Polymyxin-sewn hemosorbent for the treatment of patients with septic shock

V.V. Kirkovsky, I.G. Kolesnikova, D.S.Tretyak, E.L. Sedjolkina

Belarusian State Medical University, Minsk, The Republic of Belarus

|  |  |
| --- | --- |
| Abstract | The key component of the sepsis pathogenesis is the gram-negative bacteria endotoxin. It is a lipopolysaccharide of the bacterial wall, which circulation in the bloodstream results in unlimited activation of some biological systems, causing serious complications. Nowadays, there are developed and practiced sorption methods, based on the selective removal of the lipopolysaccharide from the blood during perfusion through the sorption column with covalently immobilized polymyxin on a bioinert matrix, which can bind and inactivate it. The therapeutic effect of hemosorption using the biospecific antilipopolysaccharide hemosorbent has been studied in patients with septic shock, associated with peritonitis and septic complications of destructive pancreatitis. |
| **Keywords:** | hemosorbent, detoxification, polymyxin, endotoxin, lipopolysaccharide, sepsis. |

АД

АЛТALT — аланинаминотрансфераза– alanine aminotransferase АСТ

АЧТВAP — артериальное давление– arterial pressure

APTT— активированное частичное тромбопластиновое время – activated partial thromboplastin time

AST – aspartate transaminase

DBP – diastolic blood pressure

СОЭESR – erythrocyte sedimentation rate

ET – endogenous toxin

HR – heart rate

INR— международное нормализованное отношение – international normalized ratio

ГОБGNB— грамотрицательная бактерия – gram-negative bacteria ГС

ЛПСLPS – lipopolysaccharide

МНОPaCO2  — парциальное давление углекислого газа– partial pressure of carbon dioxide

ЧДДRR— частота дыхательных движений – respiratory rate

ЧССSBP— систолическое артериальное давление – systolic blood pressure

ЭТ Pa CO 2

**Введение** **introduction**

Сепсис, септический шок и, как следствие, развившаяся полиорганная недостаточность остаются частыми и фатальными осложнениями многих хирургических заболеваний. Sepsis, septic shock and consequently developed multiple organ failure are common and fatal complications of many surgical diseases. Несмотря на прогресс в интенсивной терапии, применение самых современных антибактериальных препаратов широкого спектра действия, использование иммунокорригирующей терапии, методик экстракорпоральной гемокоррекции и детоксикации, летальность в этой группе пациентов в реанимационных отделениях во всем мире остается неприемлемо высокой и варьирует от 20 до 50% [1, 2].Despite the progress of the intensive care, the use of the most advanced antibacterial broad-spectrum drugs, immunotherapy, methods of extracorporeal blood correction and detoxification, mortality in this group of patients in intensive care units remains unacceptably high and ranges from 20 to 50% around the world [1, 2].

Сепсис — системный ответ организма на инфекцию, клинически манифестирующий двумя или более признаками: Sepsis is a systemic response to infection, clinically manifested by two or more symptoms:

— температура тела менее 36°С или более 38°С; - The body temperature less than 36°C or more than 38°C;

— частота сердечных сокращений (ЧСС) — более 90 - Heart rate (HR) – more than 90 beats perв мин; min;

— частота дыхательных движений (ЧДД) — более 20 - Respiratory rate (RR) – more tnan 20 breaths в мин, либо парциальное давление углекислого газа (Pa CO 2 ) менее 32 мм рт.ст.;per minute, or carbon dioxide partial pressure (PaCO2) less than 32 mm Hg .;

— количество лейкоцитов в периферической крови более 12000/мм 3 или менее 4000/мм 3 ; - The number of leukocytes in peripheral blood is more than 12,000/mm3 or less than 4,000/mm3;

— наличие более 10% незрелых форм лейкоцитов. - The presence of more than 10% immature forms of leucocytes.

Септический шок представляет собой индуцированную сепсисом гипотензию, развившуюся несмотря на адекватно проводимую инфузию жидкостей и сочетающуюся с нарушениями перфузии тканей. Septic shock is a sepsis-induced hypotension, developed despite adequate ongoing infusion of fluids and accompanied with the impaired tissue perfusion.

Патогенез сепсиса достаточно сложен. The pathogenesis of sepsis is quite complicated.Тем не менее, ключевым звеном патогенеза, важность которого в развитии сепсиса установлена и неоспорима, является эндотоксин грамотрицательной бактерии (ЭТ ГОБ). However, a key element of the pathogenesis, which importance in the development of sepsis is confirmed and undeniable is the endotoxin of a gram-negative bacteria (ET GNB).Он представляет собой липополисахарид (ЛПС) бактериальной стенки. It is a lipopolysaccharide (LPS) of the bacterial wall.В результате его циркуляции в кровеносном русле происходит активация ряда важнейших биологических систем: системы коагуляции, комплемента, клеток крови (моноциты, макрофаги, нейтрофилы, эозинофилы) и триггерного фактора освобождения медиаторов. Due to its circulation in the bloodstream critical biological systems are activated: the coagulation system, complement system, blood cells (monocytes, macrophages, neutrophils, eosinophils) and trigger factor of mediators release.Вследствие этого возникает тяжелая системная воспалительная реакция с последующим формированием полиорганной недостаточности [3]. As a result, there is a severe systemic inflammatory response followed by the development of multiple organ failure [3].

Одним из эффективных средств для борьбы с грамнегативной флорой признан антибиотик полимиксин (ПМ). One of the most effective drug for combating gram-negative flora is an antibiotic polymyxin.Он обладает способностью связывать и инактивировать ЛПС как в составе бактериальных мембран, так и в свободной форме. It has the ability to bind and inactivate LPS as a part of bacterial membranes, as well as in free form.Однако используемые высокие концентрации ПМ в лечебных целях небезопасны. However, high concentrations of polymyxin used for therapeutic purposes are unsafe. Этот антибиотик обладает выраженной нефро- и нейротоксичностью, что существенно ограничивает его применение в клинике в виде инъекционных растворов [4–8].This antibiotic has extreme nephrotoxicity and neurotoxicity, which significantly limit its clinical use as an injectable solution [4-8]. Sorption methods В настоящее время разработаны и используются сорбционные методы, которые основаны на избирательном удалении ЛПС из крови при перфузии ее через сорбционную колонку с ПМ, ковалентно иммобилизированным на биоинертной матрице [9].have now been developed and used, which are based on selective removal of LPS from blood trough the sorption column with polymyxin, covalently immobilized on a bioinert matrix [9].Таким образом удается извлекать из активной гемоциркуляции часть ЛПС грамотрицательной микрофлоры. Thus, we manage to remove the part of LPSs of gram-negative microorganisms from active haemocirculation. Согласно литературным данным, использование таких устройств в лечении пациентов с осложнениями, вызванными грамотрицательной микрофлорой, позволяет существенно улучшить результаты их лечения [10–11].According to the literature, the use of such devices in the treatment of patients with complications caused by gram-negative microflora, can significantly improve the results of treatment [10-11].

Как показали исследования японских ученых, использование таких гемосорбентов (ГСТ) приводит к снижению концентрации ЭТ в крови, а также уровня провоспалительных цитокинов; As shown by the study of Japanese scientists, such hemosorbents reduce concentration of ET in blood, as well as pro-inflammatory cytokines.за счет этого достигается стабилизация гемодинамических параметров. This promotes stabilization of hemodynamic parameters.Согласно данным литературы, эндогенные канна According to the literature, endogenous cannabinoids such as macrophagous anandamide and thrombocyte derivative 2-arachidonyl glyceride *(2-*AG), are mediators causing hypotension in the early stages of septic shock*. IMaruyama et al. [12] показали, что ПМ ГСТ эффективно сорбирует не только ЭТ, но и тетрагидробиоптерин (BH 4 ) — основной кофактор, индуцирующий NO-синтетазу.. Maruyama et al [12]* demonstrated that polymyxin immobilized hemosorbent effectively absorbs not only ET, but also tetrahydrobiopterin (BH4) which is the main cofactor inducing nitric oxide synthase.

На сегодняшний день существуют ГСТ, предназначенные для селективного удаления эндотоксина Today, there are hemosorbents designed for the selective removal of endotoxin – “Toraymyxin” and *“LPS Adsorber”,* which have all necessary properties for the effective and safe treatment of sepsis: high adsorption­ционная способность и темп сорбции, структурная стабильность, совместимость с кровью (отсутствие механического и химического повреждений крови). capacity and the rate of adsorption, structural stability, compatibility with blood (the absence of mechanical and chemical damage to the blood).В одном из крупных исследований *EUPHAS* , проводимых в последние годы в мировой практике и посвященных оценке эффективности раннего применения селективной адсорбции ЭТ при сепсисе, установлено, что после процедур значительно увеличилось среднее артериальное давление (САД), снизилась потребность в вазопрессорах. In an extensive study of *EUPHAS,* conducted over recent years around the world and dedicated to evaluating the effectiveness of early use of selective ET adsorption in sepsis, it was found that the arterial pressure increased significantly after the procedure and the need for vasopressor fell.Общая динамика состояния больных была положительной, что выразилось в значимом снижении количества баллов при его оценке по шкале *SOFA* . The overall progress of the patients’ condition was positive, which resulted in a significantly lower score according to the *SOFA* scale.В группе сравнения, где селективную адсорбцию ЭТ не применяли, показатели были статистически значимо хуже. In the control group, where the selective adsorption of ET was not used, values were significantly worse. Летальность на 28-е сут составила 32% при применении селективной адсорбции ЭТ и 53% — в группе сравнения [13]. The mortality on day 28 was 32% with the selective adsorption of ET and 53% in the control group [13].

Однако методология исследования *EUPHAS* была подвергнута критике. However, the methodology of the *EUPHAS* study has been criticized. Последующие промежуточные результаты исследований *EUPHRATES* и *EUPHAS* 2, а также другие исследования подтвердили высокую эффективность селективной адсорбции эндотоксина [14–16].The following interim results of *EUPHRATES* and *EUPHAS* 2 studies, as well as other studies have confirmed the high efficiency of the selective adsorption of endotoxin [14-16].По данным 9 рандомизированных контролируемых исследований и 10 обсервационных исследований, на фоне терапии с помощью ПМ сорбента уровень эндотоксина в кровотоке больных снижался на 33–80% по сравнению с исходными показателями [17]. According to 9 RCTs and 10 observational studies, the concentration of endotoxin in the circulation of patients decreased by 33-80% compared to baseline values ​​in the course of polymyxin immobilized hemosorbent therapy [17]. В результате терапии с помощью ЛПС–ГСТ, помимо уменьшения концентрации эндотоксина, наблюдалось снижение уровня некоторых других медиаторов, таких как *IL* -6, *IL* -10, *IL* -18 и *TNF-a* [18–20].As a result of treatment with anti-LPS hemosorbent, in addition to the fall of endotoxin concentration, some other mediators also reduced (*IL*-6, *IL*-10, IL-18 and *TNF-a [18-20].*

Однако лечебный механизм ГС на ПМ ГСТ, улучшающий, по мнению этих авторов, выживаемость больных с септическим шоком, еще до конца не изучен. However, the therapeutic mechanism of polymyxin immobilized hemosorbent which improves, according to these authors, the survival of patients with septic shock, is still not fully understood.Тем более, что неприемлемо высокая цена этих массообменников сдерживает их повсеместное применение. Moreover, an unacceptably high price of these mass exchangers prevents its widespread adoption.Учитывая исключительную актуальность этой проблемы, в Республике Беларусь был разработан доступный по цене ГСТ на основе полиакриламидного геля с иммобилизированным антибиотиком ПМ [21, 22]. Given the exceptional urgency of this issue, the affordable hemosorbent of polyacrylamide gel with the immobilized polymyxin was developed in the Republic of Belarus [21, 22].

Следует отметить, что в широкой клинической практике отсутствуют доступные, легко воспроизводимые тесты, позволяющие давать количественную оценку уровня токсина грамотрицательной флоры до и после ГС. It should be noted that there are no widely adopted tests to quantify the gram-negative flora toxin before and after hemosorption which could be available and easily reproducible. Это обстоятельство вынуждает при оценке характера лечебного действия данного гемосорбента использовать главным образом динамику клинико-лабораторных тестов, свидетельствующих о тяжести и динамике сепсиса.This circumstance forces to use mainly changes of clinical and laboratory tests over time, indicating the severity and progress of sepsis when assessing the therapeutic effect of a hemosorbent.

**Материал и методы** **Material and Methods**

Для исследования сорбционной емкости разработанных образцов гемосорбентов применялся модельный раствор *E.* To study the sorption capacity of the developed samples of hemosorbents we used the model solution of *E.coli* , штамм 0157:H7, с концентрацией ЛПС 100 мкг/мл. *coli,* strain 0157:H7, LPS concentration – 100 mkg/ml.Исследования по изучению динамики концентрации ЛПС в модельным растворе выполняли в статическом стендовом эксперименте с применением хромогенной реакции с карбоцианиновым красителем [23]. Studies for the change of LPS concentration in the model solution were performed in in static bench tests using a chromogenic reaction with the carbocyanine dye [23]. Экспериментальный образец разработанного нами ГСТ на основе полиакриламидного геля (матрица) с иммобилизированным антибиотиком ПМ взвешивали, затем трижды промывали 0,9% раствором натрия хлорида.The experimental hemosorbent sample, based on the polyacrylamide gel (matrix) with the immobilized antibiotic polymyxin was weighed, then washed three times with 0.9% sodium chloride solution.Далее 8,3 мл экспериментального образца с пришитым к нему ПМ (83,3 мг) помещали в емкость и с помощью модельного раствора ЛПС доводили общий объем содержимого до 50 мл для установления соотношения экспериментальный образец Then, 8.3 ml of the experimental sample with the immobilized polymyxin (83.3 mg) was placed into the vessel and using the model LPS solution it was adjusted to a total volume of 50 ml to reach the ratio 1:5.Длительность инкубации модельного раствора липополисахарида в статическом режиме в термостате составила 120 The duration of model lipopolysaccharide solution incubation under static conditions in an oven was 120 мин при температуре 37°С.min at 37° C.Отбор проб для исследования концентрации ЛПС проводили каждые 20 мин с учетом нулевой точки, после чего определяли сорбционную емкость разработанного ГСТ на 1 грамм. Sampling for evaluation of LPS concentration was performed every 20 minutes with account for the zero point, and then the sorption capacity of the developed hemosorbent for 1 gram was determined.Для сравнения использованы экспериментальные образцы матрицы без привитого к нему антибиотика ПМ в аналогичных условиях статического эксперимента. For comparison, test samples of matrix without polymyxin were used in similar conditions of the static experiment.

Характер лечебного действия анти-ЛПС ГСТ наблюдали в группе пациентов с септическим шоком различного генеза. The type of the therapeutic effect of anti-LPS hemosorbent was observed in patients with septic shock of various origins. В исследование были включены 83 больных (в возрасте от 18 до 89 лет) с этим осложнением, которое развивалось на почве гнойного перитонита и гнойных осложнений деструктивного панкреатита.The study included 83 patients (aged 18 to 89 years) with this complication, which developed due to pyoperitonitis and septic complications of destructive pancreatitis.В основную группу вошли 43, в группу сравнения The primary group included 43 patients and the control group enrolled enrolled40пациентов с этой патологией. patients with this disease. В обеих группах применяли сходный комплекс лечебных мероприятий, исключая использование анти-ЛПС ГСТ в одной из них.In both groups similar measures were performed, excluding anti-LPS hemosorbent in one of them.Всем пациентам проводили медикаментозную терапию на базе отделений интенсивной терапии, включающую инфузию лекарственных средств, обеспечивающих в том числе повышение периферического сосудистого тонуса и ударного объема крови. All patients underwent medical therapy in intensive care units, including infusion of drugs, ensuring the increase of peripheral vascular tone, and blood stroke volume.В среднем в группе дофамин назначали в дозе 10±4,2 Dopamine was administered at an average dose of 10±4.2мг/кг/мин, а леванор — 20,6±8,4 мкг/кг/мин. mg/kg/min and Levonor — 20.6±8.4 mg/kg/min.

Перед началом манипуляции пунктировали и катетеризировали одну из центральных вен двухпросветным катетером. Before the manipulation one of great veins was punctured and cannulated with a dual-lumen catheter.Болюсная гепаринизация включала введение в катетер 5000±2500 МЕ гепарина. Bolus heparinization included the introduction of 5.000±2.500 IU of heparin.При проведении ГС скорость перфузии крови через массообменный модуль в среднем в группе составляла 60±10 During the hemosorption, blood perfusion rate trough the mass exchanger was 60±10 мл/мин, длительность процедуры — 90±14 мин.ml/min on the average, the procedure duration — 90 ± 14 min.Объем перфузированной крови за одну процедуру ГС был равен 5400±120 мл. Perfused blood volume per procedure was 5.400±120 ml.

До и после ГС определяли следующие гемодинамические показатели: ЧСС, САД, ДАД, а также количество эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов, температуру тела больного, СОЭ и АЧТВ. Before and after the hemosorption following hemodynamic parameters were determined: HR, SBP, DBP, and the number of red blood cells, white blood cells, platelets, the patient's body temperature, erythrocyte sedimentation rate, and APTT. Оценивали почасовой диурез. Hourly diuresis was also measured. Одновременно с этим изучали уровень в крови общего белка, альбумина, фибриногена, мочевины, креатинина, активность АЛТ и АСТ. Along with these parameters, total protein level in blood, albumin, fibrinogen, urea, creatinine, ALT and AST were measured as well.

Статистическую оценку результатов исследования проводили с использованием критерия статистической значимости различий по Стьюденту, непараметрического критерия Манна–Уитни, таблиц сопряженности 2х2 и критерия ӽ 2 . The statistical evaluation of findings was performed using the Student’s criterion, non-parametric Mann-Whitney test, 2x2 contingency tables and ӽ2 criterion.

**Результаты** **results**

Установлено статистически значимое снижение концентрации в модельном растворе ЛПС на полиакриламидном ГСТ «Липосорб» до 67,3±5,1 We found a statistically significant decrease in the concentration of LPS in the model solution based on polyacrylamide hemosorbent "Liposorb" down to 67.3±5.1 mgмкг/мл на 60-й мин статического эксперимента ( *p* <0,05 по Манну–Уитни), т.е./ml at the 60th minute of the static experiment *(p* <0.05, Mann-Whitney test), i.e. концентрация ЛПС в растворе в указанное время упала до 67,3%. LPS concentration in the solution at the indicated time dropped to 67.3%.Изменения концентрации ЛПС в контрольном растворе в течение эксперимента не было зафиксировано. There were no changes in the concentration of LPS in the test solution during the experiment. Полученные данные, а также проведенные медико-биологические и токсикологические испытания стали основанием для медицинских испытаний данного сорбента.The data, as well as conducted biomedical and toxicological tests have become the basis for medical tests of the sorbent.

До начала ГС у всех пациентов основной группы была зарегистрирована выраженная гипотензия: САД в среднем в группах составило 90±7,2 мм рт.ст., ДАД In all patients of the primary group significant hypotension was noted prior to hemosorption: average SBP was 90±7.2 mmHg, DBP — 70±10,0 мм рт.ст., сердечный индексwas 70±10.0 mmHg, cardiac index was lower than 3.5±5.1л/мин/м 2 . l/min/m2.Резкая гипотензивная реакция сопровождалась тахикардией, которая варьировала в достаточно широком диапазоне — от 110 до 150 уд. The sharp hypotensive response was accompanied by tachycardia, which widely varied from 110 to 150 beats perв мин; min; в среднем в этой группе данный показатель составил 124±16. the average figure was 124±16 in this group.В обеих группах пациентов отмечено появление острого респираторного дистресс-синдрома (респираторный индекс Pa O 2 /FiO 2 =86,3±2,1) и острого легочного повреждения (респираторный индекс Pa O 2 / FiO 2 =160,2±2,0). In both groups, acute respiratory distress syndrome (respiratory index PaO2/FiO2=86.3±2.1) and acute lung injury (respiratory index PaO2/ FiO2=160.2±2.0) occurred.Прогрессирующая дыхательная недостаточность, сопровождающаяся резким снижением сатурации гемоглобина (<70%), приводила к необходимости перевода всех больных этой группы на искусственную вентиляцию легких. Progressive respiratory failure, accompanied by a sharp decrease in hemoglobin saturation (<70%), required mechanical ventilation for all the patients in this group.У пациентов имелся источник гнойной инфекции, при этом из крови многократно высевалась грамнегативная флора; Patients had a source of purulent infection, with repeatedly culturing gram-negative flora in blood;уровни пресепсина и прокальцитонина у них резко превышали нормальные значения. presepsin and procalcitonin dramatically exceeded normal figures.Также у этой группы отмечены явления выраженного динамического илеуса, что сопровождалось обильным отделяемым по зонду застойного желудочного содержимого и выраженным метеоризмом. Also, significant dynamic ileus was noted in this group of patients, which was accompanied by the extensive discharge of stagnated gastric contents through a probe and severe flatulence.Прогрессировали явления острого повреждения почек, что выражалось снижением почасового диуреза, нарастанием гиперкалиемии и азотемии. Acute kidney trauma progressed, which resulted in a decreased hourly urine output, increased hyperkalemia and azotemia. In fact, Фактически у всех пациентов отмечалась коагулопатия, при которой АЧТВ превышал 60 с, а МНО был более 1,5.In factIall patients showed coagulopathy with APTT which exceeded 60 seconds and INR was 1.5.Из крови в 40% случаев высевался *Acinetobacter spp.* , в 60% случаев In blood, *Acinetobacter spp.* was cultured in 40% of cases, and *Pseudomonas aeruginosa* was cultured in 60% of cases. . .In some patients, the combination of several kinds of microorganisms was revealed.

Как показали исследования, перфузия крови через массообменный модуль с ковалентно пришитым ПМ со скоростью 60±10 мл/мин в течение 80–100 мин способствовала улучшению тканевой перфузии, что характеризовалось уменьшением выраженности цианоза кожных покровов. Studies have shown that perfusion of blood through the mass exchanger with covalently bonded polymyxin at a speed of 60±10 ml/min for 80-100 minutes helped improve tissue perfusion, which was characterized by a decrease in the severity of the skin cyanosis. Наряду с этим в постсорбционном периоде у этих пациентов уже после однократно проведенной ГС отмечалось уменьшение частоты и выраженности ознобов.Along with that, these patients had a decrease in the incidence and severity of fever during the post-sorption period.У части пациентов прояснялось сознание. In some patients, the consciousness recovered. Существенным доказательством положительного эффекта от манипуляции было повышение общего периферического сосудистого сопротивления, что приводило к статистически значимому увеличению в среднем в группе систолического и, что особенно важно, диастолического АД — от 109±1,0 мм рт.ст.The The important evidence of the procedure positive effect was the growth of total peripheral vascular resistance, resulting in a statistically significant increase in the average SBP and, most importantly, the average DBP — from 109±1.0 mm Hgи 66±1,3 мм рт.ст. and 66±1.3 mm Hgв среднем в группе до 120±1,3 мм рт.ст. up to 120±1.3 и 70±0,4 мм рт.ст.mm Hg and 70±0.4 mm Hg,соответственно. respectively.

*Таблица 1* *Table 1*

**Динамика изменений гемодинамических и лабо** **Changes in hemodynamic and lab** **­**parameters **раторafter hemosorption with a specific anti-lipopolysaccharide hemosorbent**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Исследуемый показатель Parameter | До гемосорбции Before hemosorption | После гемосорбцииAfter hemosorption |
| ЧСС, уд. HR, beats per в минmin | 104,8±2,1 104.8±2.1 | 85,2±2,5\*85.2±2.5\* |
| САД, мм рт.ст. SBP, mmHg | 109,1±9,2 109.1±9.2 | 120,9±8,9\* 120.9±8.9\* |
| ДАД, мм рт.ст. DBP, mm Hg | 66,0±3,7 66.0±3.7 | 70,4±5,4\* 70.4±5.4\* |
| Температура тела, t°С Body temperature, t° C | 37,5±3,2 37.5±3.2 | 37,2±5,4 37.2±5.4 |
| Почасовой диурез, мл/ч Hourly diuresis, ml / h | 25±10 25±10 | 45±10\* 45±10\* |
| Эритроциты, x 10 12 /л Erythrocytes, x 1012/l | 3,4±1,2 3.4±1.2 | 3,2±1,8 3.2±1.8 |
| Лейкоциты, х 10 9 /л White blood cells, x 109/l | 12,5±5,4 12.5±5.4 | 9,0±3,2\* 9.0±3.2\* |
| Тромбоциты, х 10 9 /л Platelets, x 109/l | 220±4,3 220±4.3 | 200±2,1 200±2.1 |
| СОЭ, мм/ч ESR, mm/h | 32,0±1,0 32.0±1.0 | 33,0±1,0 33.0±1.0 |

Примечания: \* — статистическая значимость отличий по отношению к досорбционным данным при уровне значимости *р* <0,05. Notes: \* — statistically significant differences with respect to pre-sorption levels at a significance level of *p* <0.05.ДАД — диастолическое артериальное давление; DBP — diastolic blood pressure; САД — систолическое артериальное давление;SBP — systolic blood pressure;ЧСС — частота сердечных сокращений HR — heart rate

Как видно из данных табл. As seen in Table.1, клинический эффект от ГС на анти-ЛПС ГСТ проявлялся также в виде статистически значимого увеличения почасового диуреза 1, the clinical effect of anti-LPS hemosorption was also seen as a statistically significant increase in hourly urine output from 25±10 ml/hour on the average in a group up to 45±10 ml/hour (or 1.8 times.)

Согласно полученным данным (табл. 2), сравнительное изучение биохимических параметров до и после ГС на разработанном анти-ЛПС ГСТ не выявило статистически значимых изменений со стороны белковых фракций крови. According to findings (Table. 2), a comparative study of biochemical parameters before and after hemosorption showed no statistically significant changes in the protein fractions of blood.Тем не менее, в постсорбционном периоде отмечено статистически незначимое повышение уровня в крови общего белка и альбумина на 5–10,2% и примерно такое же снижение уровней фибриногена и мочевины плазмы крови. However, total protein and albumin growth (5-10.2%) occurred in the post-sorption period but was not statistically significant. A similar fall of fibrinogen and plasma urea occurred (appr. 5–10.2%).Следует также отметить значительное (более, чем в 1,3–1,7 We should also note a significant (more than 1.3-1.7 times) decrease in creatinine in the blood plasma by day 3-5 after hemosorption, indicating improvement of microcirculation in the kidneys.Кроме того, в постсорбционном периоде в те же сроки отмечено также заметное (в 1,2–1,8 раза) снижение активности трансаминаз, более выраженное к 5-м суткам. Furthermore, within the same period there was was also a significant (1.2-1.8 times) decrease in transaminase activity, more evident by day 5.Уровень АЧТВ претерпевал небольшие и статистически незначимые изменения. The change of the APTT level was not statistically significant. В то же время у пациентов группы сравнения отмечался явный регресс основных биохимических и гемостазиологических показателей со сдвигом исследуемых параметров в неблагоприятную сторону на 17,8–103%, что свидетельствовало о прогрессировании полиорганной недостаточности.At the same time, in the control group of patients we observed a clear regression of the basic biochemical and hemostasis parameters with the unfavorable shift of investigated parameters to 17.8-103%, which indicated the progress of multiple organ failure.

*Таблица 2* *Table 2*

**Динамика изменений биохимических показателей в** **Changes in biochemical parameters inгруппах пациентов с септическим шоком** **groups of patients with septic shock**

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Исследуемый показатель, (норма) Parameter (normal) | Группы больных Groups of patients | До Before  гемосорбции hemosorption | 1-е сут Day 1 | 3-е сут Day 3 | 5-е сут Day 5 |
| Общий белок, г/л (64–83) Total protein, g/l (64-83) | Основная Primary | 55,5±1,5 55.5±1.5 | 58,3±2,1 58.3±2.1 | 58,5±2,5 58.5±2.5 | 61,2±3,2 61.2±3.2 |
| Сравнения Control | 55,2±1,0 55.2±1.0 | 56,4±2,0 56.4±2.0 | 54,2±1,5 54.2±1.5 | 52,1±1,5 52.1±1.5 |
| Альбумин, г/л (35–50) Albumin, g/l (35-50) | Основная Primary | 29,8±2,1 29.8±2.1 | 29,3±1,5 29.3±1.5 | 28,3±1,4 28.3±1.4 | 30,8±2,1 30.8±2.1 |
| Сравнения Control | 27,4±1,0 27.4±1.0 | 25,3±2,1 25.3±2.1 | 26,1±3,2 26.1±3.2 | 23,8±1,5 23.8±1.5 |
| Креатинин, мкмоль/л (45–84) Creatinine, mmol/l (45-84) | ОсновнаяPrimary | 204,9±8,4 204.9±8.4 | 200,9±2,1 200.9±2.1 | 159,1±3,2 159.1±3.2 | 119,8,±9,3 119.8±9.3 |
| Сравнения Control | 210,4±2,1 210.4±21 | 215,2±7,3 215.2±7.3 | 225,3±8,5 225.3±8.5 | 232,3±6,4 232.3±6.4 |
| АЛТ, ед/л (0–31) ALT, units/l (0-31) | Основная Primary | 259,4±6,3 259.4±6.3 | 232,3±6,2 232.3±6.2 | 194,5±4,3 194.5±4.3 | 169,0±8,5 169.0 ± 8.5 |
| Сравнения Control | 249,1±6,7 249.1±6.7 | 259,4±3,2 259.4±3.2 | 293,5±6,3 293.5±6.3 | 380,0±8,5 380.0±8.5 |
| АСТ, ед/л (0–31) AST, units/l (0-31) | Основная Primary | 135,1±10,2 135.1±10.2 | 123,2±9,4 123.2±9.4 | 110,3±8,7 110.3±8.7 | 74,8±11,3\* 74.8±11.3\* |
| Сравнения Control | 135,0±10,4 135.0±10.4 | 146,1±9,8 146.1±9.8 | 167,3±8,7 167.3±8.7 | 274,7±11,2\* 274.7±11.2\* |
| АЧТВ, с (30–40) APTT, sec (30-40) | Основная Primary | 40,5±5,5 40.5±5.5 | 40,2±4,3 40.2±4.3 | 39,7±3,6 39.7±3.6 | 35,5±6,3 35.5±6.3 |
| Сравнения Control | 49,5±5,4 49.5±5.4 | 55,4±6,4 55.4±6.4 | 64,3±6,5 64.3±6.5 | 73,4±6,5 73.4±6.5 |

Примечания: \* – статистическая значимость отличий по отношению к досорбционным данным при уровне значимости *р* <0,05. Notes: \* — statistically significant differences with respect to pre-sorption levels at a significance level of *p* <0.05.АЛТ — аланинаминотрансфераза; ALT — alanine aminotransferase; АСТAST — аспартатаминотрансфераза;— aspartate transaminase; APTT — activated partial thromboplastin time

In patients who didn't undergo the complex therapy with an anti-LPS hemosorbent, respiratory failure grew. Hemoglobin saturation in this group ranged within 76-85%, which required to increase the concentration of oxygen in the inspired gas up to 80% or more.

Worsening multiple organ failure and recurrent arrosive bleeding from parapancreatic fat area caused the death of 16 patients in this group. The remaining patients were transferred to the Department of Septic Surgery. Nevertheless, only 12 patients were discharged. Thus, the overall mortality rate was 70%.

It should be emphasized that the severity and persistence of the hemosorption therapeutic effect performed in each case differed sharply. Normally, in young patients with no severe multiple organ failure hemodynamic stabilization was distinctive and sustainable. At the same time, those with greater impairement of homeostasis (associated with a long-term multi-organ failure, when elimination of the infection source (purulent parapancreatitis) was impossible) the therapeutic effect was poor and unstable. It required inclusion of multiple hemosorption detoxification into the complex therapy performed at short intervals. In some cases, patients required 5 or more procedures with this hemosorbent to achieve stabilization of functional and metabolic abnormalities.

Twice performed hemosorption using the developed hemosorbent led to stabilization of functional and metabolic abnormalities in 9 patients of the primary group. This allowed them to be transfered to the surgical department. In 34 patients of the primary group, hemodynamic stabilization made ​​it possible to reduce the dose of sympathomimetics. However, grave violations of hemodynamics in the post-sorption period grew again, requiring repeated hemosorption (6-8 sessions). In 4 patients, the complex therapy according to the proposed scheme did not result in a noticeable effect, and they died with symptoms of increasing organ failure in the emergency department and intensive care units. The other patients were transferred to the Department of Septic Surgery. However, 16 patients were discharged, while 14 patients died due to the ongoing purulent inflammation in the parapancreatic tissue, arrosive bleeding and external intestinal fistulas. The overall mortality rate in this group was 41.9% and significantly differed from those of the control group (*p* <0.05), being 1.7 times less.

Thus, taking into account peculiarities of the pathological process, anti-LPS hemosorbents are safe and effective in the treatment of septic shock of various origins, which in most cases leads to a decrease in the severity of hemodynamic disorders and clinical manifestations of systemic inflammatory response syndrome. Inclusion of anti-LPS hemosorbent into the treatment of septic shock of various origins should be performed if values, indicating the presence of sepsis grow, and in the presence of a source of gram-negative flora, preferably before the development of septic shock.

References

1. Hanasawa K., Tani Т., Kodama M. New approach to endotoxic and septic shock by means of polymyxin В immobilized fiber. *Surg Gynecol Obstet.* 1989; 168: 323–331.

2. Kushi H., Miki T., et al. Hemoperfusion wiyh an immobilized Polymyxin-B column reduces the blood level of Neutrophil elastase. *Blood Purification.* 2006; 24: 212–217.

3. Vvedenskiy D.V., Kirkovskiy V.V., Golubovich V.P., et al. Klinicheskaya effektivnost’ biospetsificheskogo gemosorbenta Liposorb [Clinical efficacy of biospecifics hemosorbent “Liposorb”. *Vestnik RAMN*. 2009; 10: 40–43. (In Russian).

4. Zavada N.V., Gain Yu.M., Alekseev S.A. *Khirurgicheskiy sepsis* [Surgical sepsis]. Minsk: Novoe znanie Publ., 2003. 237 p. (In Russian).

5. Gapanovich V.N., Kirkovskiy V.V., Tret’yak D.S., et al. Antilipopolisakharidnyy gemosorbent na osnove sshitogo polimiksina Soobshchenie 1 [Antilipopolysaccharide hemosorbent based crosslinked polymyxin. Message 1]. *Voennaya meditsina.* 2012; 3: 98–102. (In Russian).

6. Gapanovich V.N., Kirkovskiy V.V., Tret’yak D.S., et al. Antilipopolisakharidnyy gemosorbent na osnove sshitogo polimiksina Soobshchenie 2 [Antilipopolysaccharide hemosorbent based crosslinked polymyxin. Message 2]. *Voennaya meditsina.* 2013; 2: 92–96. (In Russian).

7. Kirkovskiy V.V., Lobacheva G.A., Tret’yak D.S. Sorbtsionnye metody korrektsii gomeostaza [Sorption methods of correction of homeostasis]. *Materiály IX mezinárodní vědecko — praktická konference «Věda a vznik – 2012/2013»* [Science and creation: materials of the IX Intern. scientific.-practical. сonf.] Czech Republic, Prague, December 27, 2012—January 05, 2013. Praha: Education and Science, 2012–2013. 77.

8. Kirkovskiy V.V. *Fiziko-khimicheskie metody korrektsii gomeostaza* [Physico-chemical methods of correction of homeostasis]. Moscow: Russkiy vrach Publ., 2012. 9–48, 147–182. (In Russian).

9. Kirkovskiy, V.V. *Detoksikatsionnaya terapiya pri peritonite* [Detoxification therapy for peritonitis]. Minsk: Polifakt-Al’fa Publ., 1997. 12. (In Russian).

10. Savel’eva V.S., Gel’fanda B.R., eds. *Sepsis v nachale XXI veka* [Sepsis in the early XXI century]. Moscow: Litera Publ., 2006. 176 p. (In Russian).

11. Vatazina A.V., ed. *Selektivnaya adsorbtsiya endotoksina gramotritsatel’nykh bakteriy pri khirurgicheskom sepsise* [Selective adsorption of endotoxin of gram-negative bacteria in the surgical sepsis]. Moscow: Izd-vo I.V. Balabanova Publ., 2011. 131 p. (In Russian).

12. 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. 83–90.

13. Cavaillon, J.M. Polymyxin B for endotoxin removal in sepsis. *Lancet Infect Dis*. 2011; 11 (6): 426–427.

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; 167: 119–125.

15. Sato K., Maekawa H., Sakurada M., et al. Direct hemoperfusion with polymyxin B immobilized fiber for abdominal sepsis in Europe. *Surg Today.* 2011; 41 (6): 754–760.

16. Cruz D.N., Perazella M.A., Bellomo R., et al. Effectiveness of polymyxin B-immobilized fiber column in sepsis: a systematic review. *Critical Care.* 2007; 11(2): R47.

17. Suzuki H., Nemoto H., Nakamoto H., et al. Continuous hemodiafiltration with polymyxin В immobilized fiber is effective in patients with sepsis syndrome and acute renal failure. *Ther Apher.* 2002; 6 (3): 234–240.

18. Ono S., Tsujinomoto H., Matsumoto A., et al. Modulation of human leukocyte antigen-DR on monocytes and CD16 on granulocytes in patients with polymyxin В immobilized fiber. *Am J Surg.* 2004; 188 (2): 150–156.

19. Tani T., Hanasawa K., Kodama M., et al. Correlation between plasma endotoxin, plasma cytokines, and plasminogen activator inhibitor-1 in septic patients. *World J Surg.* 2001;25 (5): 660–668.

20. Nakamura T., Ebihara L., Shoji H., et al. Treatment with polymyxin B-immobilized fiber reduces platelet activation in septic shock patients: decrease in plasma levels of soluble P-selectin, platelet factor-4 and betathromboglobulin. *Inflamm Res.* 1999; 48 (4):171–175.

21. Kirkovskiy V.V., Gapanovich V.N., Vvedenskiy D.V., Starostin A.V. *Sposob profilaktiki septicheskogo shoka* [Method of prevention of septic shock]. Patent Rep. Belarus no. 16257, 05.11.2012. (In Russian).

22. Gapanovich V.N., Bychko G.N., Rasyuk E.D., et al. *Sorbent dlya izvlecheniya iz biologicheskikh zhidkostey bakterial’nykh toksinov i sposob ego polucheniya* [Sorbent for extraction of biological fluids and bacterial toxins and its production method]. Patent Rep. Belarus no. 15108 от 30.12.2011. (In Russian).

23. Bychko G.N., Kirkovskiy V.V., Sedelkina A., et al. Metodika kolichestvennoy otsenki kontsentratsii lipopolisakharidov gramnegativnoy flory [A method of quantitative evaluation of the concentration of lipopolysaccharides of gram-negative flora]. Ekstrakorporal’naya gemokorrektsiya v intensivnoy terapii kriticheskikh sostoyaniy: 6-ya mezhdunar. nauch.-prakt. konf [Blood purification in intensive therapy of critical States: 6th Intern. scientific.-practical. сonf]. Minsk, May 23, 2013. 22-25. (In Russian).

Article received on 24 July, 2015

For correspondence:

Irina Gennadyevna Kolesnikova,

Intensivist of Republic Center for Urgent Medical Care

Junior research scientist of the Belarusian Medical University,

Minsk, the Republic of Belarus

e-mail: klsnk\_a@tut.by