

СОРБЦИЯ ЭНДОТОКСИНА ПРИ СЕПСИСЕ У БОЛЬНЫХ ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПОЧКИ И ФУНКЦИЯ ТРАНСПЛАНТАТА

Ватазин А.В., Зулкарнаев А.Б., Крстич М.

ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского», г. Москва

Инфекционные осложнения остаются одной из основных проблем трансплантологии. Известно, что развитие сепсиса в ряде случаев осложняется нарушением функции почек. При этом нарушение функции почечного трансплантата можно рассматривать как частный случай септической нефропатии. Цель исследования: оценить влияние сорбции эндотоксина на функцию трансплантата и летальность. Мы оценили результаты лечения 90 больных с бактериальными инфекционными осложнениями после трансплантации почки и сопоставили их с результатами лечения ретроспективной группы сравнения. При применении сорбции эндотоксина мы отметили более выраженное улучшение функционального состояния трансплантата и внутриорганной микроциркуляции, чем в группе сравнения. Выживаемость пациентов была выше в основной группе. Однако сорбция эндотоксина не повлияла на выживаемость при развитии полиорганной недостаточности. Выводы: сорбция эндотоксина способна значительно улучшить функцию трансплантата при инфекционных осложнениях и выживаемость реципиентов. Целесообразно наиболее раннее применение этой процедуры.

Ключевые слова: трансплантация почки, бактериальные инфекции, сорбция эндотоксина, функция почечного трансплантата.

ENDOTOXIN ADSORPTION IN SEPSIS IN PATIENTS AFTER RENAL TRANSPLANTATION AND GRAFT FUNCTION

Vatazin A.V., Zulkarnaev A.B., Krstich M.

Moscow Regional State Institute for Clinical Research M.F. Vladimirovsky

Objective: to evaluate the influence of endotoxin adsorption on graft function and mortality. Methods: we analyzed the results of treatment of 90 patients with bacterial complications after renal transplantation and compared them with retrospective group of patients, who didn't undergo endotoxin adsorption. Results: the use of endotoxin adsorption led to significant improvement of graft function and intraorganic microcirculation in comparison with retrospective group, treated without endotoxin adsorption. Survival was higher in the intervention group. However, endotoxin adsorption did not affect patient survival when multiple organ failure developed. Conclusion: when infectious complications developed, endotoxin adsorption is able to improve the graft function and recipient survival significantly. The earliest application of this procedure is recommended.

Key words: kidney transplantation, bacterial infections, endotoxin adsorption, renal graft function.

Отличительной особенностью последней четверти XX века и первого десятилетия наступившего столетия является стремительное развитие медицинских технологий. Среди них существенное

место занимает трансплантация органов, тканей и клеток. В настоящее время в мире эти высокотехнологичные операции уже исчисляются десятками тысяч.

Статья поступила в редакцию 11.07.12 г.

Контакты: Крстич Миролюб, м. н. с. хирургического отделения органного донорства.

Тел. +7-926-284-04-59, **e-mail:** dolce-vita07@mail.ru

В течение последнего десятилетия смертность, связанная с развитием инфекций, у реципиентов почечного аллотрансплантата (ПАТ) не уменьшилась. Несколько улучшились результаты профилактики и лечения вирусных инфекций, однако бактериальные и грибковые инфекции сопровождаются стабильно высокой летальностью. По данным Linares L. et al., проанализировавших результаты 1218 трансплантаций почек, в 29% случаев причиной смерти у реципиентов ПАТ становились инфекции. При развитии инфекции, ставшей причиной летального исхода, в 35% был диагностирован сепсис, в 18% – бактериальная пневмония, в 4% – бактериальная инфекция брюшной полости. За десять лет роль бактериальной инфекции как причины летального исхода существенно не изменилась. Вирусная инфекция регистрируется как причина смерти реже – в 7% случаев [10].

После трансплантации почки к развитию сепсиса предрасполагают многие факторы, основными из которых являются:

- широкое использование различных инвазивных процедур в посттрансплантационном периоде: катетеризация центральных сосудов, мочевого пузыря, дренирование раны, использование мочеоточниковых стентов и др.;
- действие специфических нарушений гомеостаза (уремия, анемия, белково-энергетическая недостаточность, метаболические нарушения), свойственных больным с терминальной стадией хронической почечной недостаточности на дотрансплантационном этапе, что приводит к снижению репаративных способностей тканей, а также в значительной степени изменяет иммунный статус;
- постоянная 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.

Одним из главных факторов, инициирующих системную воспалительную реакцию при грам-отрицательном сепсисе, является эндотоксин – облигатный липополисахарид бактериальной стенки грам-отрицательных бактерий, один из самых сильных экзогенных пирогенов, открытый Richard Pfeiffer в 1892 году. Структурно эндотоксин состоит из липида А, который представлен цепями жирной кислоты и универсального для всех грам-отрицательных бактерий полисахаридного ядра, к сердцевине ядра прикреплена переменная углеводная цепочка – О-антиген. О-антиген уникален для каждой бактерии и определяет ее серотип. Благодаря наличию гидрофобной части молекулы, эндотоксин способен внедряться в двухслойную клеточ-

ную мембрану, способствуя ее реорганизации: изменению гидрофобности, поверхностного заряда, функциональной стабильности. Это приводит к нарушениям клеточного метаболизма: угнетению клеточного дыхания, нарушению функций митохондрий, ускорению окислительных процессов, выбросу большого спектра медиаторов [6].

Эндотоксин является фактором, необходимым для нормального развития иммунной системы, и облигатным фактором адаптационного синдрома. Известно, что объем поступления в системный кровоток эндотоксина частично регулируется симпатoadреналовой системой. При нормальном гомеостазе существует четкий баланс между выработкой эндотоксина облигатными бактериями кишечника и активностью систем, инактивирующих его. Однако большое количество эндотоксина, высвобождающегося при лизисе бактериальной стенки, приводит к быстрому истощению физиологических эндотоксинсвязывающих систем. При проникновении в различные жидкие среды организма эндотоксин, обладающий чрезвычайно высокой биологической активностью, приводит к различным патофизиологическим эффектам, которые заключаются в активации множества биологических систем: системы коагуляции, комплемента и клеток крови (моноцитов, макрофагов, нейтрофилов, эозинофилов, а также эндотелиоцитов). 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. Изучение биологического действия и метаболизма эндотоксина способствовало появлению новых подходов к терапии сепсиса [1–4].

Применение неселективных методов афереза у реципиентов ПАТ сопряжено со сложностью поддержания терапевтической концентрации компонентов иммуносупрессии в крови, что крайне актуально на всех этапах послеоперационного периода. Высокоselectивная сорбция оказывает избирательное действие только на конкретные субстанции – основные медиаторы системного воспалительного ответа при сепсисе, что может повысить выживаемость больных.

Сорбенты, предназначенные для селективного удаления эндотоксина – Toramuxin и LPS Adsorber обладают всеми необходимыми свойствами для проведения эффективного и безопасного лечения сепсиса: высокие адсорбционная способность и темп сорбции, структурная стабильность, совместимость с кровью (отсутствие механического и химического повреждения крови).

В крупном исследовании EUPHAS, посвященном изучению эффективности раннего приме-

ния селективной адсорбции эндотоксина (СЭ) при сепсисе, установлено, что после процедур значительно увеличилось среднее артериальное давление, снижалась потребность в вазопрессорах. Показатель $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ через 72 часа после процедуры увеличился не значимо. Общая динамика состояния была положительной, что выразилось на выраженном снижении количества баллов по шкале SOFA. В группе сравнения, где СЭ не применялась, показатели были статистически значимо хуже. Летальность на 28-е сутки составила 32% при применении СЭ и 53% в группе сравнения [5]. Однако методология исследования EUPHAS была подвергнута критике. Последующие промежуточные результаты исследования EUPHRATES и EUPHAS II, а также другие исследования подтверждают высокую эффективность СЭ [7, 11, 12].

Интересная работа проведена Cruz D.N. et al., где авторы обобщили 28 исследований различного масштаба, в которых суммарно приняли участие 1425 пациентов с сепсисом различной этиологии. Авторы наблюдали на фоне снижения концентрации ЭТ статистически достоверное улучшение гемодинамики, тенденцию к снижению потребности в вазопрессорной поддержке, увеличение $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$. После процедуры СЭ различными авторами отмечено снижение различных системных медиаторов: ИЛ-6, ИЛ-10, ИЛ-18, ФНО α , ингибитора активатора плазминогена-1, эластазы нейтрофилов, тромбоцитарного фактора-4, растворимого Р-селектина и эндогенных каннабиноидов. Авторы сообщают о снижении смертности как в раннем, так и в отдаленном периодах. Из нежелательных последствий сообщается только о редких случаях тромбоза колоники [8, 9].

Однако работы, посвященные изучению эффективности и особенностей клинического применения СЭ у больных после аллотрансплантации почки практически отсутствуют.

Проведенное исследование – практически единственное, посвященное эффективности раннего применения СЭ у больных с бактериальными инфекционными осложнениями после трансплантации почки.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценить эффективность раннего применения сорбции эндотоксина при сепсисе у больных после трансплантации почки.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Показаниями для проведения СЭ считали сепсис, тяжелый сепсис или септический шок, вызванные грамотрицательной или смешанной микрофлорой.

Процедуры проводили на аппарате Hygieia ultima фирмы Kimal (Англия) с применением картриджей для экстракорпоральной гемоперфузии Toraymuхin PMX-20R компании Toray Industries, Inc., Япония, или LPS Adsorber компании Altecо medical AB, Швеция. В качестве сосудистого доступа использовали трех- или двухпросветный диализный катетер Arrow International, США, или пунктировали артериовенозную фистулу. В качестве антикоагулянта использовали гепарин, дозу которого подбирали индивидуально.

Скорость кровотока поддерживали на уровне 80–120 мл/мин, время перфузии – 120 минут, интервал 24 часа.

Метод лечения заключался в экстракорпоральной гемоперфузии через сорбент, селективно удаляющий эндотоксин.

Одним из таких сорбентов является картридж для экстракорпоральной гемоперфузии Toraymuхin PMX-20R компании Toray. Этот картридж представляет собой сорбент на основе полимиксина Б, который ковалентно связан с α -хлорацетоамидметилированным полистирином, иммобилизованным на полипропиленовых волокнах. Полимиксин Б известен своей способностью нейтрализовать биологическую активность эндотоксина путем связывания липида А, который является составной частью эндотоксинов и одинаков у всех грамотрицательных бактерий. Однако при попадании в системный кровоток полимиксин Б оказывает нефро- и нейротоксическое действие, что в значительной мере сдерживает его применение. Эти побочные действия отсутствуют при гемоперфузии через сорбент с ковалентно связанным полимиксином Б, поскольку он не поступает в системный кровоток. Лечебное действие селективной адсорбции проявляется прямо в элиминации эндотоксина из циркулирующей крови и опосредованно из интерстициального сектора.

Способностью селективно удалять циркулирующий эндотоксин обладает и сорбционная колонка LPS Adsorber компании Altecо medical AB, состоящая из 20 пористых полиэтиленовых пластин. На этих пластинах иммобилизован специальный пептид HAE 27, способный адсорбировать эндотоксин.

Мы сопоставили результаты лечения основной группы численностью 90 человек с ретроспективной группой сравнения, также численностью 90 человек. У всех больных основной группы мы применили селективную сорбцию эндотоксина на колонках Toraymuхin и LPS Adsorber. Характеристика групп представлена в табл. 1.

Септические состояния встречались как в течение первого месяца после трансплантации (они, как правило, были связаны с хирургическими или уро-

Таблица 1

Характеристика больных с инфекционными осложнениями

Признак	Основная группа (n = 90)	Группа сравнения (n = 90)	p
Средний возраст, лет	45 (32; 60)*	42 (30; 52)*	0,126
Пол (м/ж)	62/28	53/37	0,163
Срок после АТП, мес.	51 (18; 68)*	43 (17; 70)*	0,346
APACHE II, баллы	16 (12; 21)*	15,5 (12; 20)*	0,49

Примечание. * – медиана и интерквартильный размах

Таблица 2

Причины сепсиса

Первичное заболевание	Основная группа (n = 90)	Группа сравнения (n = 90)	Всего
Пневмония	38	42	80
Острый пиелонефрит ПАТ	37	36	73
Заболевания органов брюшной полости и забрюшинного пространства	8	6	14
Инфекции п/о раны и ложа ПАТ	7	6	13
Итого	90	90	180
Стандартная трехкомпонентная иммуносупрессия: ингибитор кальциневрина, микофенолата мофетил, преднизолон			

логическими осложнениями), так и в отдаленном сроке послеоперационного периода – до 8 лет после операции.

Причины сепсиса представлены в табл. 2. У большинства больных была диагностирована бактериальная или смешанная пневмония, как правило двусторонняя. Несколько реже встречался острый пиелонефрит трансплантата, в ряде случаев – с формированием апостем. Значительно реже у пациентов причиной сепсиса были неспецифические хирургические заболевания органов брюшной полости и забрюшинного пространства, а также послеоперационной раны и ложа трансплантата. У больных обеих групп была подтвержденная грамотрицательная или смешанная бактериальная инфекция, причем характер флоры имел тесную связь с локализацией первичного очага. Самыми часто встречаемыми бактериями были грамотрицательные энтеробактерии: *E. coli*, *Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.* Грамположительные кокки – энтерококки и стафилококки – обнаружены примерно в четверти посевов и находились в различных ассоциациях с грамотрицательными бактериями. Недифференцированные неферментирующие грамотрицательные бактерии – *Acinetobacter* и синегнойная палочка – обнаружены в 15% посевов.

У всех больных применялся стандартный трехкомпонентный протокол иммуносупрессии.

Следует отметить, что вследствие большого стажа применения антибиотиков у больных на дотрансплантационном этапе, а также частого назначения антибиотиков группы резерва у больных на фоне комплексной иммуносупрессии обнаруженная флора имела высокую степень резистентности к приме-

няемым антибиотикам, что значительно осложняло лечение сепсиса.

Для оценки различия в динамике клинических и биохимических показателей мы применили дисперсионный анализ с повторными измерениями. При анализе различий качественных признаков (в том числе при анализе различий в летальности) использовались критерий χ^2 , точный критерий Фишера, а также определяли отношение рисков. Для анализа выживаемости пациентов применялся метод Каплана–Мейера. Статистическая значимость различий кривых выживаемости оценивалась с помощью критериев Log rank и Breslow.

Оценивался двусторонний уровень значимости. Значения $p < 0,05$ считались статистически значимыми.

Статистические расчеты проводились в программе SPSS v. 17.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

У большинства пациентов клиническая манифестация сепсиса наступила вне стационара, и больные поступали не на первый день болезни. Как правило, у пациентов обеих групп был значительно снижен диурез (рис. 1). Различия между группами не достигли необходимого уровня статистической значимости – $p = 0,092$.

Азотовыделительная функция трансплантата пострадала в большей степени, чем водовыделительная (рис. 2). При этом различия между группами были статистически значимы – $p < 0,001$.

Мы также оценили динамику скорости клубочковой фильтрации (рис. 3). Так, у больных обеих

Мы можем заключить, что сорбция эндотоксина способствует более скорой нормализации функции почки.

ОБСУЖДЕНИЕ

При поступлении у большинства больных был снижен диурез. На фоне проводимой терапии отмечено повышение суточного диуреза, главным образом, как мы полагаем, в результате адекватной инфузионной терапии. При этом динамика диуреза у больных основной группы была несколько более физиологична. У ряда больных группы сравнения отмечены эпизоды полиурии, потребовавшие введения дополнительных объемов жидкости.

У подавляющего большинства больных отмечен выраженный рост концентрации креатинина. На фоне проводимой терапии у больных обеих групп отмечено его постепенное снижение. При этом у больных основной группы отмечена более выраженная тенденция к нормализации азотемии после первых-вторых суток лечения, когда проводились сеансы сорбции эндотоксина. Таким образом, в основной группе снижение концентрации креатинина было более резким и выраженным и значимо отличалось от больных группы сравнения, у которых сорбция эндотоксина не проводилась.

Одним из самых доступных и наглядных способов оценки функциональной состоятельности почечного трансплантата является скорость клубочковой фильтрации (СКФ). Как правило, реципиенты почечного трансплантата имеют скорость клубочковой фильтрации значительно ниже здоровых людей. На фоне сепсиса происходит еще большее снижение СКФ. Так, с первых суток лечения динамика СКФ в обеих группах была разнонаправленной: в основной группе отмечен рост скорости клубочковой фильтрации, а в группе сравнения продолжилось ее снижение вплоть до третьих суток. При этом со вторых суток лечения различия между группами стали статистически значимыми, и значимость различий сохранялась во время всего оставшегося анализируемого периода лечения.

Нарушение функционирования трансплантированной почки во многом обусловлено нарушением органной микроциркуляции: выраженной вазоконстрикции междольковых артерий с последующей редукцией корково-мозгового кровотока, что приводит к ишемическому повреждению канальцевого эпителия. У большинства больных основной группы выявлено снижение как систолического, так и диастолического кровотоков, а также неравномерность микроциркуляции в органе. В течение первых трех-четырех дней лечения происходило выраженное и статистически значимое снижение индексов резистивности. В остальном периоде

индекс резистивности значимо не менялся, однако имел тенденцию к дальнейшему снижению. Тем не менее дисперсионный анализ с повторными измерениями показал, что общая динамика была статистически значима.

Важнейшими показателями эффективности лечения являются летальность и выживаемость. В сравниваемых группах различия в летальности не достигли необходимого уровня статистической значимости, что, вероятно, можно объяснить недостаточной мощностью исследования вследствие малой выборки. Однако при анализе выживаемости, то есть с учетом фактора времени, различия между группами были статистически значимы. С пятых суток наблюдается лучшая выживаемость пациентов в основной группе, и это значимое различие сохранялось в течение всего оставшегося анализируемого периода. Несмотря на статистическую спорность полученных результатов, мы склонны рассматривать выявленные различия как клинически значимые.

При этом в отличие от общей популяции больных с сепсисом у реципиентов почечного трансплантата снижение летальности при применении сорбции эндотоксина происходит лишь в том случае, когда она была применена до развития полиорганной недостаточности. Все больные обеих групп, у которых развилась полиорганная недостаточность, умерли. То есть селективная сорбция не уменьшила летальность в случае развития полиорганной недостаточности. Однако в основной группе отмечено статистически значимо меньшее количество больных, у которых отмечалось прогрессирование сепсиса с дальнейшим формированием полиорганной недостаточности (χ^2 test $p = 0,047$), при том что исходные различия в тяжести состояния больных отсутствовали. Таким образом, селективная сорбция эндотоксина за счет непосредственного удаления основного начального фактора патогенеза грамотрицательного сепсиса препятствует прогрессированию системной воспалительной реакции с дальнейшим формированием полиорганной недостаточности. Селективная сорбция снижает риск развития полиорганной недостаточности практически в два раза – отношение рисков 0,522 (0,315; 0,864 ДИ).

ВЫВОДЫ

Как мы установили, развитие системной воспалительной реакции, инициированной бактериальной инфекцией, негативно сказывается на функции трансплантата. Это отражается в снижении диуреза, скорости клубочковой фильтрации, росте концентрации креатинина, нарушении микроциркуляции. При этом раннее применение сорбции эндо-

токсина способно значительно улучшить функцию трансплантата. Также сорбция эндотоксина повышает выживаемость больных, главным образом, как мы полагаем, за счет предотвращения прогрессирования системной воспалительной реакции с последующим формированием полиорганной недостаточности. Однако в случае развернутой картины полиорганной недостаточности наблюдается абсолютная летальность. Тем не менее сорбция эндотоксина является патогенетически обоснованной и эффективной процедурой, которая может значительно улучшить результаты трансплантации почки.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аниховская И.А., Опарина О.Н., Яковлева М.М., Яковлев М.Ю. Кишечный эндотоксин как универсальный фактор адаптации и патогенеза общего адаптационного синдрома // Физиология человека. 2006. Т. 32. № 2. С. 87–91.
2. Яковлев М.Ю. Элементы эндотоксиновой теории физиологии и патологии человека // Физиология человека. 2003. № 4. С. 154–164.
3. Яковлев М.Ю. Кишечный липополисахарид: системная эндотоксинемия – эндотоксиновая агрессия – SIR-синдром и полиорганная недостаточность как звенья одной цепи // Бюлл. ВНИЦ РАМН. 2005. № 1. С. 15–18.
4. Яковлев М.Ю. Кишечный эндотоксин – SIRS – полиорганная недостаточность // Труды РОП. 2006. Т. 1. С. 437–440.
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. № 167. P. 83–90.
6. 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. Vol. 5. P. 13.
7. Cavaillon J.M. Polymyxin B for endotoxin removal in sepsis // Lancet Infect Dis. 2011. Vol. 11. № 6. P. 426–427.
8. Cruz D.N., Bellomo R., Ronco C. Clinical effects of polymyxin B-immobilized fiber column in septic patients // Contrib Nephrol. 2007. № 156. P. 444–451.
9. 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. Vol. 11. № 2. R47.
10. Linares L., Cofán F., Cervera C. et al. Infection-related mortality in a large cohort of renal transplant recipients // Transplant Proc. 2007. Vol. 39. № 7. P. 2225–2227.
11. Martin E.L., Cruz D.N., Monti G. et al. Endotoxin removal: how far from the evidence? The EUPHAS 2 Project. // Contrib Nephrol. 2010. № 167. P. 119–125.
12. Sato K., Maekawa H., Sakurada M. et al. Direct hemoperfusion with polymyxin B immobilized fiber for abdominal sepsis in Europe // Surg Today. 2011. Vol. 41. № 6. P. 754–760.