

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА ЛИПОПОЛИСАХАРИДНОЙ АДСОРБЦИИ В КОМПЛЕКСЕ ИНТЕНСИВНОЙ ТЕРАПИИ У ПАЦИЕНТОВ С ТЯЖЕЛЫМ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫМ СЕПСИСОМ

Кулабухов В.В., Чижов А.Г., Кудрявцев А.Н.,
 Клеузович А.А., Корешков К.А.

Национальный медико-хирургический центр им. Н.И. Пирогова

УДК: 616.94-085

Резюме

Проведена оценка клинической и лабораторной эффективности липополисахаридной адсорбции (Алтеко-ЛПС) в комплексе интенсивной терапии тяжелого грамотрицательного сепсиса у 16 больных. Установлено, что в процессе Алтеко-ЛПС отмечается достоверное снижение в крови концентрации эндотоксина (65–70%), провоспалительных цитокинов. Также отмечены положительные клинические эффекты: стабилизация системной гемодинамики, улучшение оксигенирующей функции легких.

Ключевые слова: грамотрицательный сепсис, липополисахарид, ЛПС адсорбция.

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА ЛИПОПОЛИСАХАРИДНОЙ АДСОРБЦИИ В КОМПЛЕКСЕ ИНТЕНСИВНОЙ ТЕРАПИИ У ПАЦИЕНТОВ С ТЯЖЕЛЫМ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫМ СЕПСИСОМ

Кулабухов В.В., Чижов А.Г., Кудрявцев А.Н.,
 Клеузович А.А., Корешков К.А.

Проведена оценка клинической и лабораторной эффективности липополисахаридной адсорбции (Алтеко-ЛПС) в комплексе интенсивной терапии тяжелого грамотрицательного сепсиса у 16 больных. Установлено, что в процессе Алтеко-ЛПС отмечается достоверное снижение в крови концентрации эндотоксина (65–70%), провоспалительных цитокинов. Также отмечены положительные клинические эффекты: стабилизация системной гемодинамики, улучшение оксигенирующей функции легких.

Ключевые слова: грамотрицательный сепсис, липополисахарид, ЛПС адсорбция.

Актуальность

В настоящее время сепсис, несмотря на многолетние интенсивные исследования, направленные на оптимизацию патогенетической терапии, остаётся одной из главных причин смерти в отделениях реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) [14]. В США и в странах Европы ежегодно более чем у 750 000 пациентов развивается сепсис и количество подтверждённых случаев не снижается [17]. Согласно последним исследованиям, таким, как EPISEPSIS (2004); SOAP (2006 год); «Finnsepsis study», многоцентровое Национальное исследование в Германии (2007) число случаев сепсиса растёт, а летальность достигает 55,2% [5, 7, 8].

Тенденция к увеличению числа больных с тяжёлым сепсисом происходит в результате развития и широкого применения инвазивных медицинских технологий, расширения объема оперативных вмешательств, бесконтрольного применения антибиотиков широкого спектра, увеличения количества микробов, устойчивых к антибиотикам и антисептикам.

В отличие от характеристик, представленных экспертами многоцентрового европейского исследования EPIC I в 1992 г., спектр возбудителей сепсиса в последние годы изменился. Полирезистентные штаммы грамотрицательных факультативных анаэробов по-прежнему представляют серьезнейшую проблему [1]. Наравне с такими «классическими» возбудителями нозокомиальных инфекций, как *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*,

Klebsiella spp., отмечается возрастание этиологической роли микроорганизмов, ранее часто упоминаемых как «оппортунистическая» микрофлора – *Stenotrophomonas maltophilia*, *Acinetobacter spp.*, *Enterobacter spp.*, *Serratia spp.* и др. [2].

Имеется значительная разница в реакции организма на грамотрицательные и грамположительные бактерии. Главным патогенным фактором грамотрицательных бактерий является LPS, грамположительные бактерии содержат ряд иммуногенных компонентов клеточной стенки, которые относятся к экзотоксинам [12, 18]. Иммунологическая реакция организма на грамотрицательные бактерии проявляется в лейкоцитозе и продукции цитокинов: фактор некроза опухоли (TNF-α), интерлейкин-1 (IL-1), интерлейкин-6 (IL-6). Высвобождая экзотоксины, грамположительные бактерии приводят к различным клеточным реакциям и выбросу цитокинов, с относительно низким уровнем TNF-α, IL-1, IL-6 и повышенным уровнем IL-8 [12, 18].

Таким образом, ответ организма на грамотрицательную флору чрезмерно выражен, что приводит к дисбалансу про- и противовоспалительной реакций и чаще вызывает септический шок и полиорганную недостаточность, ДВС – синдром, РДСВ, чем грамположительная флора. Вследствие этого летальность при грамотрицательных инфекциях более чем в два раза выше.

Токсические эффекты грамотрицательных бактерий обусловлены их структурным компонентом- термоста-

бильным липополисахаридом (LPS), называемым эндотоксин [4]. LPS является одним из основных составляющих элементов наружной мембраны грамотрицательных бактерий и единственным липидом в составе наружной оболочки; одна лишь бактерия *E. Coli* содержит примерно $3,5 \times 10^6$ молекул липополисахарида [15]. LPS молекула не токсична, когда включена в наружную бактериальную мембрану бактерии, однако после освобождения из мембраны токсин взаимодействует с иммунными клетками и вызывает воспалительную реакцию. LPS являются исключительно активными пирогенами. Для развития лихорадочного приступа достаточно присутствия бактериальных эндотоксинов в инфузионном растворе в концентрации 1 нг/мл (около 10 ЕА/мл). Другие пирогены менее активны, и для развития пирогенного ответа их концентрация должна быть в 100–1000 раз больше. LPS и другие составляющие клеточной стенки высвобождаются из бактерий, когда они размножаются и погибают [15]. Различные эндогенные факторы, такие как система комплемента и бактерицидные белки, могут вызывать распад бактерий, тем самым высвобождая LPS. Некоторые антибиотики, разрушая грамотрицательные бактерии, освобождают LPS [6].

Основной причиной смерти при грамотрицательном сепсисе является эндотоксиновый шок. Эндотоксины оказывают глобальное воздействие на организм, как на гуморальном, так и на клеточном уровнях. LPS активизирует каскад комплемента и модулируют различные пути системы коагуляции, вызывая повреждение эндотелия сосудов, ДВС- синдром. Вместе с тем, LPS стимулируют миелоидные клетки к синтезу и секреции биологически активных молекул, под действием которых происходит активация лимфоцитов, тучные клетки и базофилы продуцируют факторы хемотаксиса, тромбоциты секретируют факторы роста и коагуляции, макрофаги, моноциты, эндотелиальные клетки секретируют растворимые медиаторы (ФНО- α , ИЛ-1, ИЛ-6, оксид азота, метаболиты арахидоновой кислоты, интерферон- γ и другие). Свободные цитокины активизируют клетки различных тканей и органов, приводя к некрозу, и индуцируют апоптоз.

Большинство методов, направленных на фармакологическую блокаду специфических провоспалительных медиаторов, на практике оказались безуспешными. Клинические исследования, направленные на анализ снижения смертности пациентов от грамотрицательного сепсиса в зависимости от применяемой терапии, показали практически отсутствие прогресса в лечении этого заболевания.

Тяжелый сепсис, сопровождающийся развитием полиорганной недостаточности, возникает вследствие генерализованного воспалительного ответа организма, в частности на эндотоксин. Таким образом, в настоящее время эндотоксины рассматриваются как главный фактор, участвующий в патологических проявлениях и последствиях грамотрицательного бактериального сепсиса.

Широко используются эфферентные методы элиминации эндотоксинов. Высокообъемная продленная

вено- венозная гемо- и гемодиализация позволяет улучшить результаты лечения пациентов с сепсисом [16]. Вместе с тем, существуют ограничения в скорости и качестве удаления LPS, обусловленные физико-химической основой фильтрационных и конвекционных методов [3].

В последние годы появился чрезвычайно перспективный метод- селективная адсорбция LPS [9, 13].

Более 20 лет назад было выявлено специфическое взаимодействие токсичного антибиотика Полимиксина В с LPS. В Японии с 1994 года успешно применяются колонки для адсорбции эндотоксина при гемоперфузии, состоящие из иммобилизованных волокон полимиксина. Несколько лет назад была разработана новая технология удаления LPS при помощи специально синтезированного полипептида, обладающего мощным селективным сорбционным потенциалом к LPS [19].

В Клинике гнойно-септической хирургии НМХЦ им. Пирогова Н.И. в программе интенсивной терапии тяжелого сепсиса, вызванного грамотрицательной микрофлорой применяется LPS- адсорбция при помощи колонок ALTECO LPS Adsorber (рис. 1) (Alteco Medical AB, Lund, Sweden) [10, 11].

Цель исследования состояла в клинической и лабораторной оценке эффективности LPS-адсорбера ALTECO в комбинированном лечении больных с тяжелым грамотрицательным сепсисом.



Рис. 1. Сорбционная колонка в аппарате экстракорпоральной детоксикации

Материалы и методы

В исследование включено 16 пациентов (6 женщин и 10 мужчин в возрасте от 38 до 86 лет), из которых у 10-и выявлен абдоминальный сепсис, у 1-го сепсис развился после кардиохирургической операции с ЭКК, у 2-х катетер-ассоциированный сепсис, у 3-х сепсис, связанный с инфекцией мягких тканей.

Все пациенты имели признаки системной воспалительной реакции, грамотрицательная инфекция подтверждена клиническими и лабораторными исследованиями. Выявленная микрофлора представлена *K. pneumoniae* и *Ps. aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Enterococcus faecalis*, обнаруженными в крови. Средний балл APACHE II был $22,3 \pm 4,5$.

Критерии включения:

- Клинические признаки тяжелого сепсиса.
- Грамотрицательная бактериальная инфекция (бактериологический анализ).
- Лабораторные признаки тяжелого сепсиса (лейкоцитоз более $12 \times 10^9/\text{л}$, нейтрофильный сдвиг более 10%, прокальцитонин тест более 2,0 нг/мл).

Всем пациентам проводилась продлённая ИВЛ (продолжительностью $14,3 \pm 6,9$ дней), массивная инфузионная, кардиотропная терапия, целенаправленная антибактериальная терапия по результатам микробиологического исследования.

Процедура LPS- адсорбции проводилась по методике, описанной ниже:

- подключение адсорбера- катетер ARROW 12 Fr, доступ- бедренная вена;
- заполнение – 0,9 % раствор NaCl;
- режим антикоагуляции- гепарин 800–1000 ед/час.;
- скорость кровотока 200 ± 50 мл/мин.;
- длительность процедуры 120 мин.;
- кратность – 2 процедуры через 24 часа.

Контроль состояния: центральная гемодинамика, КЩС, газы крови, лактат, Hb, Ht, SatO_2 артериальной и венозной крови. Биохимические показатели: креатинин, мочевины, АСТ, АЛТ, билирубин, глюкоза, общий белок, альбумин. Коагулологические показатели: АЧТВ, АТ III, МНО, Фибриноген. Концентрация эндотоксина (LAL тест «Cambrex», USA). Концентрация TNF α , IL-1 β , IL-6 (IFA «Quantikine», R&D Systems» USA). Концентрация PCT (LUMItest PCT, BRAHMS Diagnostica GmbH, Germany)

Этапы исследования:

1. 5 мин. до начала процедуры;
2. 5 мин. после окончания 1-й процедуры;
3. 6 час. после окончания 1-й процедуры;
4. 24 час. после окончания 1-й процедуры (начало 2-й процедуры);
5. 5 мин. после окончания 2-й процедуры.

Исходное состояние и результаты исследования представлены в таблице 1.

Результаты

У всех пациентов во время проведения процедуры не отмечалось никаких нежелательных явлений. Выявлено повышение сердечного индекса (СИ л/мин·м²), среднего артериального давления (МАР, mmHg), а также снижение потребности в поддержке инотропными препаратами (таблица 1). Показатели оксигенирующей функции лёгких улучшились. Концентрация TNF- α , IL- β и IL-6 снизилась в течение периода лечения. Несмотря на то, что число наблюдений невелико, снижение TNF- α и IL-6 достоверно значимо ($P < 0,001$). Аналогичным образом снижалась концентрация PCT значимым ($p < 0,01$). Концентрация LPS в процессе проведения терапии снизилась более чем в три раза (табл. 1). Все пациенты были переведены из отделения реанимации. Никакие другие методы экстракорпоральной детоксикации не применялись.

Табл. 1. Динамика показателей лабораторных и инструментальных методов исследования эффективности проведения LPS-адсорбции

Показатели	Этапы				
	1	2	3	4	5
LPS (ед/мл)	$1,4 \pm 0,00$	$0,5 \pm 0,18$	$0,8 \pm 0,40$	$0,9 \pm 0,27$	$0,4 \pm 0,18$
PCT (нг/мл)	$14,2 \pm 3,08$	$10,0 \pm 1,76$	$9,5 \pm 1,64$	$9,3 \pm 0,70$	$6,1 \pm 1,98$
TNF α (пг/мл)	$85,9 \pm 3,23$	$76,2 \pm 13,93$	$56,3 \pm 5,33$	$67,4 \pm 6,60$	$33,4 \pm 4,10$
IL-1 β (пг/мл)	$106,4 \pm 6,30$	$72,2 \pm 13,70$	$69,1 \pm 1,87$	$72,3 \pm 6,23$	$41,0 \pm 4,10$
IL-6 (пг/мл)	$121,8 \pm 10,21$	$89,2 \pm 9,84$	$90,1 \pm 10,58$	$99,3 \pm 11,31$	$58,2 \pm 11,90$
CI (л/мин·м ²)	$3,0 \pm 0,34$	$2,8 \pm 0,05$	$3,1 \pm 0,31$	$3,5 \pm 0,45$	$3,6 \pm 0,58$
АД ср (мм рт. ст.)	$61,0 \pm 6,50$	$70,8 \pm 3,25$	$74,7 \pm 1,78$	$78,0 \pm 4,00$	$78,5 \pm 3,25$
pO ₂ арт. (мм рт. ст.)	$88,1 \pm 5,13$	$96,1 \pm 4,08$	$98,1 \pm 1,11$	$106,6 \pm 8,63$	$124,3 \pm 4,30$
FiO ₂ (%)	$47,5 \pm 2,50$	$46,3 \pm 1,88$	$41,7 \pm 2,22$	$41,3 \pm 1,88$	$36,3 \pm 1,88$
pO ₂ /FiO ₂	$186,0 \pm 16,00$	$195,5 \pm 23,75$	$236,0 \pm 12,67$	$260,0 \pm 28,50$	$344,3 \pm 23,25$
Допмин (мкг/кг/мин.)	$10,3 \pm 1,88$	$9,2 \pm 2,68$	$7,0 \pm 1,33$	$6,3 \pm 1,38$	$2,5 \pm 1,26$
SatO ₂ арт. (%)	$88,3 \pm 2,40$	$92,5 \pm 1,08$	$94,6 \pm 1,33$	$95,6 \pm 1,13$	$98,0 \pm 0,12$
SatO ₂ вен. (%)	$79,6 \pm 1,43$	$76,0 \pm 1,20$	$76,8 \pm 0,51$	$73,4 \pm 2,15$	$70,3 \pm 1,02$
Лактат (моль/л)	$4,4 \pm 0,80$	$4,4 \pm 1,05$	$4,7 \pm 0,84$	$3,4 \pm 0,45$	$1,8 \pm 0,30$
АЧТВ (с)	$41,5 \pm 10,50$	$60,5 \pm 9,50$	$62,0 \pm 4,67$	$59,5 \pm 3,75$	$65,0 \pm 8,00$

Заключение

С помощью метода LPS-адсорбции можно удалять из кровотока значительные объемы эндотоксина и, как следствие, снижать концентрацию противовоспалительных цитокинов. Выявлено, что LPS-адсорбция приводит к значительному снижению концентрации эндотоксина, TNF- α , IL- β , IL-6. Использование LPS-адсорбции у больных с тяжелым сепсисом приводит к стабилизации системной гемодинамики и улучшению оксигенирующей функции лёгких. Благоприятные исходы течения тяжёлого сепсиса у описанной группы пациентов частично связаны с удалением эндотоксина из системного кровотока. Безусловно, методика должна применяться при лечении грамотрицательного тяжёлого сепсиса. Вместе с тем, требуется большее количество клинических наблюдений для уточнения показаний, времени начала процедуры и влияния её на выживаемость пациентов.

Литература

1. Руднов, В.А. Современное клиническое значение синегнойной инфекции и возможности ее терапии у пациентов отделений реанимации / В.А.Руднов // Инфекции и антимикробная терапия. – 2002. – №6. – С. 170–177.
2. Страчунский, Л.С. Рекомендации по оптимизации антимикробной терапии нозокомиальных инфекций, вызванных грамотрицательными бактериями в отделениях реанимации и интенсивной терапии: пособие для врачей / Л.С.Страчунский, Г.К.Решедько, Е.Л.Рябкова // Клиническая микробиология антимикробная химиотерапия. – 2002. – №4. – С. 379–390.
3. Bellomo, R. Extracorporeal Blood Purification Therapy for Sepsis and Systemic Inflammation: Its Biological Rationale. Blood purification in ICU / R.Bellomo, [et al.] // Contrib. Nephrol. Basel. – 2001. – №132. – P. 367–374.
4. Bone, R. Sepsis: a new hypothesis for pathogenesis of the disease process / R.Bone, [et al.] // Chest. – 1997. – №112. – P. 235–243.
5. Brun-Buisson, C. EPISEPSIS: a reappraisal of the epidemiology and outcome of severe sepsis in French intensive care units / C.Brun-Buisson, P. Meshaka, P. Pinton [et al.] // Int. Care Med. – 2004. – №30. – P. 580–588.
6. Crosby, H. Antibiotic-induced release of endotoxin from bacteria in vitro / J.Bion, C.Penn, and T.Elliott // J. Med. Microbiol. – 1994. – №40. – P.23–30.
7. Engel, Chr. Epidemiology of sepsis in Germany: results from a national prospective multicenter study. / Chr.Engel, F.Brunckhorst, H.Bone, [et al.] // Intensive Care Med. – 2007. – №33. – P. 606–618.
8. Karlsson, S. Incidence, treatment, and outcome of severe sepsis in ICU-treated adults in Finland: the Finnsepsis study / S.Karlsson, M.Varpula, E.Ruokonen, V.Pettild, I.Parviainen, T.Ala-Kokko, E.Kolho, E.Rintala // Intensive Care Med. – 2007. – №33. – P. 435–443.
9. Kellum, J. Hemoadsorption removes tumor necrosis factor, interleukin-6, and interleukin-10, reduces nuclear factor- κ B DNA binding, and improves short-term survival in lethal endotoxemia / J.Kellum, [et al.] // Crit. Care. Med. – 2004. – Vol. 32, №3. – P. 801–805.
10. Kulabukhov V. Use of an endotoxin adsorber in the treatment of severe abdominal sepsis / V.Kulabukhov // Acta Anaesthesiol. Scand. – 2008. – №52. – P.1024–1025.
11. Kulabukhov, V. The use of a novel technique for adsorption of lipopolysaccharide in combined therapy of patients with severe gram negative sepsis / V.Kulabukhov, A.Chizhov // 28th International Symposium on Intensive Care and Emergency Medicine. – Grenada, Spain, 2008. – P78.
12. Opal, S. M. Clinical gram-positive sepsis: does it fundamentally differ from gram-negative bacterial sepsis? / S.Opal, J.Cohen. // Crit. Care Med. –1999. – №27. – P. 1608–1616.
13. Pierre, L. Новые медицинские технологии для снижения уровня LPS при экспериментальной эндотоксемии. V международная конференция / Blomqvist S, Ljunggren L, Steen S. // 5-я конференция «Актуальные аспекты экстракорпорального очищения крови в интенсивной терапии». – 2006. – С. 31–32.
14. Riedermann, N.C. Fluid resuscitation and immunomodulation in the critically ill / N.Riedermann, H.Murray, J.Kellum // Nat. Med. – 2003. – Vol. 9, №5. – P. 517–524.
15. Rietschel, E. Bacterial endotoxin: molecular relationships of structure to activity and function / E.Rietschel, T.Kirikae, F.Schade, U.Mamat, G. Schmidt, H.Loppnow, A.Ulmer, U.Zähringer, U.Seydel, F.Di Padova, M. Schreier, and H. Brade // FASEB J.

– 1994. – №8. – P. 217–225.

16. Ronco, C. Обоснование применения экстракорпоральных методов лечения при сепсисе «Анестезиология и реаниматология» / C. Ronco, R. Bellomo, Z. Ricci, M. Bonello, R. Ratanarat, G. Salvatori, V. Bordoni, E. Andrikos, A. Brendolan // Анестезиология и реаниматология. – 2005. – №2. – С. 87–91.
17. Siegel, J.P. Assessing the Use of Activated Protein C in the Treatment of Severe Sepsis // New Engl. J. Med. – 2002. – №347. – P. 1030–1034.
18. Sriskandan, S. Gram-positive sepsis. Mechanisms and differences from gram-negative sepsis. / S.Sriskandan, J.Cohen // Infect. Dis. Clin. North Am. –1999. – №13. – P. 397–412.
19. Yaroustovsky, M. Lipopolysaccharide adsorption in combined therapy of patients with severe sepsis / B.Gelfand, Z. Popok, M. Abramyan, E. Nazarova, I. Yakovleva, D. Popov, M. Plyushtch // Crit. Care. – 2008. – №12, (Suppl 2). – P. 178.

Контактная информация