

УДК 616.94-022.7:612.112]+085.246.2

## ВОЗМОЖНОСТИ ЭЛИМИНАЦИИ ЦИТОКИНОВ У БОЛЬНЫХ СЕПСИСОМ С ПОМОЩЬЮ ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНЫХ МЕТОДОВ ОЧИЩЕНИЯ КРОВИ

Р.Э. Якубцевич, к.м.н.; В.В. Спас, д.м.н., профессор;  
А.В. Максименко; Р.А. Анисим; Н.Е. Торяник; О.Н. Бородавко;  
Т.Э. Янулевич

УО «Гродненский государственный медицинский университет»  
УОЗ «Гродненская областная клиническая больница»

*Изучен уровень про- и противовоспалительных цитокинов у 57 пациента с сепсисом различной этиологии и тяжестью состояния по АРАСНЕ II 22,3±4,8 баллов, которым в комплекс интенсивной терапии включили мероприятия экстракорпорального очищения крови (гемосорбция через «Овосорб», гемокарбоперфузия через «Симплекс-Ф», плазмаферез или high-flux диализ). В результате установлено, что методы экстракорпорального очищения крови способны эффективно снижать избыток провоспалительных цитокинов, не уменьшая концентрацию противовоспалительных.*

**Ключевые слова:** сепсис, экстракорпоральное очищение крови, гемосорбция, плазмаферез, high-flux диализ.

*The pro- and anti-inflammatory cytokine level in 57 patients with sepsis of varied aetiology and severity (according to APACHE II 22,3±4.8 points) has been studied. Extracorporeal blood clearance (hemosorption through the "Ovosorb", hemocarbo-perfusion through the "Simplex-F", plasmapheresis or high-flux dialysis) were performed in the complex of intensive therapy. The results showed the capacity of extracorporeal blood clearance methods to reduce pro-inflammatory cytokine excess without reducing anti-inflammatory cytokine excess.*

**Key words:** sepsis, extracorporeal blood clearance, hemosorption, plasmapheresis, high-flux dialysis.

В общемедицинскую проблему сепсис превращают высокие показатели летальности пациентов. Сегодня это 30-50% всех случаев диагностированного сепсиса [20]. Подобная статистика характерна для всех развитых стран Европы и Северной Америки, где при лечении септических пациентов в отделениях интенсивной терапии широко используются самые современные методы лечения. Еще более высокие (50-90%) цифры летальности констатируются при тяжелом сепсисе и септическом шоке [8, 17]. На высокий уровень смертности у этой категории больных мало влияют достижения антибактериальной и иммунозаместительной терапии. Изучение сепсиса в эксперименте и клинике выявило высокий выброс цитокинов в кровь, причем как воспалительных, так и противовоспалительных [5, 14, 19]. Однако до сих пор не доказано, является ли выброс цитокинов при сепсисе результатом повышенной их продукции или снижением их естественной элиминации.

Наиболее агрессивные медиаторы воспаления, пиковые концентрации которых появляются в крови септических больных, являются цитокины [18]. При системном воспалительном ответе в результате стадийной активации клеток (нейтрофилов, моноцитов/макрофагов, лимфоцитов, тромбоцитов, эндотелиоцитов), продуцирующих цитокины, формируется «цитокиновая сеть» с утратой защитной функции локального воспалительного ответа и нарастанием эффектов системной альтерации [3].

Одним из наиболее сильных индукторов синтеза цитокинов служат компоненты клеточных стенок бактерий: липополисахариды, пептидогликаны, мурамилдипептиды [8]. Через совсем короткий промежуток времени после активации цитокины попадают в циркуляцию и их действие проявляется на уровне организма. При этом они оказывают влияние практически на все органы и системы, участвующие в регуляции гомеостаза [2]. Их гиперпродукция может привести к развитию септического шока [1]. Причем основными индукторами вышеуказанных изменений являются провоспалительные цитокины (TNF, IL-1, IL-6, IL-8, хемокинов и других) [19]. TNF и интерлейкины вызывают активацию эндотелия, приводящую к увеличению проницаемости, повышению экспрессии адгезионных молекул и усилению прокоагулянтной активности [7].

Несостоятельность механизмов естественной детоксикации и выведения цитокинов в условиях гипоксии не позволяет надеяться на вероятность благоприятного исхода только за счет восстановления кровообращения, вентиляции, стимуляции функции печени и почек и антибиотикотерапии. В этой связи в последние годы вновь появился интерес к применению методов экстракорпорального очищения крови (ЭОК) при лечении тяжелого сепсиса, так как проводимые в мире рандомизированные исследования предоставили доказательства эффективности этих методик, что проявилось

уменьшением летальности септических больных в результате элиминации воспалительных медиаторов с помощью различных методов ЭОК [4, 6, 9, 10, 11, 12, 13, 15, 16].

Наш опыт применения методов ЭКД насчитывает около 25 лет. При этом, мы убеждены, что именно использование различных методик экстракорпоральной детоксикации позволяет нам удерживать летальность больных с сепсисом в пределах 20-25% все эти годы. Поэтому, учитывая одну из главенствующих ролей в патогенезе сепсиса и его осложнений цитокиновых медиаторов, нам представилось актуальным изучение воздействия методов экстракорпоральной детоксикации, применяемых в нашей клинике, на элиминацию цитокинов при различных видах сепсиса.

### Материалы и методы

Цитокиновый профиль исследован у 57 нами пролеченных пациентов с сепсисом различной этиологии (32 пациентов – с панкреатогенным сепсисом, 13 – с абдоминальным, 9 – с уросепсисом, 3 – с отогенным). Средний возраст больных составил 57,3 лет. Степень тяжести состояния больных по АРАСНЕ II составила от 18 до 25 баллов (в среднем  $22,3 \pm 4,8$ ). Все больные получали традиционное лечение: антибиотики, инфузионная терапия, парентеральная и иммунокорригирующая терапия, респираторная и инотропная поддержка (при необходимости). Всем пациентам в лечение включили процедуры экстракорпорального очищения крови (гемосорбция через «Овосорб» гемокарбоперфузия через «Симплекс-Ф», плазмаферез, или high-flux диализ).

Гемосорбцию проводили через антипротеиназный биоспецифический сорбент «Овосорб» (Беларусь) и угольный гемосорбент «Симплекс-Ф» (Россия) с помощью роликового насоса ВР-742 («Fresenius», Германия). Кровь проходила через колонку с сорбентом, после чего возвращалась в предварительно катетеризированную периферическую вену. Скорость перфузии крови по магистрали составляла 80-90 мл/мин. Процедура продолжалась 60 минут. Среднее число гемоперфузий через «Овосорб» составило 7, через «Симплекс-Ф» – 4. Плазмаферез проводили на аппарате «ASTEC» (Fresenius, Германия) по центрифужному типу. Среднее количество сеансов плазмафереза составило 3. Средний объем плазмоексфузии за одну процедуру составил 2700 мл (средний суммарный объем – 6200 мл). Замещение ОЦП во время процедуры осуществляли с помощью свежезаморо-

женной плазмы (60%), альбумина (20%) и коллоидно-кристаллоидных кровезаменителей (Ионотерил, Рефортан и другие) – 20%. Сеансы гемодиализа проводились на аппаратах Fresenius 4008В (Германия) с использованием полисульфоновых High-flux мембран (Fresenius, Германия). Сосудистый доступ осуществляли через двухходовой катетер. Средняя скорость кровотока составила 245 мл/мин, средняя продолжительность сеанса – 250 мин. Сеансы проводили каждый день или через день. Среднее число процедур гемодиализа составило 4.

Уровень цитокинов (TNF- $\alpha$ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10) исследовали методом ИФА на анализаторе «Dialab ELx 800®» (Austria) реактивами фирмы «DRG®» (USA).

Исследуемые параметры изучали в 5 этапов – до проведения процедур ЭКД, после 1 сеанса, после 2-го, после 3-го и в конце лечения. Контрольной группой послужили 10 здоровых доноров.

Статистическую обработку результатов осуществляли методами параметрической статистики с использованием пакета программ «Statistica 6.0 for Windows» (Stat Soft inc, USA). Характер распределения оценивали по тестам на нормальность Колмогорова-Смирнова, Шапиро-Уилка и Лилефорса. Результаты считали достоверными по t-критерию Стьюдента менее 5%.

### Результаты и их обсуждение

В результате исследования динамики цитокинов на фоне проведения процедур экстракорпорального очищения крови замечены значительные изменения как в элиминации про-, так и противовоспалительных цитокинов. Динамики изменения первых представлена в таблице 1.

Достоверное увеличение фактора некроза опухоли (TNF) было отмечено у больных в начале лечения. Известно, что главными индукторами синтеза этого цитокина считается бактериальный липополисахарид и другие компоненты микробов. TNF выполняет важнейшие функции запуска воспаления: активизирует эндотелий, способствует адгезии лейкоцитов к эндотелию за счет индукции экспрессии на эндотелиальных клетках адгезионных молекул, активизирует лейкоциты. Тенденция к снижению этого цитокина имела место уже после первого сеанса ЭОК, и достоверное снижение – после проведения 2 процедуры. Это, безусловно, уменьшило индукцию синтеза других провоспалительных цитокинов, обладающих синергидным с TNF действием. Достоверное снижение IL-6 так-

Таблица 1 – Динамика изменений провоспалительных цитокинов в крови больных с сепсисом на фоне проведения процедур экстракорпорального очищения крови ( $M \pm m$ )

| Показатель            | Доноры (n=10)   | До ЭОК (n=47)      | После 1 ЭОК (n=37) | После 2 ЭОК (n=27)             | После 3 ЭОК (n=28)             | В конце лечения (n=42)        |
|-----------------------|-----------------|--------------------|--------------------|--------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|
| TNF- $\alpha$ , пг/мл | 61,2 $\pm$ 3,7  | 375,1 $\pm$ 103,9* | 269,9 $\pm$ 91,6*  | 181,0 $\pm$ 81,1* <sup>+</sup> | 76,0 $\pm$ 29,0 <sup>+</sup>   | 89,0 $\pm$ 32,4 <sup>+</sup>  |
| IL-6, пг/мл           | 23,1 $\pm$ 4,2  | 461,9 $\pm$ 147,4* | 456,3 $\pm$ 117,7* | 243,0 $\pm$ 48,9* <sup>+</sup> | 160,0 $\pm$ 90,1* <sup>+</sup> | 52,3 $\pm$ 12,6* <sup>+</sup> |
| IL-8, пг/мл           | 69,3 $\pm$ 12,7 | 75,0 $\pm$ 37,4    | 97,6 $\pm$ 26,1    | 60,5 $\pm$ 27,3                | 58,3 $\pm$ 24,8                | 52,2 $\pm$ 25,1               |

\*-  $p < 0,05$  – достоверность изменений в сравнении с донорами; + -  $p < 0,05$  – достоверность изменений в сравнении с этапом «До ЭОК».

**Таблица 2** – Динамика изменений противовоспалительных цитокинов в крови больных с сепсисом на фоне проведения процедур экстракорпорального очищения крови ( $M \pm m$ )

| Показатель   | Доноры (n=10) | До ЭОК (n=53) | После 1 ЭОК (n=49)      | После 2 ЭОК (n=50) | После 3 ЭОК (n=32)      | В конце лечения (n=38)   |
|--------------|---------------|---------------|-------------------------|--------------------|-------------------------|--------------------------|
| IL-2, пг/мл  | 0,42±0,14     | 2,51±0,61*    | 1,43±0,39* <sup>+</sup> | 3,78±1,21*         | 2,60±1,66*              | 5,07±2,09*               |
| IL-4, пг/мл  | 4,8±2,7       | 16,0±7,08*    | 20,2±11,29*             | 36,33±21,46*       | 38,1±17,9*              | 50,08±22,3* <sup>+</sup> |
| IL-10, пг/мл | 81,3±22,1     | 16,2±6,8*     | 32,9±18,9*              | 34,3±16,2*         | 37,1±12,4* <sup>+</sup> | 40,5±21,5                |

\*-  $p < 0,05$  – достоверность изменений в сравнении с донорами; + -  $p < 0,05$  – достоверность изменений в сравнении с этапом «До ЭОК».

же имело место уже после двух процедур ЭОК и имело сходную динамику с TNF. IL-6 регулирует иммунный ответ и гемопоэз, а также процессы созревания антителопродуцирующих клеток и продукцию иммуноглобулинов. Учитывая его влияние на синтез многих острофазовых белков (фибриногена, гаптоглобина, СРБ и других), в результате элиминации из кровотока и тканей этого цитокина вдвое может снижаться их уровень и, соответственно, процесс воспаления в целом. Повышения IL-8 в крови пациентов на всех этапах исследования не происходило, возможно потому, что его основными продуцентами являются моноциты, уровень которых при сепсисе заметно снижен, а также быстрой элиминации через естественные органы детоксикации благодаря низкой молекулярной массе (8 кДа).

Динамика изменений противовоспалительных цитокинов изображена в таблице 2.

Недостаточная продукция IL-2 может формировать комбинированный структурно-функциональный T-лимфоцитарно-моноцитарный иммунодефицит. У обследованных нами пациентов уровень этого цитокина был достоверно выше, в сравнении с донорами на всех этапах исследования. Это могло объясняться и IL-2 заместительной терапией с помощью препарата Ронколейкин, вводимого для иммунокоррекции 65% больным. T-хелперной продукцией является и другой цитокин – IL-4, основной функцией которого является контроль пролиферации, дифференцировки и функций В-лимфоцитов, т.е. антительного ответа. IL-4 блокирует и спонтанную и индуцированную продукцию провоспалительных цитокинов: IL-1, IL-6, IL-8, TNF, а также супероксидных радикалов. Являясь исходно повышенным в 4 раза в сравнении с донорами, его уровень в процессе лечения с включением ЭОК достоверно повышается с каждым этапом. Уровень IL-10 в крови до лечения значительно снижен, и в процессе проведения процедур экстракорпоральной детоксикации отмечается тенденция к его увеличению (2,3 этап), а затем и достоверное его повышение (4,5 этап). Однако даже на последнем этапе его концентрация в сравнении с донорами была в 2 раза ниже.

### Заключение

Методы экстракорпорального очищения крови в комплексе интенсивной терапии сепсиса позволяют элиминировать из крови избыток воспалительных медиаторов, высокие концентрации кото-

рых прогностически неблагоприятны. В то же время снижения уровня противовоспалительных медиаторов в крови больных на фоне проведения ЭОК не происходит, а, напротив, имеет место увеличение их концентрации. Успешное лечение этой категории больных, безусловно, требует поиска рационального использования каждого из методов ЭОК с целью более эффективной элиминации избытка воспалительных и регуляции противовоспалительных цитокинов.

### Литература

1. Симбирцев, А.С. Цитокины – новая система регуляции защитных реакций организма. / А.С. Симбирцев // Цитокины и воспаление. – 2002. – № 1. – С. 18-24.
2. Симбирцев, А.С. Цитокины: классификация и биологические функции. / А.С. Симбирцев // Цитокины и воспаление. – 2004. – № 2. – С. 31-37.
3. Adrie, C. The Inflammatory Balance in Human Sepsis. / C. Adrie, M.R. Pinsky // Intens. Care Med. – 2000. – Vol. 26. – P. 364-375.
4. A Pilot Study of Coupled Plasma Filtration with Adsorption in Septic Shock. / C. Ronco [et al.] // Crit. Care Med. – 2002. – V. 30, N 5. – P. 1250-1255.
5. Blackwell, T.S. Sepsis and Cytokines: Current Status. / T.S. Blackwell, J.W. Christman // Brit. J. Anaesth. – 1996. – Vol. 77. – P. 110-117.
6. Conyinuuous Versus Intermittent Renal Replacement Therapy; a Meta-Analysis. / J.A. Kellum [et al.] // Intens. Care Med. – 2002. – Vol. 28. – P. 29-37.
7. Do Circulating Cytokines Really Matter in Sepsis? / C. Tetta [et al.] // Kidney Int. – 2003. – Vol. 63. – P. 69-71.
8. Hotchkiss, R.S. Medical Progress: the Pathophysiology and Treatment of Sepsis. / R.S. Hotchkiss, I.E. Karl // New Engl. J. Med. – 2003. – Vol. 348. – P. 138-150.
9. Extracorporeal Blood Treatment Methods in SIRS/Sepsis. / R. Bellomo [et al.] // Int. J. Artif. Organs. – 2005. – Vol. 28, N 5. – P. 450-458.
10. Kellum, J.A. Hemoadsorption Removes Tumor Necrosis Factor, IL-6 and IL-10, Reduces Nuclear Factor-kappa B DNA Binding, and Improves Short-Term Survival in Lethal Endotoxemia. / J.A. Kellum, M. Song, R. Venkataraman // Crit. Care Med. – 2004. – Vol. 32, N 3. – P. 801-805.
11. McMaster, P. The Use of Extracorporeal Techniques to Remove Humoral Factors in Sepsis. / P. McMaster, F. Shann // Pediatr. Crit. Care Med. – 2003. – Vol. 4, N 1. – P. 2-7.
12. Reeves, J.H. A Review of Plasma Exchange in Sepsis. / J.H. Reeves // Blood Purif. – 2002. – Vol. 20, N 3. – P. 282-288.
13. Rifai, K. Review Article: Clinical Experience with Prometheus. / K. Rifai, M.P. Manns // The Apher. Dial. – 2006. – Vol. 10, N 2. – P. 132-137.
14. Serum Cytokine Levels in Human Septic Shock. Relation to Multiple-System Organ Failure and Mortality. / M.R. Pinski [et al.] // Chest. – 1993. – Vol. 102. – P. 565-575.
15. Shoji, H. Extracorporeal Endotoxin Removal for the Treatment of Sepsis: Endotoxin Adsorption Cartridge (Toraymyxin). / H. Shoji // Ther. Apher. Dial. – 2003. – Vol. 7, N 1. – P. 108-114.
16. Stadlbauer, V. Effect of Extracorporeal Liver Support by MARS and Prometheus on Serum Cytokines in Acute or Chronic Liver Failure. / V. Stadlbauer, P. Krisper, R. Aigner // Crit. Care. – 2006. – Vol. 19, N 6. – P. 169.
17. Surviving Sepsis Campaign Guidelines for Management of Severe Sepsis and Septic Shock. / R.P. Dellinger [et al.] // Intens. Care Med. – 2004. – Vol. 30, N 4. – P. 536-555.
18. Thijs, L.G. Time Course of Cytokine Levels in Sepsis. / L.G. Thijs, C.E. Hack // Intens. Care Med. – 1995. – Vol. 21, N 2. – P. 258-263.
19. Van der Poll, T. Cytokines and Anticytokines in the Pathogenesis of Sepsis. / Van der Poll, T., S.J.H. van Deventer // Infect. Dis. Clin. North Am. – 1999. – Vol. 13. – P. 413-426.
20. Vincent, J.L. The Last 100 Years of Sepsis. / J.L. Vincent, E. Abraham // Am. J. of Respir. And Crit. Care Med. – 2006. – Vol. 173. – P. 256-263.

Поступила 12.06.08