить подтверждением факта основного вымывания в печеночный и системный кровотоки ЛПС и пресепсина, накопившихся за время ишемии в системе микроциркуляции кишечника. Известно, что при кровопотере снижается перфузия желудочно-кишечного тракта с вазоконстрикцией мезентериальных артериол и снижением кровотока в микроциркуляторном русле в течение несколько часов после восполнения гиповолемии и реинфузии крови [26, 27]. Дополнительным длительно действующим фактором повреждения в постгеморрагический период является усиление адгезии и экстравазации нейтрофильных лейкоцитов и макрофагов [28]. Это также могло повлиять на пиковые и сохраняющиеся в последующем высокие значения пресепсина в крови портальной и хвостовой вены, так как продукция пресепсина прямо пропорциональна интенсивности фагоцитоза в макрофагах кишечника, кровеносной и лимфатической систем брюшной полости [29–31].

В свою очередь эндотоксемия может самостоятельно влиять на кишечную микроциркуляцию, портальную гипертензию, снижая портальный кровоток с формированием порочного круга «повреждение кишечника → эндотоксемия → повреждение кишечника». Применение сбалансированного малатсодержащего раствора для восполнения гиповолемии способствовало снижению циркуляции ЛПС, от которой зависит некроз и апоптоз клеток органов иммунной системы организма, а также выживаемость при различных критических состояниях [32–36].

Через 3 суток в хвостовой вене животных 1-й серии регистрировали возрастание эндотоксемии и пресепсина относительно предыдущего этапа исследования, что может быть обусловлено самостоятельным воздействием ЛПС на проницаемость кишечного барьера, с развитием местного воспаления и интерстициального отека [37]. В портальной крови содержание ЛПС и пресепсина оставалось на уровне предыдущего этапа исследования. На этом этапе исследования отмечали статистически значимые преимущества малатсодержащей инфузии во 2-й серии опытов и дополнитель-

hypovolemia contributes to lessening the LPS circulation thus decreasing the necrosis and apoptosis of cells of different organs including the immune system cells and enhancing surviving in critical illnesses [32–36].

After 3 days, in the tail vein of animals of the 1st series, increased endotoxemia and presepsin vs. the previous stage of the study were recorded, which might be caused by an independent effect of LPS on the gut barrier permeability accompanied by development of local inflammation and interstitial edema [37]. In the portal blood, the content of LPS and presepsin remained at the level of the previous stage of the study. At this stage of the study, statistically significant advantages of the malate-containing infusion during the 2nd series of experiments and additional positive effects of the glutamine-enriched feeding with Nutricomp immune mixture during the 3rd series of experiments were observed. In the 3rd series, the portal and tail vein LPS content was lower than the LPS values of the 1st series by 68.5% and 71.2%, respectively, and presepsin values were decreased by 41.4% and 37.3%.

It is known that metabolism of anti-inflammatory activated M2 macrophages is maintained thanks to oxidative phosphorylation, therefore, supplementary administration of malate and glutamine could affect their responses by restoring the altered polarization parameters including signaling cascades and epigenetic reprogramming of M2 macrophages. Energy deficit replenishment via compensation by hypercatabolic processes in intestinal tissues is, in turn, accompanied by normalization of the amino acid balance of the portal and venous blood, which allows suppressing the inflammatory response in the bowels, support the barrier function of interstitial macrophages in respect to microorganisms penetrating into the intestinal microcirculatory system, and reduce the inflammatory response to lipopolysaccharide or live microorganisms in the interstitial space of the colon [38, 39].

Morphometric investigations of the colon mucous membrane and submucosal space 1 and 3 days after the acute blood loss demonstrated statistically significant differences between the series of experiments (table 3), which testified on the influence of the preparations under study on severity of their edema.

On the 1st day after blood loss, in animals of the 2nd and 3rd series, these indices were significantly lower than the values of the 1st series of animals by 40% on average.

After 3 days, statistically significant advantages of glutamine-containing feeding were determined: the mucous membrane and submucosal space thickness in animals of the 3rd series was less than that of animals of the 2nd series by 17.1% and 26.2%, respectively.

Таблица 3. Морфометрические показатели толстой кишки ($M \pm d$).Table 3. Morphometric indices of the colon ($M \pm d$).

| Indexes | Index values after blood loss | | | | | |
|---|-------------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| | 1 st Day | | | 3 rd Day | | |
| | 1 st Series | 2 nd Series | 3 rd Series | 1 st Series | 2 nd Series | 3 rd Series |
| Mucous membrane thickness, μm | 44.3 \pm 3.7 | 26.5 \pm 3.0* | 25.4 \pm 4.3 | 50.6 \pm 4.3 | 31.4 \pm 3.5* | 26.0 \pm 3.1** |
| Submucosal space thickness, μm | 18.5 \pm 2.0 | 10.1 \pm 1.3* | 10.8 \pm 2.1 | 20.1 \pm 3.5 | 12.6 \pm 1.6* | 9.3 \pm 1.7** |

Note. * — significance of difference vs. the 1st series at the same stages of the study; # — significance of difference vs. the 2nd series at the same stages of the study.

Примечание. Indexes — показатели; values after blood loss — значения после кровопотери; day — сутки; thickness — толщина; mucous membrane — слизистой оболочки; submucosal space — подслизистого пространства. * — статистическая значимость различий относительно 1-й серии на одинаковых этапах исследования; # — статистическая значимость различий относительно 2-й серии на одинаковых этапах исследования.

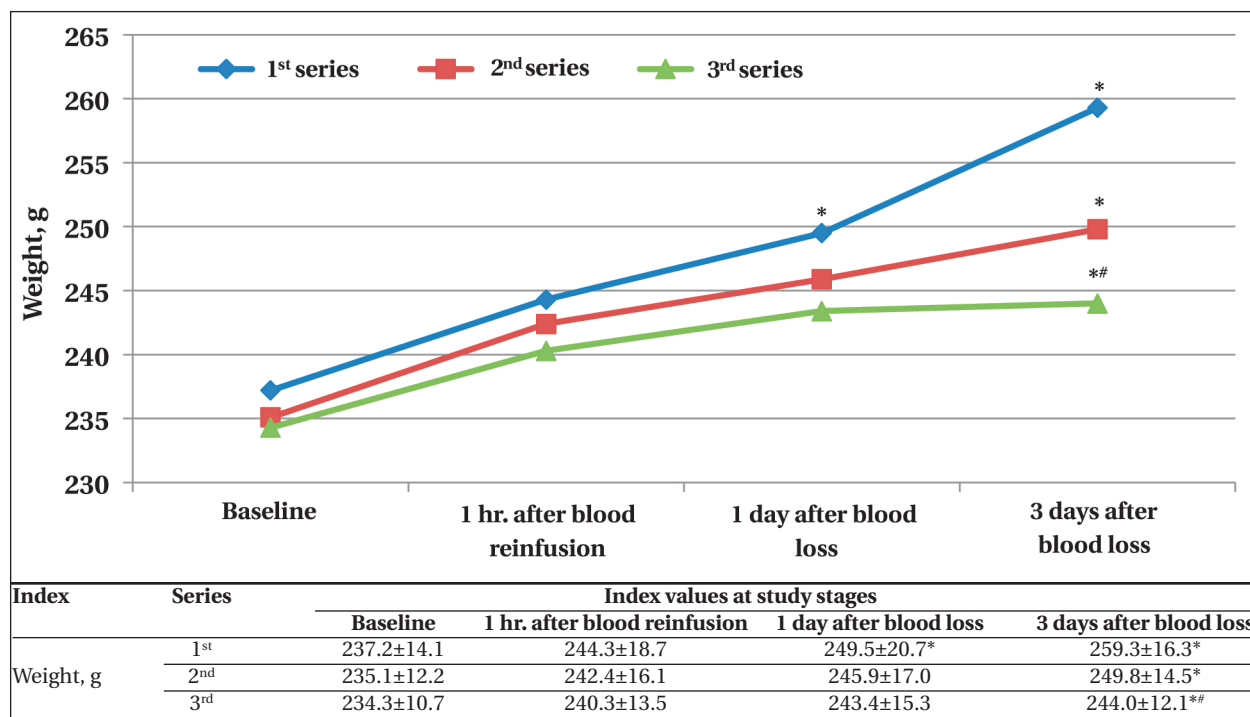
ные положительные эффекты глутаминобогатенного питания смесью «Нутрикомп иммунн» в 3-й серии. В 3-й серии — значения ЛПС в воротной и хвостовой вене были ниже таковых в 1-й серии на 68,5 и 71,2% соответственно, а пресепсина — на 41,4 и 37,3%

Известно, что метаболизм против воспалительных активированных M2 макрофагов поддерживается за счет окислительного фосфорилирования, поэтому дополнительное введение малата и глутаминна могло повлиять на их реакции, восстанавливая нарушенные настройки процессов поляризации, включая сигнальные каскады и эпигенетическое перепрограммирование M2 макрофагов. В свою очередь, восполнение энергодефицита с компенсацией процессов гиперкатаболизма в тканях кишки сопровождается нормализацией аминокислот-

In animals of the 1st series, the severity of edema within the submucosal space and mucous membrane increased which might be probably related not only to ischemic damage during blood loss but also to the persistent disturbance of colon metabolism during reperfusion and growing influence of inflammatory damage of the bowels [40, 41].

Colon edema was accompanied by the increased weight of experimental animals, which indirectly reflected overhydration and post-hypoxic interstitial edema of tissues during the post-hemorrhagic period [42].

The amount of calories consumed with the nutrient mixture remained the same, by day 3 the mean weight of animals increased in all series: to a greater degree, in the 1st series, and significantly less in animals that received the supplementary balanced malate-containing solution for hypov-



Динамика веса животных на этапах исследования, г ($M \pm d$).

Animal weight dynamics at study stages, g ($M \pm d$).

Note. * — significance of difference vs. baseline; # — significance of difference vs. 1st series at the same study stages.

Примечание. * — статистическая значимость различий относительно исходных значений; # — статистическая значимость различий относительно значений 1-й серии на одинаковых этапах исследования.

ного баланса портальной и венозной крови, что позволяет снизить активность воспалительного ответа в кишечнике, поддержать барьерную функцию интестинальных макрофагов в отношении микроорганизмов, проникающих в систему микроциркуляции кишечника и снизить экспрессию воспалительного ответа на контакт с липополисахаридом или живыми микроорганизмами в интерстициальном пространстве толстой кишки [38, 39].

Морфометрические исследования слизистой оболочки и подслизистого пространства толстой кишки через 1 и 3 суток после острой кровопотери показали статистически значимые различия между сериями животных (табл. 3), что свидетельствовало о влиянии исследуемых препаратов на выраженность их отека.

Значения этих показателей у животных 2-й и 3-й серий в 1-е сутки после кровопотери были статистически значимо меньше в среднем на 40% относительно значений у животных 1-й серии.

Через 3 суток определяли статистически значимые преимущества глутаминсодержащего питания: толщина слизистой оболочки и подслизистого пространства у животных 3-й серии были меньше, чем у животных 2-й серии, соответственно на 17,1 и 26,2%.

У животных 1-й серии степень выраженности отека подслизистого пространства и слизистой оболочки нарастала, что вероятно связано не только с ишемическими повреждениями во время кровопотери, но и с продолжающимися нарушениями метаболизма в толстой кишке в период реперфузии, а также увеличивающейся ролью воспалительных повреждений кишечника [40, 41].

Отек толстой кишки сопровождался увеличением веса экспериментальных животных, что явилось косвенным отражением гипергидратации и постгипоксического интерстициального отека тканей в постгеморрагическом периоде [42].

olemia replacement and glutamine-enriched feeding (fig.). Hence, the glutamine-enriched diet helped reducing not only the interstitial edema of colon but animal overhydration as well, which was indirectly assessed by animal weighing [43].

Conclusion

Use of malate-containing infusion preparation and a glutamine-enriched diet after an acute massive blood loss contributes to reducing prepsin production in GIT organs, diminishing the endotoxin translocation to the portal vein and systemic circulation, abating the severity of edema within the mucous membrane and submucosal space of the colon, and lessening animal weight growth.

При одинаковом количестве потребленных калорий с питательной смесью к 3-м суткам средний вес животных увеличился во всех сериях: в большей степени в 1-й серии и достоверно меньше у животных, дополнительно получавших сбалансированный малатсодержащий раствор для восполнения гиповолемии и глутаминобогатенное питание (рисунок). Следовательно, глутаминобогатенная диета способствовала снижению не только интерстициального отека толстой кишки, но и гипергидратации животного, для косвенной оценки которой используют взвешивание [43].

Заклучение

Применение малатсодержащих инфузионных препаратов и глутаминобогатенного питания после острой массивной кровопотери способствует снижению выработки пресепсина в органах желудочно-кишечного тракта, транслкации эндотоксина в воротную вену и системный кровоток, уменьшению степени выраженности отека слизистой оболочки, подслизистого пространства толстой кишки и нарастания веса животных.

Литература

1. Петрова М.В., Бутров А.В., Гречко А.В., Степанова Н.В., Накаде М., Сторчай М.Н., Мохан Р., Махмудова Г.Р. Влияние инфузии на развитие послеоперационной кишечной недостаточности. *Общая реаниматология*. 2018; 14 (1): 50–57. DOI: 10.15360/1813-9779-2018-1-50-57
2. Бобринская И.Г., Мороз В.В., Яковенко В.Н., Кудряков О.Н., Спиридонова Е.А., Солдатова В.Ю. Селективная полиграфия и резонансная стимуляция желудочнокишечного тракта в раннем послеоперационном периоде при перитоните. *Общая реаниматология*. 2016; 12 (2): 90–99. DOI: 10.15360/1813-9779-2016-2-90-99
3. Lang R., Patel D., Morris J.J., Rutschman R.L., Murray P.J. Shaping gene expression in activated and resting primary macrophages by IL-10. *J. Immunol.* 2002; 169: 2253–2263. DOI: 10.4049/jimmunol.169.5.2253
4. Martinez F.O., Gordon S., Locati M., Mantovani A. Transcriptional Profiling of the Human Monocyte-to-Macrophage Differentiation and Polarization: New Molecules and Patterns of Gene Expression. *J. Immunol.* 2006; 177: 7303–7311 DOI: 10.4049/jimmunol.177.10.7303
5. Heine H., Rietschel E.T., Ulmer A. The biology of endotoxin. *J. Mol. Biotechnol.* 2001; Nov; 19 (3): 279–296. DOI: 10.1385/MB: 19: 3: 279. PMID: 11721624

References

1. Petrova M.V., Butrov A.V., Grechko A.V., Stepanova N.V., Nakade M., Storchai M.N., Mohan R., Mahmutova G.R. Infusion Effect on Postoperative Intestinal Failure. *Obshchaya reanimatologiya=General Reanimatology*. 2018; 14 (1): 50–57. [In Russ., In Engl.] DOI: 10.15360/1813-9779-2016-2-56-65
2. Bobrinskaya I.G., Moroz V.V., Yakovenko V.N., Kudryakov O.N., Spiridonova E.A., Soldatova V.Y. Selective Polygraphy and Resonant Stimulation of Digestive Tract in Early Postoperative Period in Peritonitis. *Obshchaya reanimatologiya= General Reanimatology*. 2016; 12 (2): 90–99. [In Russ., In Engl.] DOI: 10.15360/1813-9779-2016-2-90-99
3. Lang R., Patel D., Morris J.J., Rutschman R.L., Murray P.J. Shaping gene expression in activated and resting primary macrophages by IL-10. *J. Immunol.* 2002; 169: 2253–2263. DOI: 10.4049/jimmunol.169.5.2253
4. Martinez F.O., Gordon S., Locati M., Mantovani A. Transcriptional Profiling of the Human Monocyte-to-Macrophage Differentiation and Polarization: New Molecules and Patterns of Gene Expression. *J. Immunol.* 2006; 177: 7303–7311 DOI: 10.4049/jimmunol.177.10.7303
5. Heine H., Rietschel E.T., Ulmer A. The biology of endotoxin. *J. Mol. Biotechnol.* 2001; Nov; 19 (3): 279–296. DOI: 10.1385/MB: 19: 3: 279. PMID: 11721624

6. Balzan S., de Almeida Quadros C., de Cleve R., Zilberstein B., Ceccanello I. Bacterial translocation: overview of mechanisms and clinical impact. *J Gastroenterol. Hepatol.* 2007; Apr; 22 (4): 464-471. DOI: 10.1111/j.1440-1746.2007.04933. PMID: 17376034
7. Черневская Е.А., Белобородова Н.В. Микробиота кишечника при критических состояниях (обзор). *Общая реаниматология.* 2018; 14 (5): 96-119. DOI: 10.15360/1813-9779-2018-5-96-119
8. Fulop A., Turoczi Z., Garbajds D., Harsdnyi L., Szijrdio A. Experimental models of hemorrhagic shock: a review. *Eur. Surg. Res.* 2013; 50 (2): 57-70 DOI: 10.1159/000348808
9. Lomas-Niera J.L., Perl M., Chung CS, Ayala A. Shock and hemorrhage: an overview of animal models. *Shock.* 2005; 24 (1): 33-39 PMID: 16374370
10. Lundsgaard-Hansen P. Component therapy of surgical hemorrhage: red cell concentrates, colloids and crystalloids. *Bibl Haematol.* 1980; (46): 147-169. PMID: 7378036
11. Medby C. Is There a Place for Crystalloids and Colloids in Remote Damage Control Resuscitation? *Shock.* 2014; 41: 47-50. DOI: 10.1097/shk.000000000000117
12. Magnotti L.J., Upperman J.S., Xu D.Z., Lu Q., Deitch E.A. Gut-derived mesenteric lymph but not portal blood increases endothelial cell permeability and promotes lung injury after hemorrhagic shock. *Ann. Surg.* 1998; Oct; 228 (4): 518-527. PMID: 9790341
13. Wang Z.T., Yao Y.M., Xiao G.X., Sheng Z.Y. Improvement of bifidobacterial supplement on the barrier function of intestinal mucosa and microbe flora induced by thermal injury in rats. *Zhongguo Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue.* 2003; Mar; 15 (3): 154-158. PMID: 12831619
14. Garcia-Hernandez V., Quiros M., Nusrat A. Intestinal epithelial claudins: expression and regulation in homeostasis and inflammation. *Ann. NY Acad. Sci.* 2017; Jun; 1397 (1): 66-79. DOI: 10.1111/nyas.13360. PMID: 28493289
15. Baxevanos N., Giamarellos-Bourboulis E.J., Pistiki A., Korre M., Drogiti D.I., Tsaganos T. Bacterial translocation induces proinflammatory responses and is associated with early death in experimental severe injury. *J. Surg. Res.* 2013; Dec; 185 (2): 844-850 DOI: 10.1016/j.jss.2013.07.026. PMID: 23953792
16. Zhang Y., Zhang J., Xu T., Wu W., Huang F.F., Yu W.Q., Zhang S.Y., Liang T.B. Allicin ameliorates intraintestinal bacterial translocation after trauma/hemorrhagic shock in rats: The role of mesenteric lymph node dendritic cell. *Surgery.* 2017 Feb; 161 (2): 546-555. DOI: 10.1016/j.surg.2016.08.029.
17. Яковлев А.Ю., Кичин В.В., Никольский В.О., Калентьев Г.В., Рябиков Д.В., Рябикова М.А., Протасов Д.М., Галанина Т.А., Сморкалов А.Ю., Евдокимова О.С. Эффективность применения стерофундина изотонического после острой массивной кровопотери в эксперименте. *Общая реаниматология.* 2013; 9 (3): 24. DOI: 10.15360/1813-9779-2013-3-24
18. Kojima M., Gimenes-Junior J.A., Chan T.W., Eliceiri B.P., Baird A., Costantini T.W., Coimbra R. Exosomes in postshock mesenteric lymph are key mediators of acute lung injury triggering the macrophage activation via Toll-like receptor 4. *FASEB J.* 2018; Jan; 32 (1): 97-110. DOI: 10.1096/fj.201700488R. PMID: 28855278
19. Kojima M., Gimenes-Junior J.A., Langness S., Morishita K., Lavoie-Gagne O., Eliceiri B., Costantini T.W., Coimbra R. Exosomes, not protein or lipids, in mesenteric lymph activate inflammation: Unlocking the mystery of post-shock multiple organ failure. *J. Trauma Acute Care Surg.* 2017; Jan; 82 (1): 42-50. DOI: 10.1097/TA.0000000000001296. PMID: 27779585
20. Renner L., Kahlert S., Tesch T., Bannert E., Frahm J., Barta-Böszörményi A., Kluess J., Kersten S., Schönfeld P., Rothkötter H.J., Dänicke S. Chronic DON exposure and acute LPS challenge: effects on porcine liver morphology and function. *Mycotoxin Res.* 2017; Aug; 33 (3): 207-218. DOI: 10.1007/s12550-017-0279-9. PMID: 28474303
21. Depboylu B., Giris M., Olgac V., Dođru-Abbasođlu S., Uysal M. Response of liver to lipopolysaccharide treatment in male and female rats. *Exp. Toxicol. Pathol.* 2013; 65: 645-650. DOI: 10.1016/j.etp.2012.07.004. PMID: 22884257
22. Zhou G., Dada L.A., Wu M., Kelly A., Trejo H., Zhou K., Varga J., Sznajder J.I. Hypoxia-induced alveolar epithelial-mesenchymal transition requires mitochondrial ROS and hypoxia-inducible factor 1. *Am. J. Physiol. Lung. Cell. Mol. Physiol.* 2009; 297 (6): 1120-1130. DOI: 10.1152/ajplung.00007.2009.
23. Kaistha A., Levine J. Inflammatory bowel disease: the classic gastrointestinal autoimmune disease. *Curr. Probl. Pediatr. Adolesc. Health Care.* 2014; Dec; 44 (11): 328-334. DOI: 10.1016/j.cppeds.2014.10.003. PMID: 25499459
24. Мороз В.В., Рыжков И.А. Острая кровопотеря: регионарный кровоток и микроциркуляция (Обзор, Часть I). *Общая реаниматология.* 2016; 12 (2): 66-89. DOI: 10.15360/1813-9779-2016-2-56-65
25. Мороз В.В., Рыжков И.А. Острая кровопотеря: регионарный кровоток и микроциркуляция (обзор, часть II). *Общая реаниматология.* 2016; 12 (5): 65-94. DOI: 10.15360/1813-9779-2016-5-65-94
26. Zhao J., Yan C., Xu L., Yan K., Feng B., Zhao M., Niu G., Wu M., Chen C., Zhu H. The effect of pPolyHb on hemodynamic stability and mesenteric microcirculation in a rat model of hemorrhagic shock. *Artif Cells Nanomed Biotechnol.* 2017 Jun; 45 (4): 677-685. DOI: 10.1080/21691401.2017.1282869
6. Balzan S., de Almeida Quadros C., de Cleve R., Zilberstein B., Ceccanello I. Bacterial translocation: overview of mechanisms and clinical impact. *J Gastroenterol. Hepatol.* 2007; Apr; 22 (4): 464-471. DOI: 10.1111/j.1440-1746.2007.04933. PMID: 17376034
7. Черневская Е.А., Белобородова Н.В. Gut Microbiome in Critical Illness (Review). *Obshchaya reanimatologiya= General Reanimatology.* 2018; 14 (5): 96-119. [In Russ.] DOI: 10.15360/1813-9779-2018-5-96-119
8. Fulop A., Turoczi Z., Garbajds D., Harsdnyi L., Szijrdio A. Experimental models of hemorrhagic shock: a review. *Eur. Surg. Res.* 2013; 50 (2): 57-70 DOI: 10.1159/000348808
9. Lomas-Niera J.L., Perl M., Chung CS, Ayala A. Shock and hemorrhage: an overview of animal models. *Shock.* 2005; 24 (1): 33-39 PMID: 16374370
10. Lundsgaard-Hansen P. Component therapy of surgical hemorrhage: red cell concentrates, colloids and crystalloids. *Bibl Haematol.* 1980; (46): 147-69 PMID: 7378036
11. Medby C. Is There a Place for Crystalloids and Colloids in Remote Damage Control Resuscitation? *Shock.* 2014; 41: 47-50. DOI: 10.1097/shk.000000000000117
12. Magnotti L.J., Upperman J.S., Xu D.Z., Lu Q., Deitch E.A. Gut-derived mesenteric lymph but not portal blood increases endothelial cell permeability and promotes lung injury after hemorrhagic shock. *Ann. Surg.* 1998; Oct; 228 (4): 518-527. PMID: 9790341
13. Wang Z.T., Yao Y.M., Xiao G.X., Sheng Z.Y. Improvement of bifidobacterial supplement on the barrier function of intestinal mucosa and microbe flora induced by thermal injury in rats. *Zhongguo Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue.* 2003; Mar; 15 (3): 154-158. PMID: 12831619
14. Garcia-Hernandez V., Quiros M., Nusrat A. Intestinal epithelial claudins: expression and regulation in homeostasis and inflammation. *Ann. NY Acad. Sci.* 2017; Jun; 1397 (1): 66-79. DOI: 10.1111/nyas.13360. PMID: 28493289
15. Baxevanos N., Giamarellos-Bourboulis E.J., Pistiki A., Korre M., Drogiti D.I., Tsaganos T. Bacterial translocation induces proinflammatory responses and is associated with early death in experimental severe injury. *J. Surg. Res.* 2013; Dec; 185 (2): 844-850 DOI: 10.1016/j.jss.2013.07.026. PMID: 23953792
16. Zhang Y., Zhang J., Xu T., Wu W., Huang F.F., Yu W.Q., Zhang S.Y., Liang T.B. Allicin ameliorates intraintestinal bacterial translocation after trauma/hemorrhagic shock in rats: The role of mesenteric lymph node dendritic cell. *Surgery.* 2017 Feb; 161 (2): 546-555. DOI: 10.1016/j.surg.2016.08.029.
17. Yakovlev A.Y., Kichin V.V., Nikolsky V.O., Kalentyev G.V., Ryabikov D.V., Ryabikova M.A., Protasov D.M., Galanina T.A., Smerkalov A.Y., Evdokimova O.S. Efficacy of Employment of Isotonic Sterofundin after Experimental Hemorrhagic Shock. *Obshchaya reanimatologiya=General Reanimatology.* 2013; 9 (3): 24. [In Russ.]
18. Kojima M., Gimenes-Junior J.A., Chan T.W., Eliceiri B.P., Baird A., Costantini T.W., Coimbra R. Exosomes in postshock mesenteric lymph are key mediators of acute lung injury triggering the macrophage activation via Toll-like receptor 4. *FASEB J.* 2018; Jan; 32 (1): 97-110. DOI: 10.1096/fj.201700488R. PMID: 28855278
19. Kojima M., Gimenes-Junior J.A., Langness S., Morishita K., Lavoie-Gagne O., Eliceiri B., Costantini T.W., Coimbra R. Exosomes, not protein or lipids, in mesenteric lymph activate inflammation: Unlocking the mystery of post-shock multiple organ failure. *J. Trauma Acute Care Surg.* 2017; Jan; 82 (1): 42-50. DOI: 10.1097/TA.0000000000001296. PMID: 27779585
20. Renner L., Kahlert S., Tesch T., Bannert E., Frahm J., Barta-Böszörményi A., Kluess J., Kersten S., Schönfeld P., Rothkötter H.J., Dänicke S. Chronic DON exposure and acute LPS challenge: effects on porcine liver morphology and function. *Mycotoxin Res.* 2017; Aug; 33 (3): 207-218. DOI: 10.1007/s12550-017-0279-9. PMID: 28474303
21. Depboylu B., Giris M., Olgac V., Dođru-Abbasođlu S., Uysal M. Response of liver to lipopolysaccharide treatment in male and female rats. *Exp. Toxicol. Pathol.* 2013; 65: 645-650. DOI: 10.1016/j.etp.2012.07.004. PMID: 22884257
22. Zhou G., Dada L.A., Wu M., Kelly A., Trejo H., Zhou K., Varga J., Sznajder J.I. Hypoxia-induced alveolar epithelial-mesenchymal transition requires mitochondrial ROS and hypoxia-inducible factor 1. *Am. J. Physiol. Lung. Cell. Mol. Physiol.* 2009; 297 (6): 1120-1130. DOI: 10.1152/ajplung.00007.2009.
23. Kaistha A., Levine J. Inflammatory bowel disease: the classic gastrointestinal autoimmune disease. *Curr. Probl. Pediatr. Adolesc. Health Care.* 2014; Dec; 44 (11): 328-334. DOI: 10.1016/j.cppeds.2014.10.003. PMID: 25499459
24. Мороз В.В., Рыжков И.А. Acute Blood Loss: Regional Blood Flow and Microcirculation (Review, Part I). *Obshchaya reanimatologiya =General Reanimatology.* 2016; 12 (2): 66-89. [In Russ., In Engl.] DOI: 10.15360/1813-9779-2016-2-56-65
25. Мороз В.В., Рыжков И.А. Acute Blood Loss: Regional Blood Flow and Microcirculation (Review, Part II). *Obshchaya reanimatologiya=General Reanimatology.* 2016; 12 (5): 65-94. [In Russ., In Engl.] DOI: 10.15360/1813-9779-2016-5-65-94
26. Zhao J., Yan C., Xu L., Yan K., Feng B., Zhao M., Niu G., Wu M., Chen C., Zhu H. The effect of pPolyHb on hemodynamic stability and mesenteric microcirculation in a rat model of hemorrhagic shock. *Artif Cells Nanomed Biotechnol.* 2017 Jun; 45 (4): 677-685. DOI: 10.1080/21691401.2017.1282869

27. *Torres Filho I.* Hemorrhagic Shock and the Microvasculature. *Compr Physiol.* 2017 Dec 12; 8 (1): 61–101. DOI: 10.1002/cphy.c170006. PMID: 29357125
28. *Balogh Z., Wolfárd A., Szalay L., Orosz E., Simonka J.A., Boros M.* Dalteparin sodium treatment during resuscitation inhibits hemorrhagic shock induced leukocyte rolling and adhesion in the mesenteric microcirculation. *J. Trauma.* 2002; 52 (6): 1062–1069. DOI: 10.1097/0000537320020600000007. PMID: 12045631
29. *Arai Y., Mizugishi K., Nonomura K., Naitoh K., Takaori-Kondo A., Yamashita K.* Phagocytosis by human monocytes required for the secretion of presepsin. *J. Infect. Chemother.* 2015; Aug; 21 (8): 564–569 DOI: 10.1016/j.jiac.2015.04.011.
30. *Chenevier-Gobeaux C., Bardet V., Poupet H., Poyart C., Borderie D., Claessens Y.* Presepsin (sCD14-ST) secretion and kinetics by peripherical blood mononuclear cells and monocytic THP-1 cell line. *Clin. Chim. Acta.* 2016; 74 (1): 93–97 DOI: 10.1684/abc.2015.1112
31. *Bamba Y., Moro H., Aoki N., Koizumi T., Ohshima Y., Watanabe S.* Increased presepsin levels are associated with the severity of fungal bloodstream infections. *PLoS ONE* 2018; Oct. 31, 13 (10): e0206089. DOI: 10.1371/journal.pone.0206089
32. *Stavrou G., Arvanitidis K., Filidou E., Fotiadis K., Grosomanidis V., Ioannidis A., Tsaousi G., Michalopoulos A., Kolios G., Kotzampassi K.* Combined Enteral and Parenteral Glutamine Supplementation in Endotoxaemic Swine: Effects on Portal and Systemic Circulation Levels. *Med. Princ. Pract.* 2018; Sep 5. DOI: 10.1159/000493481. PMID: 30184534
33. *Fan J., Wu J., Wu L.D., Li G.P., Xiong M., Chen X., Meng Q.Y.* Effect of parenteral glutamine supplementation combined with enteral nutrition on Hsp90 expression and lymphoid organ apoptosis in severely burned rats. *Burns.* 2016; Nov; 42 (7): 1494–1506. DOI: 10.1016/j.burns.2016.02.009. Epub 2016 Sep 6. PMID: 27613477
34. *Meng J., Wang Q., Liu K., Yang S., Fan X., Liu B., He C., Wu X.* Systemic and Splanchnic Lipopolysaccharide and Endothelin-1 Plasma Levels in Liver Cirrhosis before and after Transjugular Intrahepatic Portosystemic Shunt. *Gastroenterol. Res. Pract.* 2016; 2016: 8341030. DOI: 10.1155/2016/8341030. Epub 2016 Jan 31. PMID: 26941788
35. *Wu C.Y., Yeh Y.C., Chien C.T., Chao A., Sun W.Z., Cheng Y.J.* Laser speckle contrast imaging for assessing microcirculatory changes in multiple splanchnic organs and the gracilis muscle during hemorrhagic shock and fluid resuscitation. *Microvasc. Res.* 2015; 101: 55–61. DOI: 10.1016/j.mvr.2015.06.003. PMID: 26093177
36. *Gao F., Fu X., Qian M., Zhang Y., Li G., Hu J.* Changes of small intestinal villi microcirculation in sidestream dark-field imaging with different target blood pressure in rabbits during endotoxin shock. *Zhonghua Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue.* 2017 Apr; 29 (4): 311–315. doi: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2017.04.005.
37. *Schulz K., Sommer O., Jargon D., Utzolino S., Clement H.W., Strate T., von Dobschuetz E.* Cytokine and radical inhibition in septic intestinal barrier failure. *J. Surg. Res.* 2015; Feb; 193 (2): 831–840. DOI: 10.1016/j.jss.2014.08.056. PMID: 25277359
38. *Liu P.S., Ho P.C.* Determining Macrophage Polarization upon Metabolic Perturbation. *Methods Mol. Biol.* 2019; 1862: 173–186. DOI: 10.1007/978-1-4939-8769-6_13. PMID: 30315468
39. *McNeil C.J., Hoskin S.O., Bremner D.M., Holtrop G., Lobley G.E.* Whole-body and splanchnic amino acid metabolism in sheep during an acute endotoxin challenge. *Br. J. Nutr.* 2016 Jul; 116 (2): 211–222. DOI: 10.1017/S0007114516001860. PMID: 27189533
40. *Kao R.L.C., Xu X., Xenocostas A., Parry N., Mele T., Martin C.M., Rui T.* Cpeptide attenuates acute lung inflammation in a murine model of hemorrhagic shock and resuscitation by reducing gut injury. *Trauma Acute Care Surg.* 2017; Aug; 83 (2): 256–262. DOI: 10.1097/TA.0000000000001539. PMID: 28452895
41. *Yi J., Slaughter A., Kotter C.V., Moore E.E., Hauser C.J., Itagaki K., Wohlaue M., Frank D.N., Silliman C., Banerjee A., Peltz E.A.* «clean case» of systemic injury: 13 mesenteric lymph after hemorrhagic shock elicits a sterile inflammatory response. *Shock.* 2015; Oct; 44 (4): 336–340. DOI: 10.1097/SHK.0000000000000431
42. *Kontouli Z., Staikou C., Iacovidou N., Mamais I., Kouskouni E., Papalois A., Papapanagiotou P., Gulati A., Chalkias A., Xanthos T.* Resuscitation with centhaquin and 6% hydroxyethyl starch 130/0.4 improves survival in a swine model of hemorrhagic shock: a randomized experimental study. *Eur. J. Trauma Emerg. Surg.* 2018; Jul 13. DOI: 10.1007/s00068-018-0980-1 PMID: 30006694
43. *Busuito C.M., Ledgerwood A.M., Lucas C.E.* Colloid with high fresh frozen plasma/red blood cell resuscitation does not reduce postoperative fluid needs. *J. Trauma Acute Care Surg.* 2014 Apr; 76 (4): 1008–1012. DOI: 10.1097/TA.000000000000183 PMID: 24662864
27. *Torres Filho I.* Hemorrhagic Shock and the Microvasculature. *Compr Physiol.* 2017 Dec 12; 8 (1): 61–101. DOI: 10.1002/cphy.c170006. PMID: 29357125
28. *Balogh Z., Wolfárd A., Szalay L., Orosz E., Simonka J.A., Boros M.* Dalteparin sodium treatment during resuscitation inhibits hemorrhagic shock induced leukocyte rolling and adhesion in the mesenteric microcirculation. *J. Trauma.* 2002; 52 (6): 1062–1069. DOI: 10.1097/0000537320020600000007. PMID: 12045631
29. *Arai Y., Mizugishi K., Nonomura K., Naitoh K., Takaori-Kondo A., Yamashita K.* Phagocytosis by human monocytes required for the secretion of presepsin. *J. Infect. Chemother.* 2015; Aug; 21 (8): 564–569 DOI: 10.1016/j.jiac.2015.04.011.
30. *Chenevier-Gobeaux C., Bardet V., Poupet H., Poyart C., Borderie D., Claessens Y.* Presepsin (sCD14-ST) secretion and kinetics by peripherical blood mononuclear cells and monocytic THP-1 cell line. *Clin. Chim. Acta.* 2016; 74 (1): 93–97 DOI: 10.1684/abc.2015.1112
31. *Bamba Y., Moro H., Aoki N., Koizumi T., Ohshima Y., Watanabe S.* Increased presepsin levels are associated with the severity of fungal bloodstream infections. *PLoS ONE* 2018; Oct. 31, 13 (10): e0206089. DOI: 10.1371/journal.pone.0206089
32. *Stavrou G., Arvanitidis K., Filidou E., Fotiadis K., Grosomanidis V., Ioannidis A., Tsaousi G., Michalopoulos A., Kolios G., Kotzampassi K.* Combined Enteral and Parenteral Glutamine Supplementation in Endotoxaemic Swine: Effects on Portal and Systemic Circulation Levels. *Med. Princ. Pract.* 2018; Sep 5. DOI: 10.1159/000493481. PMID: 30184534
33. *Fan J., Wu J., Wu L.D., Li G.P., Xiong M., Chen X., Meng Q.Y.* Effect of parenteral glutamine supplementation combined with enteral nutrition on Hsp90 expression and lymphoid organ apoptosis in severely burned rats. *Burns.* 2016; Nov; 42 (7): 1494–1506. DOI: 10.1016/j.burns.2016.02.009. Epub 2016 Sep 6. PMID: 27613477
34. *Meng J., Wang Q., Liu K., Yang S., Fan X., Liu B., He C., Wu X.* Systemic and Splanchnic Lipopolysaccharide and Endothelin-1 Plasma Levels in Liver Cirrhosis before and after Transjugular Intrahepatic Portosystemic Shunt. *Gastroenterol. Res. Pract.* 2016; 2016: 8341030. DOI: 10.1155/2016/8341030. Epub 2016 Jan 31. PMID: 26941788
35. *Wu C.Y., Yeh Y.C., Chien C.T., Chao A., Sun W.Z., Cheng Y.J.* Laser speckle contrast imaging for assessing microcirculatory changes in multiple splanchnic organs and the gracilis muscle during hemorrhagic shock and fluid resuscitation. *Microvasc. Res.* 2015; 101: 55–61. DOI: 10.1016/j.mvr.2015.06.003. PMID: 26093177
36. *Gao F., Fu X., Qian M., Zhang Y., Li G., Hu J.* Changes of small intestinal villi microcirculation in sidestream dark-field imaging with different target blood pressure in rabbits during endotoxin shock. *Zhonghua Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue.* 2017 Apr; 29 (4): 311–315. doi: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2017.04.005.
37. *Schulz K., Sommer O., Jargon D., Utzolino S., Clement H.W., Strate T., von Dobschuetz E.* Cytokine and radical inhibition in septic intestinal barrier failure. *J. Surg. Res.* 2015; Feb; 193 (2): 831–840. DOI: 10.1016/j.jss.2014.08.056. PMID: 25277359
38. *Liu P.S., Ho P.C.* Determining Macrophage Polarization upon Metabolic Perturbation. *Methods Mol. Biol.* 2019; 1862: 173–186. DOI: 10.1007/978-1-4939-8769-6_13. PMID: 30315468
39. *McNeil C.J., Hoskin S.O., Bremner D.M., Holtrop G., Lobley G.E.* Whole-body and splanchnic amino acid metabolism in sheep during an acute endotoxin challenge. *Br. J. Nutr.* 2016 Jul; 116 (2): 211–222. DOI: 10.1017/S0007114516001860. PMID: 27189533
40. *Kao R.L.C., Xu X., Xenocostas A., Parry N., Mele T., Martin C.M., Rui T.* Cpeptide attenuates acute lung inflammation in a murine model of hemorrhagic shock and resuscitation by reducing gut injury. *Trauma Acute Care Surg.* 2017; Aug; 83 (2): 256–262. DOI: 10.1097/TA.0000000000001539. PMID: 28452895
41. *Yi J., Slaughter A., Kotter C.V., Moore E.E., Hauser C.J., Itagaki K., Wohlaue M., Frank D.N., Silliman C., Banerjee A., Peltz E.A.* «clean case» of systemic injury: 13 mesenteric lymph after hemorrhagic shock elicits a sterile inflammatory response. *Shock.* 2015; Oct; 44 (4): 336–340. DOI: 10.1097/SHK.0000000000000431
42. *Kontouli Z., Staikou C., Iacovidou N., Mamais I., Kouskouni E., Papalois A., Papapanagiotou P., Gulati A., Chalkias A., Xanthos T.* Resuscitation with centhaquin and 6% hydroxyethyl starch 130/0.4 improves survival in a swine model of hemorrhagic shock: a randomized experimental study. *Eur. J. Trauma Emerg. Surg.* 2018; Jul 13. DOI: 10.1007/s00068-018-0980-1 PMID: 30006694
43. *Busuito C.M., Ledgerwood A.M., Lucas C.E.* Colloid with high fresh frozen plasma/red blood cell resuscitation does not reduce postoperative fluid needs. *J. Trauma Acute Care Surg.* 2014 Apr; 76 (4): 1008–1012. DOI: 10.1097/TA.000000000000183 PMID: 24662864

Поступила 07.12.18

Received 07.12.18