

53. Song Y., Heg K., Levitan E.B. et al. Effects of oral magnesium supplementation on glycaemic control in type 2 diabetes: a meta-analysis of randomized double-blind controlled trials // *Diabet Med.* 2006. V.23. P.1050-1056.
54. Stirban A., Negrean M., Stratmann B. et al. Benfotiamine prevents macro- and microvascular endothelial dysfunction and oxidative stress following a meal rich in advanced glycation end products in individuals with type 2 diabetes // *Diabetes Care.* 2006. V.29. P.2064-2071.
55. Sun Y., Lai M.S., Lu C.J. Effectiveness of vitamin B12 on diabetic neuropathy: systematic review of clinical controlled trials // *Acta Neurol. Taiwan.* 2005. V.14. P.48-54.
56. Tiwari S., Pratyush D.D., Gupta B. et al. Prevalence and severity of vitamin D deficiency in patients with diabetic foot infection // *Br. J. Nutr.* 2013. V.109, No.1. P.99-102.
57. Udupa A.S., Nahar P.S., Shah S.H. et al. Study of comparative effects of antioxidants on insulin sensitivity in type 2 diabetes mellitus // *J. Clin. Diagn. Res.* 2012. V.6, No.9. P. 1469-1473.
58. Yilmaz H., Kaya M., Sahin M., Delibasi T. Is vitamin D status a predictor glycaemic regulation and cardiac complication in type 2 diabetes mellitus patients // *Diabetes Metab. Syndr.* 2012. V.6, No.1. P.28-31.

## ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ СЕПТИЧЕСКОЙ НЕФРОПАТИИ РЕНАЛЬНОГО ТРАНСПЛАНТАТА И ПОИСК ПУТЕЙ РЕШЕНИЯ ДАННОЙ ПРОБЛЕМЫ С ПОМОЩЬЮ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СОВРЕМЕННЫХ СЕЛЕКТИВНЫХ ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНЫХ МЕТОДОВ

**М. Крстич, А.Б. Зулкарнаев, А.В. Ватазин, Е.И. Прокопенко**

ГБУЗ МО Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского (МОНИКИ)

Представлен анализ патогенетических механизмов развития септической нефропатии ренального трансплантата и поиск путей решения данной проблемы с помощью использования перспективных методов борьбы с тяжелыми септическими осложнениями грамотрицательного и смешанного сепсиса.

**Ключевые слова:** сепсис, ренальный трансплантат, селективная адсорбция, экстракорпоральные методы.

### PATHOGENIC MECHANISMS OF SEPTIC NEPHROPATHY OF THE RENAL TRANSPLANTS AND THE SEARCH FOR WAYS OF SOLVING THIS PROBLEM WITH SELECTIVE USE OF MODERN EXTRACORPOREAL METHODS

**M. Krstic, A.B. Zulkarnayev, A.V. Vatazin, E.I. Prokopenko**

M.F. Vladimirsky Moscow Regional Clinical and Research Institute (MONIKI)

The article presents analysis of the pathogenic mechanisms of septic renal transplant nephropathy and the search for ways to solve this problem with the use of modern selective extracorporeal methods which are the most promising methods to struggle with severe septic complications and gram-negative sepsis which is a mixed-selective adsorption of endotoxin.

**Key words:** sepsis, renal transplant, selective adsorption, extracorporeal methods.

На сегодняшний день как в практической, так и в фундаментальной медицине остро стоит вопрос терапии состояний, характеризующихся развитием системного воспалительного синдрома и органических повреждений после трансплантации почки (ТП). Эти

состояния зачастую приводят к полиорганной недостаточности, смертность при которой приближается к абсолютной.

В последние десятилетия смертность от инфекций у реципиентов ренального трансплантата (РТ) не-

сколько снизилась, и отмечается тенденция к ее дальнейшему уменьшению. Улучшились результаты профилактики и лечения вирусных инфекций, однако бактериальные и грибковые сопровождаются стабильно высокой летальностью. Кроме того, по данным L. Linares и соавт. [13], проанализировавших результаты 1218 ТП, в 29% случаев причиной смерти у реципиентов РТ становились инфекции, причем в 35% был диагностирован сепсис, в 18% – бактериальная пневмония, в 4% – бактериальная инфекция брюшной полости. Роль бактериальной инфекции как причины летального исхода существенно не изменилась, вирусная регистрируется как причина смерти реже: в 7% случаев [13].

К развитию сепсиса после ТП предрасполагают многие факторы, основными из которых являются:

- широкое использование различных инвазивных процедур в посттрансплантационном периоде: катеризация центральных сосудов и мочевого пузыря, дренирование раны, применение мочеточниковых стентов и др.;

- действие специфических нарушений гомеостаза (уремия, анемия, белково-энергетическая недостаточность, метаболические нарушения), свойственных больным с терминальной стадией ХПН на дотрансплантационном этапе, что приводит к снижению репаративных способностей тканей, а также в значительной степени изменяет иммунный статус;

- постоянная (пожизненная) комплексная иммуносупрессивная терапия, которая создает условия для вторичного иммунодефицита за счет угнетения пролиферации Т- и В-лимфоцитов, продукции антител, что в ряде случаев может способствовать глубокому снижению противоинфекционного иммунитета.

Инфекционные осложнения отрицательно влияют на результаты трансплантаций. По мнению S. Becker и соавт., в ранние сроки послеоперационного периода наиболее частой причиной потери трансплантатов при ТП является инфекция мочевыводящих путей [7], при этом причиной сепсиса чаще всего служит грамотрицательная флора [19, 21]. Она служит одним из главных факторов, инициирующих системную воспалительную реакцию при развитии серьезных бактериальных инфекций. Основным начальным медиатором при грамотрицательном сепсисе является эндотоксин – облигатный липополисахарид бактериальной стенки грамотрицательных бактерий, один из самых сильных экзогенных пирогенов, открытый R. Pfeiffer в 1892 г. Структурно эндотоксин состоит из липида А, представленного цепями жирной кислоты и универсального для всех грамотрицательных бактерий полисахаридного ядра, к сердцевине которого прикреплена вариабельная углеводная цепочка – О-антиген, уникальная для каждой бактерии и определяющая ее серотип. Благодаря наличию гидрофобной части молекулы эндотоксин способен внедряться в двухслойную кле-

точную мембрану, способствуя ее реорганизации: изменению гидрофобности, поверхностного заряда и функциональной стабильности, нарушениям клеточного метаболизма и функций митохондрий, угнетению клеточного дыхания, ускорению окислительных процессов [8].

Биологическое действие эндотоксина реализуется через комплекс реакций, в которые вовлечены специфические молекулы. Важной структурой, обеспечивающей первый этап в процессе нативного моноцитарного иммунного ответа, является липополисахаридсвязывающий белок (LBP) массой около 58 кДа. Он продуцируется гепатоцитами и энтероцитами, обладает участками высокоафинного связывания с липополисахаридом и мембранным CD14 (mCD14). Он способен активировать CD14-негативные клетки путем связывания эндотоксина с растворимым CD14 (sCD14), который также является белком острой фазы воспаления. LBP обнаруживается и в крови здоровых людей, однако при воспалении его концентрация возрастает в десятки раз, в связи с чем его относят к белкам острой фазы воспаления.

Огромное значение в развитии сепсиса имеют Toll-подобные рецепторы (TLR), экспрессируемые моноцитами, дендритными и тучными клетками, В-лимфоцитами, гепатоцитами. Этот механизм опосредован прямым взаимодействием с TLR – основным сигнальным путем при связывании клеток организма-хозяина и эндотоксина. Toll-подобные рецепторы относят к нативному иммунитету. Данный класс клеточных рецепторов, распознавая консервативные структуры микроорганизмов (патоген-ассоциированные молекулярные паттерны), активирует клеточный иммунный ответ. Активация TLR происходит при связывании специфических лигандов, которыми для них являются определенные структуры бактерий, вирусов и грибов. После связывания лиганда разрывается комплекс со специфическим ингибитором Tollip (Toll interacting protein), происходит активация и связывание TIR-домена рецептора (Toll-interleukin-1 receptor) с различными комбинациями пяти доменосодержащих адаптерных белков: MyD88, TIRAP, TRIF (TICAM), TRAM и SARM. Причем каждый рецептор имеет свой набор адаптерных белков, при взаимодействии с которыми активируются определенные сигнальные пути и опосредуется соответствующий транскрипторный ответ клетки. Адаптерные белки, связываясь со специфическими ферментами-киназами (IRAK1, IRAK4, IKKs и др.), инициируют транскрипционную реакцию: происходит фосфорилирование неактивного комплекса ингибиторного белка I $\kappa$ B и NF- $\kappa$ B и его распад с высвобождением активного транскрипционного фактора NF- $\kappa$ B, транслокация его в ядро. Это, в свою очередь, приводит к экспрессии генов различных медиаторов и индукции системного воспалительного иммунного

ответа на эндотоксин. Специфичными для TLR2 являются различные структурные компоненты грамположительных бактерий: липотейхоевая кислота, липопротеины, пептидогликан бактериальной стенки и др. Специфичным лигандом для TLR4 служит эндотоксин (для активации этого рецептора необходимо наличие компонентов рецепторного комплекса: CD14 и LBP, а также лимфоцитарного антигена-96 – MD-2). Взаимодействуя с трансмембранным рецептором – TLR4-MD-2 – комплекс эндотоксин-LBP-CD14 специфическим образом активирует мононуклеарные фагоциты, что сопровождается выделением цитокинов: ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-12, ИЛ-23, ИЛ-27, ФНО $\alpha$ . Понимание механизмов регулирования активации TLR может определить новые подходы к лечению сепсиса. Однако на сегодняшний момент эти работы далеки от внедрения в широкую клиническую практику [22].

Эндотоксин является фактором, необходимым для нормального развития иммунной системы и облигатным фактором адаптационного синдрома. Известно, что объем поступления эндотоксина в системный кровоток регулируется симпатoadреналовой системой. При нормальном гомеостазе существует четкий баланс между выработкой этого вещества облигатными бактериями кишечника и действием систем, инактивирующих его. Тем не менее большое количество эндотоксина, высвобождающегося при лизисе бактериальной стенки, приводит к быстрому истощению физиологических эндотоксинсвязывающих систем. При проникновении в жидкие среды организма эндотоксин, обладающий чрезвычайно высокой биологической активностью, приводит к различным патофизиологическим эффектам, которые заключаются в активации множества биологических систем: коагуляции, комплемента и клеток крови (моноцитов, макрофагов, нейтрофилов, эозинофилов и эндотелиоцитов). При этом развивается комплекс адаптационных реакций, выражающийся в активации как клеточного, так и гуморального иммунитета. Выделение множества медиаторов клинически проявляется тяжелой системной воспалительной реакцией с дальнейшим формированием полиорганной недостаточности. Целенаправленное изучение биологического действия и метаболизма эндотоксина способствовало появлению новых подходов к терапии сепсиса [1, 2, 3, 4].

До сих пор не существует метода, который позволил бы коренным образом изменить показатели выживаемости при сепсисе. Результаты исследований свидетельствуют о том, что необходимо воздействовать на разные звенья патогенеза. Фильтрационные и комбинированные методы экстракорпоральной детоксикации позволяют устранять из организма медиаторы воспаления, токсические субстанции, продукты тканевого метаболизма, предотвращая прогрессирование сепсиса и формирование полиорганной недо-

статочности. Однако при использовании указанных методов вместе с воспалительными медиаторами удаляются и противовоспалительные, с вредными субстанциями – и полезные: витамины, гормоны, лекарственные препараты. В связи с этим применение неселективных методов афереза у реципиентов РТ сопряжено со сложностью поддержания терапевтической концентрации компонентов иммуносупрессии в крови, что крайне актуально на всех этапах послеоперационного периода. Современная высокоселективная сорбция оказывает избирательное действие только на конкретные субстанции – основные медиаторы системного воспалительного ответа при сепсисе, что может повысить выживаемость больных.

На сегодняшний день существуют сорбенты, предназначенные для селективного удаления эндотоксина, – Toraymucin и LPS Adsorber, обладающие всеми необходимыми свойствами для проведения эффективного и безопасного лечения сепсиса: высокие адсорбционные способность и темп сорбции, структурная стабильность, совместимость с кровью (отсутствие механического и химического повреждения крови). В одном из проведенных за последние годы исследований EUPHAS, посвященном эффективности раннего применения селективной адсорбции эндотоксина (САЭ) при абдоминальном сепсисе, установлено, что после этой процедуры увеличивались средние показатели гемодинамики и снижалась потребность в вазопрессорной поддержке. Общая динамика состояния пациентов была положительной, о чем свидетельствовало количество баллов по шкале SOFA. В группе сравнения, где методика не применялась, показатели были статистически значимо хуже. Летальность на 28-е сутки составила 32% при применении САЭ и 53% в группе сравнения [5]. Результаты других исследований подтверждают высокую эффективность селективного экстракорпорального метода гемокоррекции [9, 14, 20].

Эти и многие другие работы свидетельствуют о том, что эффективность САЭ детально изучается. Это обусловлено, во-первых, значительной стоимостью сорбционных колонок, а во-вторых, некоторой противоречивостью полученных результатов. По данным более 25 исследований, в которых приняли участие более 1400 пациентов с сепсисом различной этиологии, авторы на фоне снижения концентрации эндотоксина наблюдали статистически достоверное улучшение показателей артериального давления, тенденцию к снижению потребности в вазопрессорах и увеличение PaO $_2$ /FiO $_2$ . Отмечено снижение различных системных противовоспалительных медиаторов после проведения селективной адсорбции [10, 11]. К сожалению, современные публикации как отечественных, так и зарубежных авторов, посвященные изучению эффективности и особенностей клинического применения САЭ у больных после ТП, практически отсутствуют.

Необходимо отметить, что рецидивирующие тяжелые инфекции после ТП, в свою очередь, существенно влияют на развитие хронической трансплантационной нефропатии, которая характеризуется прогрессирующим фиброзом почечной ткани с неизбежной постепенной потерей функции РТ [16]. В основе почечного повреждения лежит комплекс неспецифических патологических процессов эндогенной и экзогенной природы. Данное нарушение функции трансплантата можно рассматривать как частный случай септической нефропатии. Известно, что у реципиентов РТ кроме представленных механизмов имеется и специфический фактор – обострение иммунологического конфликта между трансплантированным органом и организмом хозяина. Существует гипотеза, что помимо потерь трансплантатов в связи с необходимостью отмены иммуносупрессии при развитии тяжелых инфекций и неконтролируемом течении сепсиса, часть трансплантатов удаляются по причине стойкой утраты функции вследствие активного хронического отторжения, которое может быть спровоцировано длительно персистирующей или острой инфекцией. Это способствует прогрессированию хронической трансплантационной нефропатии и значительно ухудшает долгосрочный прогноз выживаемости трансплантата.

Проведенные исследования показали, что инфекции различной локализации способны значительно ухудшать функцию РТ в долгосрочной перспективе [18, 23, 24] или непосредственно при развитии инфекционного процесса [17, 24], инициировать острое отторжение [6] и повышать активность хронического [15], ухудшать долгосрочный прогноз выживаемости РТ и реципиентов [12]. Этот факт открывает перед медицинским и научным сообществом огромное поле для исследований в данной области. Вполне вероятно, что использование САЭ у реципиентов РТ станет одним из новых прогрессивных способов терапии, позволяющих не только снизить летальность при развитии тяжелого бактериального гнойно-септического осложнения, но и улучшить нарушенную на этом фоне функцию РТ.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Аниховская И.А., Опарина О.Н., Яковлева М.М., Яковлев М.Ю. Кишечный эндотоксин как универсальный фактор адаптации и патогенеза общего адаптационного синдрома // Физиол. чел. 2006. №2. С.87-91.
2. Яковлев М.Ю. Кишечный липополисахарид: системная эндотоксинемия – эндотоксиновая агрессия – SIRS-синдром и полиорганная недостаточность как звенья одной цепи // Бюлл. ВНЦ РАМН. 2005. №1. С.15-18.
3. Яковлев М.Ю. Кишечный эндотоксин – SIRS – полиорганная недостаточность // Труды РОП. 2006. Т.1. С.437-440.
4. Яковлев М.Ю. Элементы эндотоксиновой теории физиологии и патологии человека // Физиол. чел. 2003. №4. С.154-164.
5. Antonelli M., Fumagalli R., Cruz D.N. et al. PMX endotoxin removal in the clinical practice: results from the EUPHAS trial // Contrib. Nephrol. 2010. No.167. P.83-90.
6. Audard V., Amor M., Desvaux D. et al. Acute graft pyelonephritis: a potential cause of acute rejection in renal transplant // Transplantation. 2005. V.80, No.8. P.1128-1130.
7. Becker S., Witzke O., Rübber H., Kribben A. Urinary tract infections after kidney transplantation: Essen algorithm for calculated antibiotic treatment // Urologe A. 2011. V.50, No.1. P.53-56.
8. Cardoso P.G., Macedo G.C., Azevedo V., Oliveira S.C. Brucella spp. noncanonical LPS: structure, biosynthesis, and interaction with host immune system // Microb. Cell Fact. 2006. V.5. P.13.
9. Cavillon J.M. Polymyxin B for endotoxin removal in sepsis // Lancet Infect. Dis. 2011. V.11, No.6. P.426-427.
10. Cruz D.N., Bellomo R., Ronco C. Clinical effects of polymyxin B-immobilized fiber column in septic patients // Contrib. Nephrol. 2007. No.156. P.444-451.
11. Cruz D.N., Perazella M.A., Bellomo R. et al. Effectiveness of polymyxin B-immobilized fiber column in sepsis: a systematic review // Crit. Care. 2007. V.11, No.2. R47.
12. Kamath N.S., John G.T., Neelakantan N. et al. Acute graft pyelonephritis following renal transplantation // Transpl. Infect. Dis. 2006. V.8, No.3. P.140-147.
13. Linares L., Cofán F., Cervera C. et al. Infection-related mortality in a large cohort of renal transplant recipients // Transplant. Proc. 2007. V.39, No.7. P.2225-2227.
14. Martin E.L., Cruz D.N., Monti G. et al. Endotoxin removal: how far from the evidence? The EUPHAS 2 Project // Contrib. Nephrol. 2010. No.167. P.119-125.
15. Müller V., Becker G., Delfs M. et al. Do urinary tract infections trigger chronic kidney transplant rejection in man? // J. Urol. 1998. V.159, No.6. P.1826-1829.
16. Nankivell B.J., Chapman J.R. Chronic allograft nephropathy: current concepts and future directions // Transplantation. 2006. V.81, No.5. P.643-654.
17. Oguz Y., Doganci L., Bulucu F. et al. Acute pyelonephritis causing acute renal allograft dysfunction // Int. Urol. Nephrol. 2002. V.34, No.3. P.299-301.
18. Pellé G., Vimont S., Levy P.P. et al. Acute pyelonephritis represents a risk factor impairing long-term kidney graft function // Am. J. Transplant. 2007. V.7, No.4. P.899-907.
19. Pourmand G., Salem S., Mehra A. et al. Infectious complications after kidney transplantation: a single-center experience // Transpl. Infect. Dis. 2007. V.9, No.4. P.302-309.
20. Sato K., Maekawa H., Sakurada M. et al. Direct hemoperfusion with polymyxin B immobilized fiber for abdominal sepsis in Europe // Surg. Today. 2011. V.41, No.6. P.754-760.
21. Valera B., Gentil M.A., Cabello V. et al. Epidemiology of urinary infections in renal transplant recipients // Transplant. Proc. 2006. V.38, No.8. P.2414-2415.
22. Villar J., Maca-Meyer N., Pérez-Méndez L., Flores C. Benchto-bedside review: understanding genetic predisposition to sepsis // Crit. Care. 2004. V.8, No.3. P.180-189.
23. Witzke O., Schmidt C., Kohnle M. et al. Impact of febrile infections on the long-term function of kidney allografts // J. Urol. 2001. V.166, No.6. P.2048-2052.
24. Zukowski M., Kotfis K., Biernawska J. et al. Graft infection in kidney recipients and its relation to transplanted kidney function // Transplant. Proc. 2011. V.43, No.8. P.2997-2999.