

ДИАГНОСТИКА И ИНТЕНСИВНАЯ ТЕРАПИЯ БОЛЬНЫХ В КРИТИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЯХ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2013
УДК 617-089.168-06:616.94]-07:616.15-099

М. Б. Ярустовский, Н. Н. Самсонова, Е. А. Рогальская, Л. Г. Климович, М. Г. Плющ,
М. В. Абрамян, Н. П. Кротенко, А. А. Ниязатов

ЭКСПРЕСС-ДИАГНОСТИКА УРОВНЯ ЭНДОТОКСЕМИИ В ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОМ ПЕРИОДЕ У КАРДИОХИРУРГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ

ФГБУ Научный центр сердечно-сосудистой хирургии им. А. Н. Бакулева РАМН, 121552, Москва

Развитие медицинских технологий и современные подходы к ведению пациентов, имеющих признаки септических осложнений в раннем послеоперационном периоде, ставят новые задачи лабораторной службе. Эндотоксин является основным пусковым механизмом системного воспалительного каскада и играет важную роль в патогенезе сепсиса. Современные экспресс-методы позволяют в течение 30–50 мин определить активность и количество эндотоксина в крови. В рамках одноцентрового, проспективного исследования были обследованы 55 пациентов ОРИТ с клинико-лабораторными признаками синдрома системного воспалительного ответа после кардиохирургических операций. Уровень эндотоксемии диагностировали с применением экспресс-тестов. 15 больным, в комплексную интенсивную терапию которых были включены процедуры селективной ЛПС-сорбции, оценку уровня эндотоксемии проводили до и после сорбции. Установлено, что уровень эндотоксемии позволяет своевременно определить показания к проведению соответствующей интенсивной терапии и оценить ее эффективность. Тест-системы для оценки эндотоксиновой нагрузки, основанные на принципе взаимодействия антиген–антитело (ЕАА и МАЧ-Endotox.spp), наиболее информативны для экспресс-диагностики эндотоксемии.

Ключевые слова: сепсис, эндотоксин, экспресс-диагностика эндотоксемии

EXPRESS DIAGNOSTICS OF ENDOTOXAEMIA DURING POSTOPERATIVE PERIOD IN CARDIAC SURGICAL PATIENTS

Yaroustovsky M.B., Samsonova N.N., Rogalskaya E.A., Klimovich L.G., Plyush M.G., Abramyan M.V., Krotenko N.P.,
Niyazmatov A.A.

Bakulev Scientific Center for Cardiovascular Surgery of the Russian Academy of Medical Sciences,
121552, Moscow, Russia

Medical technologies development and recent approaches in management of patients with septic complications during the early postoperative period present new obstacles to the laboratory service. Endotoxin is a main agent in the systemic inflammatory cascade and plays important role in sepsis pathogenesis. Recent express methods of diagnostics allow determining blood activity of endotoxin during 30–50 min. 55 ICU patients with clinical and laboratory signs of systemic inflammatory response syndrome (SIRS) after cardiac surgery were studied in the single-center prospective research. Endotoxaemia was diagnosed by express tests. Level of endotoxaemia was assessed before and after sorption in 15 patients receiving complex intensive care with selective lipopolysaccharide (LPS) adsorption. Endotoxaemia level assessment allows to define indications for different programs of intensive care in time and to assess its efficiency. Test systems for assessment endotoxin level based on the principle of interaction antigen - antibody (EAA and МАЧ-endotox spp.) is a most efficient for express diagnostics of endotoxaemia.

Key words: sepsis, endotoxin, express diagnostics of endotoxaemia

Несмотря на значительные достижения современной медицины, летальность при сепсисе, особенно при развитии септического шока, остается чрезвычайно высокой и достигает 33–70% [1, 6, 10, 22]. По данным исследования S. Oral и соавт. [15], в настоящее время наблюдается тенденция к увеличению распространенности инфекционной патологии, вызванной грамотрицательными бактериями, в ОРИТ. Уровень эндотоксина — липополисахарида (ЛПС) клеточной стенки грамотрицательных бактерий, содержание которого в крови здорового человека минимально, при сепсисе может увеличиваться в 100 раз даже при отсутствии подтвержденной грамотрицательной инфекции [12, 16]. Эндотоксин, высвободившийся в процессе инвазивной грамотрицательной инфекции или попавший в системный кровоток через слизистую оболочку кишечника (в условиях шока, гипоксемии и нарушений

спланхического кровотока), взаимодействует с ЛПС-связывающим протеином (LBP) [7, 8]. Комплекс LBP с эндотоксином связывается с CD14-рецептором на поверхности макрофагов и активирует ТОЛЛ-подобные рецепторы (TLR) 4-го типа. TLR индуцирует передачу сигнала, приводящего к активированию нуклеарного фактора NF-κB. Фактор NF-κB мигрирует в ядро клетки макрофага, где инициирует сложный транскрипционный процесс, который приводит к дифференциальной экспрессии более чем 3700 генов [9, 21]. В результате усиливается воспалительный ответ — запускается выброс провоспалительных цитокинов и хемокинов, активируется комплемент, индуцируются каскады коагуляции и повреждения клеток, формируется органная дисфункция [17, 21].

Важную роль для снижения летальности принимает ранняя диагностика сепсиса и характеристика наблюдаемых при этом гуморальных изменений, включая обнаружение и количественную оценку циркулирующего эндотоксина [20].

В настоящее время имеется ограниченное количество тестов, позволяющих в реальном времени, практически

Информация для контакта:

Ярустовский Михаил Борисович (Yaroustovsky Michael), e-mail: mbyar@yandex.ru

"у постели" больного, определить уровень эндотоксемии. К экспресс-методам для определения содержания бактериальных эндотоксинов следует отнести ЛАЛ-тест (модификация гель-тромб), имеющий многолетнюю историю применения в фармакологической промышленности большинства развитых стран. В основе ЛАЛ-теста лежит процесс физико-химического взаимодействия эндотоксинов с лизатом клеток крови мечехвостов *Limuluspolyphemus*. Относительно новым тестом для оценки эндотоксина нагрузки является определение активности эндотоксина (Endotoxin Activity Assay — EAA). В основу этого теста положена реакция эндотоксина с антителом, которая усиливается нейтрофилами больного в цельной крови. Недостаточно изученным тестом для оценки уровня эндотоксемии является метод активированных частиц, также основанный на принципе взаимодействия антиген—антитело в составе латексного диагностикума МАЧ-Endotox.spp.

Целью работы явилась оценка информативности и прогностической значимости современных методов лабораторной экспресс-диагностики уровня эндотоксемии у больных в ОРИТ.

Материал и методы. В рамках одноцентрового проспективного исследования были обследованы 55 пациентов после операций на сердце и сосудах в возрасте от 19 до 73 лет. Пациентам выполнялась коррекция клапанной патологии, сочетанные вмешательства на клапанах сердца и коронарных артериях, реваскуляризация миокарда и коррекция нарушений ритма сердца, трансплантация сердца и другие операции.

В комплексную интенсивную терапию 15 больным были включены процедуры селективной ЛПС-сорбции с применением колонок Тогаумухин—PMX-F (Тогау, Япония), показаниями к которым являлись тяжелый сепсис и высокий уровень эндотоксемии. Остальным 40 пациентам проводилась стандартная комплексная консервативная терапия согласно рекомендациям Кампании "Переживем сепсис" [10].

Критериями включения больных в группу исследования были: гипертермия, лейкопения или лейкоцитоз со сдвигом лейкоцитарной формулы влево, уровень прокальцитонина более 0,5 нг/мл.

Всем пациентам были проведены клинико-лабораторные исследования, включающие клинический анализ крови, исследование состояния системы гемостаза и стандартных биохимических показателей, прокальцитонин плазмы (PCT) и сывороточный С-реактивный белок (СРБ).

Уровень эндотоксемии определяли на основании данных изучения ЛАЛ-теста (LAL, *Limulus Amebocyte Lisate*; Cambrex, США) у 44 больных, уровень активности эндотоксина — EAA¹ (Endotoxin Activity Assay; Spectral Diagnostics, Канада) у всех пациентов, методом активированных частиц — МАЧ-Endotox.spp² (НЦССХ им. Бакулева РАМН, НПФ "Рохат", Россия) также у всех больных.

ЛАЛ в модификации гель-тромб-тест — визуальный метод, принцип которого специфическое взаимодействие эндотоксина с лизатом клеток крови мечехвостов *Limuluspolyphemus*. Для определения концентрации эндотоксина сравнивают реакцию ЛАЛ-реактива с испытуемым раствором, содержащим эндотоксин в неизвестной концентрации, и его реакцию с раствором стандартного препарата эндотоксина в известной концентрации, которая измеряется в единицах эндотоксина на 1 мл — ЕдЭ/мл [5].

В основе EAA-метода лежит реакция эндотоксина с антителом, которая усиливается нейтрофилами больного, что приводит к увеличенному респираторному импульсу в присутствии зимоzana. Респираторный взрыв нейтрофилов продуцирует оксиданты, которые взаимодействуют с люминолом, в результате чего возникает хемиллюминесценция. Величина первичного влияния пропорциональна содержанию комплекса антиген—антитело. Хемиллюминесценция обнаруживается подсчетом фотонов в

хемиллюминиметре. Измеренные прибором величины преобразуются расчетом в единицы эндотоксина, а единица его активности — как пропорциональная суммарной возможной активности (0—1,00) [19].

Принцип МАЧ основан на иммобилизации на поверхности полимерных химических микросфер с размером частиц 0,62—0,68 мкм моноклональных антител субкласса IgG₃ и IgG_{2a}, специфичных к общему эндотоксину грамотрицательных бактерий, выделенных из *E. coli*. МАЧ-Endotox.spp — диагностический набор для полуколичественного определения общего эндотоксина грамотрицательных бактерий, положительный результат которого соответствует концентрации в крови: 2СА (степень активирования) — от 7,5 до 30 пг/мл, 3СА — от 30 до 125 пг/мл, 4СА — от 125 до 500 пг/мл. Учет результатов реакции (степени активирования) проводится визуально (с использованием одноразовой 6-луночной планшеты), по качеству "хлопьев" и прозрачности "фона" [2].

Время лабораторного исследования для экспресс-тестов, включая пробоподготовку, составило: 80 мин для ЛАЛ-теста, 30 минут для метода EAA и 50 мин для МАЧ.

Обработку данных осуществляли с помощью статистического пакета SPSS for Windows Version 17.0 (IBM Corp., США). Для проверки гипотезы о нормальности распределения выборочной совокупности использован критерий Колмогорова—Смирнова. Данные, распределение которых отлично от нормального, представлены медианами (Q₁; Q₃). Анализ выборочной совокупности на однородность проведен с помощью критерия Краскела—Уоллиса. Для сравнения несвязанных групп использован критерий Манна—Уитни с поправкой Бонферрони. Анализ категориальных данных проведен на основе таблиц сопряженности с использованием точного теста Фишера. Для выявления взаимосвязи между порядковыми и непрерывными переменными использован коэффициент ранговой корреляции Кендалла (τ). Критический уровень значимости установлен в 0,05.

Результаты исследования и их обсуждение. В процессе исследования гипертермия была выявлена у 93% пациентов, у одного больного температура тела была менее 36°C, у остальных — в пределах физиологической нормы. Количество лейкоцитов у 11 пациентов было в пределах референтных значений, у остальных составило 18,2 (13,2; 26,9) · 10⁹/л; сдвиг лейкоцитарной формулы влево отмечался в 64% случаев. PCT превышал норму у 87% пациентов, причем значения PCT более 2 нг/мл имели место у 64% обследованных, что, по данным литературы, свидетельствует о наличии тяжелой бактериальной инфекции [4]. Значения МАЧ-теста составляли 7,5—30 пг/мл (7,5—125 пг/мл) и у 84% больных превышали физиологическую норму. ЛАЛ-тест был положительным у всех обследованных и составлял 0,72 (0,36—1,44) ЕдЭ/мл. Уровень EAA в среднем был равен 0,54 (0,36; 0,68). У 100% больных выявлено повышение сывороточного острофазного белка — СРБ, показатели которого в группе обследованных составили 9,4 (5,4; 14,0) мг/дл.

Исследования, проведенные J. Marshall и соавт. [13], показали четкое соответствие уровня активности эндотоксина его концентрации в крови. Высокий уровень эндотоксемии позволял определить группу с высоким риском летальности среди популяции критически больных. Основываясь на этих данных, мы сочли возможным предполо-

Таблица 1
Диагностически значимые границы величин эндотоксин-тестов

Метод измерения	Уровень эндотоксемии		
	низкий	повышенный	высокий
EAA	0—0,39	0,4—0,59	0,6—1,0
МАЧ-Endotox.spp, пг/мл	0—7,5	7,5—30	30—500
ЛАЛ-тест, ЕдЭ/мл	< 0,72	0,72	> 0,72

¹ Разрешение Росздравнадзора к применению в РФ № 6619-Пр/09 от 18.08.09.

² Разрешение Росздравнадзора к применению в РФ № 5475-Пр/10 от 11.06.10.

Клинико-лабораторные показатели у пациентов с различным уровнем эндотоксемии по методу ЕАА

Показатель	Группа пациентов		
	1 _{ЕАА}	2 _{ЕАА}	3 _{ЕАА}
Уровень эндотоксемии (ЕАА)	Низкий 0—0,4	Средний 0,39—0,6	Высокий 0,6—1,0
Уровень активности эндотоксина	0,30 (0,28; 0,33)	0,47 (0,43; 0,50)	0,69 (0,63; 0,77)
Температура тела, °С	38,0 (37,4—38,3)	37,9 (37,5; 38,4)	38,1 (37,6; 38,9)
РСТ, нг/мл	5,2 (1,2; 17,9)	2,8 (0,7; 7,6)	5,9 (1,5; 29,6)
СРБ, мг/дл	10,0 (5,3; 15,4)	10,4 (5,5; 15,3)	9,0 (4,3; 12,3)
Лейкоциты, · 10 ⁹ /л	15,3 (12,0; 21,9)	11,5 (7,7; 20,5)	18,1 (11,6; 27,1)
Сдвиг лейкоцитарной формулы, %	67	57	70
Нб, г/л	109,0 (98,5; 114)	99,0 (91,5; 112,5)	89,3 (96,0; 102,8)
Тромбоциты, · 10 ⁹ /л	140 (94,5; 195)	121 (63; 160)	111 (63; 153)

жить, что аналогичные выводы можно использовать для интерпретации результатов исследования, полученных методом ЛАЛ и МАЧ-тестом (табл. 1).

Для более детального анализа результатов, полученных разными методами определения эндотоксина, значения каждого теста были разделены на 3 группы — низкий, средний и высокий уровень эндотоксемии. При исследовании уровня эндотоксемии методом ЕАА у 16% пациентов был диагностирован низкий уровень (группа 1_{ЕАА}), средний — у 38% (группа 2_{ЕАА}). У 46% больных (группа 3_{ЕАА}) значения ЕАА достигали высокого уровня — 0,6—1,0. Температура тела у обследованных больных достоверно не отличалась в группах с разным уровнем эндотоксемии ($p_{\text{м/гр}}$ 0,42). В группе с высокими значениями ЕАА показатели РСТ были выше, чем в группах с меньшими значениями ЕАА, в 2,12 и 1,14 раза. Уровень СРБ в группах превышал референтное значение в 18—20 раз. Количество лейкоцитов у пациентов с высоким уровнем эндотоксемии превышало верхнюю границу нормы в 2 раза, а в группах с низким и средним уровнем эндотоксемии — в 1,7 и 1,3 раза соответственно. В группе с высокими значениями ЕАА доля пациентов с повышенным содержанием нейтрофилов и сдвигом их ядерной формулы влево была выше, чем в других группах. В группе с низким уровнем эндотоксемии наблюдались наиболее высокие показатели гемоглобина и тромбоцитов (табл. 2). Не обнаружено ста-

тистически значимых межгрупповых различий ни одного лабораторного показателя ($p_{\text{м/гр}} > 0,05$).

У больных при исследовании уровня эндотоксемии МАЧ-методом низкий уровень обнаружен у 16% пациентов (группа 1_{МАЧ}), средний (группа 2_{МАЧ}) — у 35%. У 49% больных (группа 3_{МАЧ}) уровень эндотоксина находился в пределах от 125 до 500 пг/мл. Температура тела у обследованных больных в группе 1_{МАЧ} (с низким уровнем эндотоксемии) была выше, чем в остальных группах, но статистически значимых различий не выявлено ($p_{\text{м/гр}}$ 0,37). Наиболее высокий уровень РСТ наблюдался в группах со средними и высокими значениями МАЧ-теста (табл. 3). В группе со средним уровнем эндотоксемии выявлена самая высокая степень лейкоцитоза с левосторонним ядерным сдвигом нейтрофилов, а также группе 2_{МАЧ} соответствовали более высокие уровни СРБ и гемоглобина. Количество тромбоцитов в группе с низким уровнем эндотоксемии было в 1,3 раза выше, чем в группах с более высоким уровнем эндотоксемии. Не обнаружено статистически значимых межгрупповых различий ни одного лабораторного показателя ($p_{\text{м/гр}} > 0,05$). В каждой группе, сформированной по значениям МАЧ-метода, оценены показатели ЕАА и ЛАЛ-теста. Уровень активности эндотоксина соответствовал уровню эндотоксемии в каждой конкретной группе и имел достоверное межгрупповое различие ($p_{\text{гр1/гр3}}$ 0,09; $p_{\text{гр2/гр3}}$ 0,03; $p_{\text{гр1/гр2}}$ 0,02). Группе с низким уровнем эндоток-

Таблица 3

Клинико-лабораторные показатели у пациентов с различным уровнем эндотоксемии по МАЧ-тесту

Показатель	Группа пациентов		
	1 _{МАЧ}	2 _{МАЧ}	3 _{МАЧ}
Уровень эндотоксемии (МАЧ, пг/мл)	Низкий 0—30	Средний 30—125	Высокий 125—500
Уровень эндотоксина, пг/мл	0—7,5 (0—7,5)	7,5—30 (7,5—30)	30—125 (30—500)
Температура тела, °С	38,3(37,9; 38,6)	38,0(37,5; 38,5)	37,9 (37,5; 38,2)
РСТ, нг/мл	1,21 (0,74; 3,1)	5,6 (0,92; 19,9)	5,9 (1,3; 23,0)
СРБ, мг/дл	8,9 (4,7; 15,7)	10,3 (5,4; 15,1)	9,2 (5,2; 12,9)
Лейкоциты, · 10 ⁹ /л	10,7 (7,4; 16,6)	19,2 (12,1; 27,3)	17,4 (11,0; 22,8)
Сдвиг лейкоцитарной формулы, %	55,6	73,7	60
Нб, г/л	96,0 (90,0; 115,0)	99,0 (93,0; 109,0)	98,5 (90,0; 105,3)
Тромбоциты, · 10 ⁹ /л	143 (121; 217)	111 (54; 152)	111 (78; 155)
ЕАА	0,42 (0,34; 0,44)	0,53 (0,44; 0,60)	0,67 (0,48; 0,76)
ЛАЛ, ЕдЭ/мл	$p_{\text{гр1/гр2}}$ 0,02 0,36 (0,36-0,72)	$p_{\text{гр2/гр3}}$ 0,03 0,72 (0,72)	$p_{\text{гр1/гр3}}$ 0,09 0,72 (0,72—1,44)
	$p_{\text{гр1/гр2}}$ 0,81	$p_{\text{гр2/гр3}}$ 0,57	$p_{\text{гр1/гр3}}$ 0,03

Клинико-лабораторные показатели у пациентов с различным уровнем эндотоксемии по ЛАЛ-тесту

Показатель	Группа пациентов		
	1 _{ЛАЛ}	2 _{ЛАЛ}	3 _{ЛАЛ}
Уровень эндотоксемии (ЛАЛ, ЕдЭ/мл)	Низкий < 0,72	Средний 0,72	Высокий > 0,72
Уровень эндотоксина, ЕдЭ/мл	0,36 (0,36; 0,36)	0,72 (0,72; 0,72)	1,44 (1,44; 1,44)
Температура тела, °С	38,1 (37,8; 38,5)	38,2 (37,7; 38,8)	37,9 (37,4; 38,6)
РСТ, нг/мл	2,7 (0,7; 12,2)	5,2 (1,4; 10,7)	1,5 (0,6; 22,0)
СРБ, мг/дл	10,0 (6,5; 17,7)	9,6 (6,0; 14,8)	10,4 (5,8; 14,3)
Лейкоциты, ·10 ⁹ /л	13,5 (10,7; 21,7)	14,1 (7,8; 21,1)	18,7 (11,4; 26,9)
Сдвиг лейкоцитарной формулы, %	75	60	64
Нв, г/л	106 (93; 114)	98 (92; 102)	99 (90; 112)
Тромбоциты, ·10 ⁹ /л	131 (95; 192)	119 (89; 151)	139 (76; 171)
ЕАА	0,43 (0,33; 0,50)	0,54 (0,45; 0,63)	0,69 (0,60; 0,78)
МАЧ, пг/мл	$p_{гр1/гр2}$ 0,12 7,5—30 (0—500)	$p_{гр2/гр3}$ 0,02 7,5—30 (7,5—125)	$p_{гр1/гр3}$ 0,02 30—125 (30—125)
	$p_{гр1/гр2}$ 0,83	$p_{гр2/гр3}$ 0,09	$p_{гр1/гр3}$ 0,33

семии, определенным методом активированных частиц, соответствовали низкие значения ЛАЛ-теста. В группах с более высоким уровнем эндотоксемии наблюдались средние значения ЛАЛ-теста. Статистически значимые различия значений ЛАЛ найдены только для двух групп — с низким и высоким уровнем эндотоксемии ($p_{гр1/гр3}$ 0,03).

При исследовании уровня эндотоксемии ЛАЛ-методом низкий уровень обнаружен у 27% пациентов (группа 1_{ЛАЛ}), средний — у 46% (группа 2_{ЛАЛ}). У 27% больных (группа 3_{ЛАЛ}) уровень эндотоксина находились в пределах высоких значений > 0,72 ЕдЭ/мл. Наиболее высокий уровень температуры и РСТ отмечался у пациентов со средними значениями ЛАЛ-теста. В группе с высокими значениями ЛАЛ наблюдался самый высокий уровень СРБ, а лейкоцитоз был выше, чем в остальных группах, в 1,3 и 1,4 раза. У обследованных больных в группе 1_{ЛАЛ} (с низким уровнем эндотоксемии) была выше доля нейтрофильного ядерного сдвига, отмечался самый высокий уровень гемоглобина (табл. 4). Не обнаружено статистически значимых межгрупповых различий ни одного лабораторного показателя ($p_{м/гр}$ > 0,05). В каждой группе, сформированной по значениям ЛАЛ-теста, проведена оценка показателей ЕАА и МАЧ. Уровень активности эндотоксина соответствовал уровню эндотоксемии в каждой конкретной группе, но в группе с низкими и средними значениями ЛАЛ не имел статистически значимых различий ($p_{гр1/гр3}$ 0,02; $p_{гр2/гр3}$ 0,02; $p_{гр1/гр2}$ 0,12). Группе с высоким уровнем эндотоксемии, определенным ЛАЛ-тестом, соответствовали высокие значения МАЧ-теста; в группах с менее вы-

соким уровнем эндотоксемии — средние значения МАЧ-теста. Статистически значимые значения МАЧ найдены для групп со средним и высоким уровнем эндотоксемии ($p_{гр1/гр3}$ 0,09).

Для анализа сопоставимости результатов разных методов, применяемых для оценки уровня эндотоксемии, рассчитаны статистические таблицы сопряженности. Частота диагностических совпадений уровней эндотоксемии при использовании ЕАА и ЛАЛ-теста для низкого уровня составила 72%, среднего — 59%, высокого — 45%. Частота диагностических совпадений низкого, среднего и высокого уровней эндотоксемии при использовании тестов ЕАА и МАЧ-Endotox.spp составила 34, 48, 72% соответственно.

Общая доля совпадений отрицательных и положительных значений ЛАЛ- и МАЧ-тестов с активностью эндотоксина ЕАА находится на уровне 80% для обоих тестов. Между тремя анализируемыми экспресс-тестами выявлена умеренная корреляция ($\tau = 0,41—0,44$). Корреляция значима на уровне 0,01.

Нами прослежена 28-дневная выживаемость пациентов в зависимости от уровня эндотоксемии, исследованной разными методами. При уровне активности эндотоксина (ЕАА) 0—0,4 выживаемость составила 67%, при уровне 0,4—0,6 — 62%, 0,6—1,0 — 50% (см. рисунок); выживаемость при уровне эндотоксина (МАЧ) 7,5—30 пг/мл 67%, 30—125 пг/мл 62%, 125—500 пг/мл 56%; при значениях ЛАЛ-теста менее 0,72 ЕдЭ/мл выживаемость больных составила 82%, при значениях 0,72 ЕдЭ/мл — 50%, при уровне эндотоксина больше 0,72 ЕдЭ/мл — 60%.

Более высокому уровню эндотоксемии соответствовала наименьшая выживаемость больных. Полученные результаты сопоставимы с данными, представленными в ряде работ других авторов (J. Marshall [13], D. Klein [11], М. Г. Плющ [3]), в которых прослеживается достоверная связь между уровнем эндотоксемии и 28-дневной выживаемостью пациентов.

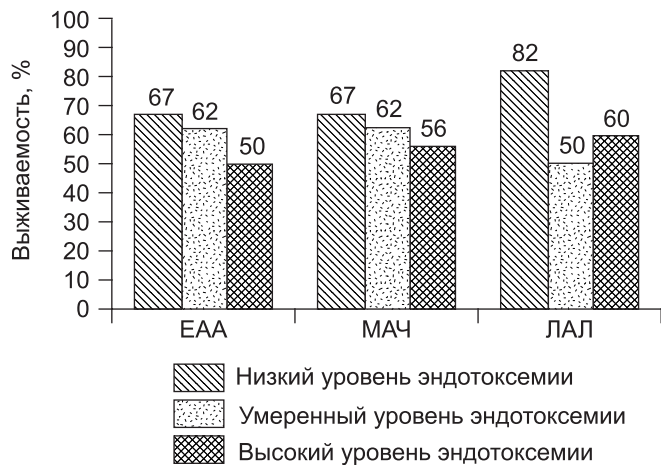
У 15 больных с диагностированным тяжелым сепсисом, обусловленным грамотрицательной инфекцией, с высоким уровнем эндотоксемии (ЕАА 0,6—1,0; МАЧ 30—500 пг/мл; ЛАЛ 0,36—2,88 ЕдЭ/мл) и показателем РСТ больше 2 нг/мл в комплексную интенсивную терапию были включены процедуры селективной ЛПС-сорбции с применением колонок Toxamuxin—PMX-F (Toxay, Япония). Ряду пациентов, имеющих аналогичные

Таблица 5

Динамика показателей уровня эндотоксемии после использования сорбционной колонки "Toxamuxin"

Показатель	До ЛПС-сорбции	После ЛПС-сорбции	<i>p</i>
Уровень активности эндотоксина (ЕАА)	0,73 (0,63; 0,79)	0,53 (0,47; 0,58)	0,001
Уровень эндотоксина (МАЧ-тест), пг/мл	30—125 (30—500)	7,5—30 (7,5; 125)	0,013
Уровень эндотоксина (ЛАЛ-тест), ЕдЭ/мл	1,44 (0,72; 1,44)	0,72 (0,36; 0,72)	0,102

Примечание. Выделенный жирным шрифтом *p* — различие достоверно.



Зависимость между уровнями эндотоксемии и 28-дневной выживаемостью пациентов с сепсисом.

Горизонтально — тесты.

клинико-лабораторные данные, процедуры ЛПС-сорбции не проводились по причине диагностированного активно продолжающегося кровотечения или наличия терминальной сердечной недостаточности (сердечный индекс < 2,0 л/мин/м² и АД_{ср} < 65 мм рт. ст.; при условии зависимости от высоких доз катехоламинов: адреналин > 0,2 мкг/кг/мин, норадреналин > 0,2 мкг/кг/мин, дофамин > 15 мкг/кг/мин, добутамин > 15 мкг/кг/мин), а также тяжести состояния по шкале АРАСНЕ II > 32 баллов.

После проведенных процедур отмечалось статистически значимое снижение уровня эндотоксемии, измеренного с помощью экспресс-тестов ЕАА и МАЧ (табл. 5).

В настоящее время доказано, что экстракорпоральная терапия вносит существенный вклад в элиминацию медиаторов воспаления, принимающих участие в патогенезе полиорганной недостаточности и развитии сепсиса [18]. Успешное применение процедур селективной ЛПС-сорбции в комплексном лечении септических состояний требует точного определения уровня эндотоксемии в реальном времени [23].

Самым известным тестом на эндотоксин в течение последних 10-летий являлся ЛАЛ-тест. Несмотря на то что основное его предназначение — валидация растворов и сырья, используемых в производстве фармпрепаратов, тест долгие годы оставался единственным экспресс-методом, используемым для определения количества грамотрицательных бактериальных эндотоксинов. При контакте амебоцитов краба с ЛПС грамотрицательных бактерий происходит активация каскада коагуляционных ферментов аналогичных протеолитическим ферментам системы гемостаза млекопитающих [5]. В исследовании ЛАЛ-тест был положительным у всех обследованных пациентов, а изменение значений теста после процедур селективной ЛПС-сорбции было недостоверным. Учитывая сходство факторов коагуляции млекопитающих с факторами коагуляции человека не удивительно, что тромбин и тромбопластин способны вызывать реакцию гелирования лизата амебоцитов, а естественные антикоагулянты, содержащиеся в крови человека, способны ингибировать реакцию коагуляционного каскада *Limuluspolyphemus*. Ингибирующими свойствами по отношению реакции гелирования также могут обладать антибиотики, гормоны, алкалоиды, ферменты, простые сахара [14].

Результаты исследования по выявлению информативности различных экспресс-методов для оценки эндотоксиновой нагрузки показали: 1) методы, основанные на принципе взаимодействия антиген—антитело (ЕАА и МАЧ-Endotox.spp) наиболее информативны для экспресс-диагностики

эндотоксемии; 2) применение эндотоксиновых тестов позволяет своевременно определить показания к проведению соответствующей терапии; 3) тесты ЕАА и МАЧ-Endotox.spp могут быть использованы для мониторинга эффективности применяемой интенсивной терапии у пациентов ОРИТ после операциях на сердце и сосудах.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бокерия Л. А., Белобородова Н. В. Инфекция в кардиохирургии. М.: ИЦ ССХ им. А. Н. Бакулева РАМН; 2007.
2. Бокерия Л. А., Ниязатов А. А., Серов В. Н. и др. Экспресс-диагностика общего рода и вида эндотоксинов грамотрицательных бактерий в сыворотке крови больных с сердечно-сосудистой и другой патологией: Тезисы Всероссийской XIV ежегодной сессии ИЦ ССХ им. А. Н. Бакулева РАМН. Проблемы гомеостаза в сердечно-сосудистой хирургии. Бюллетень ИЦ ССХ им. А. Н. Бакулева РАМН. 2010; прил. 3: 27—31.
3. Плющ М. Г., Самсонова Н. Н., Абрамян М. В. и др. Прогностическая значимость показателя активности эндотоксина у больных сепсисом после операций на сердце и сосудах. Инфекция в хирургии. 2011; 2: 27—31.
4. Савельев В. С., Гельфанд Б. П. Сепсис: классификация, клинико-диагностическая концепция и лечение: Практическое руководство. М.: ООО "Медицинское информационное агентство"; 2010.
5. Ситники А. Г., Травина Л. А., Багирова В. Л. ЛАЛ-тест. Современные подходы к определению пирогенности. М.; 1997.
6. Brun-Buisson C., Meshaka P., Pinton P. et al. EPISEPSIS: a reappraisal of the epidemiology and outcome of severe sepsis in French intensive care units. Intensive Care Med. 2004; 30 (4): 580—8.
7. Cinel I., Dellinger R. P. Advances in pathogenesis and management of sepsis. Curr. Opin. Infect. Dis. 2007; 20: 345—52.
8. Clark J. A., Coopersmith C. M. Intestinal crosstalk: a new paradigm for understanding the gut as the 'motor' of critical illness. Shock. 2007; 28: 384—93.
9. Cristofaro P., Opal S. M. Role of Toll-like receptors in infection and immunity: clinical implications. Drugs. 2006; 66: 15—29.
10. Dellinger P., Levy M., Carlet J. et al. Surviving Sepsis Campaign: International guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2008. Intensive Care Med. 2008.
11. Klein D., Derzko A., Foster D. et al. Daily variation in endotoxin levels is associated with increased organ failure in critically ill patients. Shock. 2007; 28: 524—9.
12. Klein D. J., Derzko A., Seeley A. et al. Marker or mediator? Changes in endotoxin activity as a predictor of adverse outcomes in critical illness. Crit. Care. 2005; 9 (Suppl. 1): 161.
13. Marshall J. C., Foster D., Vincent J. L. et al. Diagnostic and prognostic implications of endotoxemia in critical illness: results of the MEDIC study. J. Infect. Dis. 2004; 190: 527—34.
14. Morita T. et al. Bacterial endotoxins: Structure, biomedical significance, and detection with the *Limulus* amoebocyte lysate test. (Progr. Clin. Biol. Res. Vol. 189). New York: Alan R. Liss, Inc.; 1985: 53—64.
15. Opal S. M., Calandra T. Antibiotic usage and resistance: gaining or losing ground on infections in critically ill patients? J.A.M.A. 2009; 302: 2367—8.
16. Opal S. M., Scannon P. J., Vincent J. L. et al. Relationship between plasma levels of lipopolysaccharide (LPS) and LPS-binding protein in patients with severe sepsis and septic shock. J Infect. Dis. 1999; 180: 1584—9.
17. Reitsma P. H., Branger J., Van Den Blink B. et al. Procoagulant protein levels are differentially increased during human endotoxemia. J. Thromb. Haemost. 2003; 1: 1019—23.
18. Riederer N. C., Murray H., Kellum J. A. Fluid resuscitation and immunomodulation in the critically ill. Nature Med. 2003; 9 (5): 517—24.
19. Romaschin A., Harris D., Ribeiro M. et al. A rapid assay of endotoxin in whole blood using autologous neutrophil dependent chemiluminescence. J. Immunol. Meth. 1998; 212: 169—85.
20. Ronco C., Piccini P., Rosner M. H. endotoxemia and endotoxin shock: Disease, diagnosis and therapy. Contrib. Nephrol. 2010; 167: 25—34.
21. Salomao R., Martins P. S., Brunialti M. K. et al. TLR signaling pathway in patients with sepsis. Shock. 2008; 30 (Suppl. 1): 73—7.
22. Vincent J. L., Sakr Y., Sprung C. L. et al. Sepsis in European intensive care units: results of the SOAP study. Crit. Care Med. 2006; 34: 344—53.
23. Yaroustovsky M., Abramyan M., Popok Z. et al. Preliminary report regarding the use of selective sorbents in complex cardiac surgery patients with extensive sepsis and prolonged intensive care stay. Blood Purif. 2009; 28 (3): 227—33.

Поступила 18.05.12