

УДК 616.151-085.246.2:612.398.131:616.94-022.7

ИЗМЕНЕНИЕ ТРАНСПОРТНЫХ СВОЙСТВ АЛЬБУМИНА У БОЛЬНЫХ СЕПСИСОМ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ГЕМОСОРБЕНТА «ОВОСОРБ»**В.А. Предко, Р.Э. Якубцевич, В.В. Спас, И.И. Степура, И.А. Шапель, А.М. Гущин**

УО «Гродненский государственный медицинский университет»

УОЗ «Гродненская областная клиническая больница»

Сепсис и в XXI веке продолжает оставаться серьезной проблемой современной медицины. При развитии заболевания происходит изменение свойств альбумина. В этой статье описывается опыт применения гемосорбции с использованием гемосорбента «Овосорб» и его влияние на связывающую способность альбумина у пациентов с сепсисом. В результате при использовании гемосорбции через «Овосорб» улучшается связывающая способность альбумина и объективное состояние пациентов, а также уменьшается длительность пребывания пациентов в реанимационном отделении.

Ключевые слова: сепсис, альбумин, гемосорбция, связывающая способность.

In XXI sepsis century continues to be one of the most serious diseases in modern medicine. It is associated with changes in albumin qualities. In this article we describe the experience of hemoperfusion through "Ovosorb" sorbent and its influence on the binding ability of albumin in septic patients. The result is the improvement of albumin binding ability and objective state of the patients as well as the decrease of patients' treatment duration in ICU.

Key words: sepsis, albumin, hemoperfusion, binding ability.

Роль эндотоксина и развитие медиаторного неконтролируемого ответа с системным повреждением органов остается одним из важных патофизиологических механизмов сепсиса на сегодня [8]. Липополисахариды грамотрицательных микроорганизмов, цитокины, а также другие медиаторы воспаления оказывают влияние на функциональные свойства альбумина [9], который является одним из главных переносчиков токсинов.

В медицине понятие альбумин относят только к одному виду белков – сывороточному альбумину человека (САЧ). Патологическое изменение САЧ при сепсисе, как транспортного белка, возможно, обуславливает недостаток выведения токсинов, нарабатывающихся при неконтролируемом воспалительном процессе [17].

Альбумин является незаменимым элементом, участвующим в поддержании гомеостаза организма человека. Доказывает этот факт то, что он был обнаружен во всех тканях и жидкостях тела, и его концентрация относительно постоянна. САЧ в организме выполняет следующие функции: пластическую, поддержание онкотического давления плазмы, связывание низкомолекулярных веществ, свободных радикалов [2, 19], регуляцию гемостаза [7, 15]. Кроме того, имеются данные, что альбумин способен участвовать в регуляции апоптоза клеток, в основном ингибируя его [6, 14].

Углеводы, альдегиды взаимодействуют с альбумином необратимо [16, 18]. САЧ связывает обратимо и переносит низкомолекулярные вещества, такие как жирные кислоты, желчные пигменты, окись азота, холестерин, ионы металлов и многие лекарственные препараты [12, 17]. Широкая специфичность комплексообразования позволяет считать, что альбумин депонирует в крови различные соединения, затормаживая и дозируя их поступление в ткани. Токсины, связанные с сывороточным альбумином человека, значительно снижают свою активность. Это особенно важно при таких состояниях, как полиорганная недостаточность, циркуляторный шок и т.п., когда функции печени и почек ослаблены [1, 5, 17].

Длительное время при оценке состояния пациента использовали количественные биохимические показатели содержания альбумина в крови. В последние десятилетия был выяснен еще один важный факт: играет огромную роль не только количество белка, но и «каче-

ство», его способность связывать и переносить разные вещества, то есть выполнять полноценную транспортную функцию, и, следовательно, удалять из организма токсичные вещества, медиаторы воспаления, свободные радикалы и т.д. [5].

Связывающая способность сывороточного альбумина, доступность его связывающих центров низкомолекулярным лигандам сильно изменяется при критических состояниях [9, 17]. Стандартные биохимические параметры часто оказываются не информативными в оценке состояния пациентов [5, 17]. Так как САЧ является одним из активных участников транспорта веществ, то определение связывающей функции в интенсивной терапии может быть индикатором состояния организма и эффективности проводимой терапии.

Проблема сепсиса остается актуальной и в 21 веке. Сепсис становится причиной перевода в реанимационное отделение более чем 20% больных и поражает детей и взрослых с все возрастающей частотой [1, 11]. В ретроспективном исследовании, включавшем 750 миллионов пациентов, было выявлено увеличение случаев сепсиса с 164 000 в 1979 году до 660 000 в 2000. [20]. По данным американских исследователей ежегодно сепсис развивается у 750 000 пациентов, из которых более 210 000 умирают [13]. С каждым годом количество пациентов растет, а вопрос лечения остается открытым. Целевые подходы, основанные на разработке антицитокиновых препаратов, до сих пор оказывались безрезультатными [21], возможно, из-за расхождения между временем биологического и клинического развития симптомов.

При развитии системного воспалительного ответа происходит изменение и функциональных возможностей САЧ [9]. Несостоятельность механизмов естественного удаления токсинов, которая возникает при сепсисе, не позволяет надеяться на вероятность благоприятного исхода только за счет восстановления кровообращения, вентиляции, стимуляции и восстановления функции печени и почек и антибиотикотерапии [1]. Одним из важных направлений в лечении сепсиса в последние годы за рубежом стало внедрение и использование экстракорпоральных методов детоксикации [1]. Хорошо известно позитивное влияние гемосорбции с применением отечественного гемосорбента «Овосорб», который удаляет

из кровяного русла сериновые протеазы (трипсин, хитотрипсин, эластазу и др. [3]. Однако влияние этого гемосорбента на транспортную функцию альбумина крови не изучено, что и явилось целью данного исследования.

Материалы и методы

В исследование было включено 50 пациентов с сепсисом различной этиологии (30 пациентов – с панкреатогенным сепсисом, 12 – с абдоминальным, 6 – с уро-сепсисом, 2 – с одонтогенным). Постановка клинического диагноза сепсис при поступлении больного в отделение реанимации основывалась на критериях, сформулированных Согласительной Конференцией Американского колледжа пульмонологов и Общества медицины критических состояний в Чикаго (1992 г.) [10] с дополнениями R. Bone 1997 г.), M. Rangel-Frausto и R. Wenzel (1997 г.). Все больные получали традиционное лечение: антибиотики, инфузионная терапия, парентеральная и иммунотропная терапия, респираторная и инотропная поддержка (при необходимости).

Пациенты были разделены на две группы с помощью компьютерной программы генератора случайных чисел. В контрольную группу (КГ) вошли 15 пациентов. Этим больным проводили консервативную терапию без использования методов экстракорпоральной детоксикации. Средний возраст пациентов в этой группе составил $39,2 \pm 17,4$ лет.

Опытную группу (ОГ) составили 35 пациентов, которым проводили гемосорбцию через антипротеиназный биоспецифический сорбент «Овосорб» (Беларусь) 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. Количество процедур составило 5-7. Средний возраст пациентов в этой группе составил $47,3 \pm 17,5$ лет.

У пациентов рассчитывали лейкоцитарный индекс интоксикации (ЛИИ) по формуле Кальф-Каифа и тяжесть состояния по шкале АРАСНЕ II при поступлении и после проведения интенсивной терапии.

Связывающую способность альбумина изучали способом определения эндогенной интоксикации с использованием тиазолидина [4]. Принцип метода основан на том, что увеличение концентрации метаболитов и токсинов при патологических состояниях, а также наблюдаемая при патологических состояниях ковалентная модификация функциональных групп белка приводит к нарушению связывания тиазолидина. При смешивании плазмы крови с тиазолидином последний, связываясь с сывороточным альбумином, находящимся в плазме, образует продукт, имеющий желтую окраску. Окраска развивается практически мгновенно. Затем определяется оптическая плотность смеси плазмы крови с водным раствором тиазолидина, находящейся в первой пробирке, в единицах оптической плотности (D) на длине волны 425 нм. В качестве юветы сравнения использовали раствор плазмы, разбавленной водой. Оптическую плотность разбавленной водой плазмы крови, находящейся во второй пробирке, дополнительно измеряли на длине волны 280 нм, так как оптическая плотность (D_{280}) на длине волны 280 нм пропорциональна концентрации белков плазмы, в том числе и главного по весу белка плазмы — сывороточного альбумина. Количественную оценку интенсивности поглощения тиазолидина, связывающегося с ЧСА плазмы крови, с образованием продукта желтой

окраски, выражают в условных единицах отношением D_{425}/D_{280} , которые при соотношении с таким же значением в условных единицах отношением D_{425}/D_{280} для здоровых доноров и определяют степень эндогенной интоксикации в процентах. Используемый нами параметр D_{425}/D_{280} учитывает не только связывающую способность сывороточного альбумина, но и концентрацию альбумина в крови. Этот параметр фактически является неспецифическим показателем тяжести состояния организма и, вероятно, отражает реакцию организма на патологический процесс.

Изменение оптической плотности на длине волны 425 нм отражает эффективность элиминации токсических веществ и метаболитов гемосорбента «Овосорб».

При тяжелом эндотоксикозе интенсивность окраски смеси плазмы крови с тиазолидином снижается в несколько раз, т.е. оптическая плотность плазмы крови больных лиц с наличием эндогенной интоксикации в смеси с тиазолидином ниже этого же показателя для здоровых лиц (доноров). Таким образом, получается, что при тяжелом эндотоксикозе процент свободного от токсических веществ альбумина меньше, в сравнении с донором.

Исследуемые параметры изучали в 2 этапа – до гемосорбции и через 1 час после ее проведения в течение трех суток, а также после всех процедур. В контрольной группе определяли связывающую способность альбумина при поступлении, на третий день и после проведения консервативной терапии.

Статистический анализ проводили с использованием пакета прикладных программ STATISTICA 5.5. Медианой (Me), верхней и нижней квартилями представлены величины, не имеющие приближенно нормальное распределение. Для принятия решения о виде распределения применялся критерий Шапиро-Уилка. Уровень значимости принят 5%. При сравнении независимых групп с ненормальным распределением значений одного или двух количественных признаков использовался непараметрический метод – критерий Манна-Уитни. При сравнении зависимых групп с ненормальным распределением значений использовался непараметрический метод – критерий Вилкоксона.

Результаты и их обсуждение

Результаты изменения связывающей способности альбумина в контрольной группе представлены в таблице 1.

В контрольной группе на фоне проводимой консервативной терапии наблюдается снижение связывающей способности альбумина, что сказывается на его транспортной функции.

Результаты изменения связывающей способности альбумина в опытной группе представлены в таблице 2.

Представленные результаты тиазолидинового теста свидетельствуют о положительном воздействии на связывающую способность альбумина гемосорбции через «Овосорб».

Таблица 1 – Динамика изменения связывающей способности альбумина у септических пациентов в контрольной группе

Этап исследования	При поступлении Медиана (Me), нижний и верхний квартили	На третий день Медиана (Me), нижний и верхний квартили	После всего лечения Медиана (Me), нижний и верхний квартили
Контрольная группа (N=10) p(Вилкоксона)	68,35% (47,8%; 74%)	45,3% (37,8%; 55%) 0,078*	38,05% (33,03%; 44,7%) 0,0499*

Примечание: * - уровень p в сравнении с начальным этапом исследования.

Таблица 2 – Динамика изменения связывающей способности альбумина у септических пациентов в опытной группе

Этап исследования	При поступлении	После первой ГС	После второй ГС	После всего лечения
Опытная группа				
Медиана (Ме), нижний и верхний квартили; (N=25)	54,52% (42,3%; 77,1%)	70,0% (58,7%; 83,7%)	66,5% (62,4%; 97,2%)	86,11% (75,4%; 87,2%)
p (Вилкоксона)		0,0179*	0,035*	0,0117*
p(Манна-Уитни (U))	0,258**		0,0002**	0,00014**

Примечания. * - уровень p в сравнении с начальным этапом исследования; ** - уровень p в сравнении с контрольной группой без применения экстракорпоральной детоксикации.

Использование экстракорпорального метода гемокоррекции-сорбции через «Овосорб» также позволяет снизить тяжесть состояния по шкале АРАСНЕ II.

Результаты изменения тяжести состояния по шкале АРАСНЕ II и ЛИИ представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Динамика изменения тяжести состояния по шкале АРАСНЕ II и ЛИИ у септических пациентов

Этап исследования	При поступлении		После всего лечения	
	Медиана (Ме), нижний и верхний квартили; баллы по шкале АРАСНЕ II	ЛИИ	Медиана (Ме), нижний и верхний квартили; баллы по шкале АРАСНЕ II	ЛИИ
Контрольная (N=15)	14,2 (12;17)	9,7 (5;26,2)	7,0 (7;9)	4,9 (3,9;13,3)
p(Вилкоксона)			0,005*	0,046*
Опытная группа (N=35)	16,5 (11;21)	10,3 (6,6;15,3)	4 (4;5)	2,0 (1;4,2)
p(Вилкоксона)			0,003*	0,002*
p(Манна-Уитни)	0,6**	0,87**	0,0001**	0,006**

Примечания. * - уровень p в сравнении с начальным этапом исследования; ** - уровень p в сравнении с контрольной группой без применения экстракорпоральной детоксикации.

У пациентов с сепсисом наблюдается снижение связывающей способности альбумина. При дальнейшем развитии патологического процесса, воспаления и нарастании эндотоксикоза происходит ухудшение связывающей способности альбумина. Использование антипротеиназного гемосорбента «Овосорб» позволяет улучшить связывающую способность и улучшить прогноз заболевания. Снижается количество баллов по шкале АРАСНЕ II при применении гемосорбента «Овосорб» в процессе лечения, в сравнении с контрольной группой. Так же изменяется течение воспалительного процесса. У пациентов наблюдалась более быстрая нормализация ЛИИ.

В результате включение одного из методов экстракорпоральной детоксикации-гемосорбции на «Овосорбе» привело к снижению койко-дня, проведенного в реанимационном отделении с 10 дней в опытной группе до 7 (p=0,049** критерий Манна-Уитни) дней в контрольной.

Заключение

Использование тиазолидинового теста дает возможность проводить экспресс-диагностику состояния САЧ, и контролировать динамику изменений в процессе лечения, так как этот показатель быстро изменяется при критических состояниях.

Включение в лечение сепсиса гемосорбции через отечественный антипротеиназный гемосорбент «Овосорб» позволяет восстановить связывающую способность альбумина и удалить продукты, ухудшающие его транспортные свойства. При этом у пациента сохраняются собственные белки плазмы крови с восстановленными функциями.

Все это приводит к более быстрому улучшению состояния пациента при оценке по шкале АРАСНЕ II, а также к снижению длительности лечения.

Литература

1. Белломо, Р. Очищение крови при сепсисе: целесообразная гипотеза или напрасная трата времени? / Р.Белломо, К.Ронко // Анест. и реаниматол. – 2002. – №2 – С. 76-79.
2. Добрецов, Г.Е. Альбумин сыворотки крови в клинической медицине / Г.Е. Добрецов. – М., 1994. – С. 28-32
3. Кирковский, В.В. Детоксикационная терапия при перитоните/ В.В. Кирковский. – Минск, 1997. – 190 с.
4. Способ определения эндогенной интоксикации: а.с. N 1827634 ИБ АН БССР, МКИ5 G 01 N33/68 / И.И. Степура, В.В. Спас, С.Н. Соколовская, М.И. Кукрекш; № 4774429/14; заявл. 26.12.89; опубл. 07.02. 1993 // Открытия. Изобрет. – 1993. – № 26. – С. 27.
5. Сывороточный альбумин: свойства, функции и их оценка при критических состояниях / Грызунов Ю.А. [и др.] // Анест. и реаниматол. – 2004. – №6 – С. 68-74.
6. Albumin is a major serum survival factor for renal tubular cells and macrophages through scavenging of ROS 50 / J. Iglesias [et al.] // Am. J. Physiol. – 1999. – Vol. – 277, N 5, Pt 2. – P. F711-F722.
7. Antiplatelet properties of protein S-nitrosothiols derived from nitric oxide and endothelium-derived relaxing factor./ D. I.Simon [et al.] // Atheroscleros. Thromb. – 1993. – Vol. 13. – P. 791-799.67
8. Baron, R.M. Pathobiology of Sepsis Are We Still Asking the Same Questions? / R.M. Baron, M.J. Baron, M.A. Perrella // American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology. – 2006. – Vol. 34. – P. 129-134
9. Bito, R. Isolation and characterization of denatured serum albumin from rats with endotoxicosis / R. Bito, T. Shikano, H. Kawabata // Biochim Biophys Acta. 2003 Mar 21;1646(1-2):100-111.
10. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis / RC Bone [et al.] // Chest. – 1992. – Vol. 101. – P. 1644-1655.
11. Epidemiology of sepsis and infection in ICU patients from an international multicentre cohort study / C. Alberti [et al.] // Intensive Care Med. – 2002. – Vol. 28(2). – P.108-121.
12. He, X.M. Atomic structure and chemistry of human serum albumin / X.M. He, D.C. Carter // Nature. – 1992. – Vol. 358, N 6383. – P. 209-215.
13. Hotchkis, R.S. The Pathophysiology and Treatment of Sepsis / R.S. Hotchkis, I. Karl. – 2003. – Vol. 348. – P. 138-150.
14. Inhibition of microvascular endothelial apoptosis in tissue explants by serum albumin / H. Zoellner [et al.] // Microvasc. Res. – 1999. – Vol. 57, N 2. – P. 162-173.
15. Jorgensen, K.A. On the inhibitory effect of albumin on platelet aggregation / K.A. Jorgensen, E. Stoffersen // Thromb. Res. – 1980. – Vol. 17, Suppl. – P. 13-18.
16. Nitric oxide circulates in mammalian plasma primarily as an S-nitroso adduct / J.S. Stamler [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1992. – Vol. 89, N 16. – P. 7674-7677.
17. Oetl, K. Physiological and pathological changes in the redoxstate of human serum albumin critically influence its binding properties / K.Oetl, R.E. Stauber // British Journal of Pharmacology. – 2007. – Vol. 151. – P. 580-590.
18. Peters T.J. All About Albumin: Biochemistry, Genetics and Medical Applications./ T.J. Peters. – San Diego, 1996. – 60 p.
19. Soriani, M. Antioxidant potential of anaerobic human plasma: role of serum albumin and thiols as scavengers of carbon radicals / M. Soriani, D. Pietraforte, M. Minetti // Arch. Biochem. Biophys. – 1994. – Vol. 31, N 1. – P. 180-188.
20. The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2001 / G.S. Martin [et al.] // N. Engl. J. Med. – 2003. – Vol. 348. – P. 1546-1554.
21. Wheeler, A.P. Treating patients with severe sepsis / A.P. Wheeler, G.R. Bernard // N. Engl. J. Med. – 1999. – Vol. 340. – P. 207-214.

Поступила 30.01.09