

DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2024.149.2>**ИЗБИРАТЕЛЬНОЕ УДАЛЕНИЕ ИЗ СИСТЕМНОГО КРОВОТОКА АКТИВИРОВАННЫХ НЕЙТРОФИЛОВ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ПОЛИМИКСИНОВОЙ СОРБЦИИ У БОЛЬНЫХ СЕПСИСОМ: ПРОСПЕКТИВНОЕ КОГОРТНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ**

Научная статья

Ушакова Н.Д.^{1,*}, Франциянц Е.М.², Скопинцев А.М.³, Горошинская И.А.⁴, Черярина Н.Д.⁵¹ORCID : 0000-0002-0068-0881;²ORCID : 0000-0003-3618-6890;³ORCID : 0000-0001-8834-4817;⁴ORCID : 0000-0001-6265-8500;⁵ORCID : 0000-0002-3711-8155;^{1, 2, 3, 4, 5} Национальный медицинский исследовательский центр онкологии, Ростов-на-Дону, Российская Федерация

* Корреспондирующий автор (ndu2000[at]rambler.ru)

Аннотация

Нейтрофилы (НФ) играют особую роль в развитии инфекционного процесса. Чрезмерная активность нейтрофилов в системном кровотоке, несоответствующая активация и размещение их в пределах микроциркуляторного русла играет важную роль в инициации полиорганной недостаточности. Нивелирование взаимодействия активированных нейтрофилов с сосудистой стенкой может быть перспективным направлением терапевтического поиска в лечении сепсиса, в том числе с применением экстракорпоральных методик.

Цель исследования: оценить избирательность воздействия полимиксиновой сорбции в отношении активированных нейтрофилов у больных сепсисом.

Полимиксиновая сорбция была включена в лечение 12 больных, подвергнутых обширным хирургическим вмешательствам по поводу злокачественных новообразований, течение послеоперационного периода которых осложнилось развитием сепсиса. Диагностику сепсиса проводили в соответствии с критериями SEPSIS-3. Изучали компоненты перекисного окисления липидов в НФ: диеновых конъюгатов, малонового диальдегида и антиоксидантной системы: супероксиддисмутазы, суммарной пероксидазной активности, глутатионпероксидазы и восстановленного глутатиона. Точки исследования – до, через 30 минут после сорбции, в промывных водах после отмыывания картриджа по завершению гемоперфузии. Фиксацию НФ на полимиксиновых волокнах картриджа оценивали путем микроскопического исследования с окрашиванием препаратов гематоксилином-эозином при увеличении в 600 раз. Статистическую обработку данных проводили с использованием программы Statistica 10.

При морфологическом исследовании на волокнах картриджа регистрировали большое количество палочкоядерных нейтрофилов. Выявили, что подверженные сорбции клетки были представлены наиболее активной их субпопуляцией. Для клеток в пробах из промывных вод был характерен значительно более выраженный дисбаланс активности процессов перекисного окисления липидов и снижения защитных реакций со стороны антиоксидантных систем относительно НФ в пробах крови до и после сорбции. Особенно выраженным был дисбаланс между 2,2-кратным увеличением концентрации первичных продуктов перекисного окисления липидов, 1,4-кратным повышением концентрации малонового диальдегида 2,5-кратным снижением активности супероксиддисмутазы. При этом коэффициент соотношения активности супероксиддисмутаз к суммарной пероксидазной активности был снижен до 5,3 против 22,7 в НФ крови до сорбции.

Выводы: Проведение у больных сепсисом полимиксиновой сорбции обеспечивает продуктивность избирательного удаления из системного кровотока пула наиболее активированных нейтрофилов, что вносит определенный вклад в органопротективное воздействие сорбционного лечения.

Ключевые слова: сепсис, полимиксиновая сорбция, активированные нейтрофилы.

SELECTIVE REMOVAL OF ACTIVATED NEUTROPHILS FROM THE SYSTEMIC BLOODSTREAM DURING POLYMYXIN SORPTION IN SEPTIC PATIENTS: A PROSPECTIVE COHORT STUDY

Research article

Ushakova N.D.^{1,*}, Frantsiyants Y.M.², Skopintsev A.M.³, Goroshinskaya I.A.⁴, Cheryarina N.D.⁵¹ORCID : 0000-0002-0068-0881;²ORCID : 0000-0003-3618-6890;³ORCID : 0000-0001-8834-4817;⁴ORCID : 0000-0001-6265-8500;⁵ORCID : 0000-0002-3711-8155;^{1, 2, 3, 4, 5} National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation

* Corresponding author (ndu2000[at]rambler.ru)

Abstract

Neutrophils (NP) play a special role in the development of the infectious process. Excessive activity of neutrophils in the systemic bloodstream, mismatched activation and their location within the microcirculatory channel plays an important role in

the initiation of multi-organ failure. Levelling the interaction of activated neutrophils with the vascular wall can be a promising direction of therapeutic search in the treatment of sepsis, including the use of extracorporeal techniques.

Research objective: To evaluate the selectivity of the effects of polymyxin sorption against activated neutrophils in septic patients.

Polymyxin sorption was included in the treatment of 12 patients undergoing extensive surgical interventions for malignant neoplasms, the course of the postoperative period of which was complicated by the development of sepsis. Diagnosis of sepsis was carried out according to SEPSIS-3 criteria. The components of lipid peroxidation in NP were studied: diene conjugates, malonic dialdehyde and antioxidant system: superoxide dismutase, total peroxidase activity, glutathione peroxidase and reduced glutathione. Research points – before, 30 minutes after sorption, in wash waters after cartridge washing at the end of haemoperfusion. Fixation of NP on polymyxin fibres of the cartridge was evaluated by microscopic examination with staining of preparations with haematoxylin-eosin at a magnification of 600 times. Statistical processing of data was performed using Statistica 10 software.

In morphological study, numerous neutrophils were registered on the cartridge fibres. It was found that the cells subjected to sorption were represented by their most active subpopulation. The cells in samples from washing water were characterized by a much more pronounced imbalance in the activity of lipid peroxidation processes and reduction of protective reactions on the part of antioxidant systems relative to NP in blood samples before and after sorption. Especially pronounced was the imbalance between 2.2-fold increase in the concentration of primary products of lipid peroxidation, 1.4-fold increase in the concentration of malonic dialdehyde and 2.5-fold decrease in the activity of superoxide dismutase. The ratio of superoxide dismutase activity to total peroxidase activity was reduced to 5.3 versus 22.7 in blood NP before sorption.

Conclusions: Carrying out polymyxin sorption in sepsis patients provides productivity of selective removal of the pool of the most activated neutrophils from the systemic bloodstream, which makes a certain contribution to the organoprotective effect of sorption treatment.

Keywords: sepsis, PMX, activated neutrophils.

Введение

В соответствии с современными представлениями, сформулированными в результате работы 3-й консенсусной целевой рабочей группы экспертов Society of Critical Care Medicine и European Society of Intensive Care Medicine (Sepsis-3), сепсис определяется как тяжелый клинический синдром с угрожающей жизни органной дисфункцией, причиной которой является дисрегуляторный ответ организма на инфекцию. Дисбаланс реакции иммунной системы, утрачивающей в этом случае защитные функции, может в итоге приводить к повреждению органов и тканей [1]. По объединенным данным экспертов Питтсбургского и Вашингтонского университетов сепсис ежегодно диагностируется у 48,9 млн человек и является причиной смерти 11,0 млн больных, что составляет 19,7% всех случаев смерти в мире [2], [3].

На клеточном уровне сепсис – это непрерывно развивающийся патологический процесс, сопровождающийся нарушениями гомеостаза, как следствие неконтролируемого каскада изменений, одновременно происходящих в системах воспаления, коагуляции и фибринолиза. Это цикл автоматического наложения взаимообусловленных процессов с нарушениями микроциркуляции, тканевой оксигенации, развитием метаболических расстройств и митохондриальной дисфункции. В результате уникальной комбинации клеточных, метаболических, сосудистых и воспалительных нарушений формируются органные дисфункции с исходом в полиорганную недостаточность [4].

Нейтрофилы (НФ) играют особую роль в развитии инфекционного процесса. Их защитная роль связана с наличием большого количества протеолитических ферментов, быстрой продукцией медиаторов воспаления и активных форм кислорода в очаге воспаления. Активация НФ в системном кровотоке инициирует развитие системной воспалительной реакции. Это сопровождается секвестрацией НФ в микроциркуляторном ложе, связыванием со стенкой кровеносных сосудов, высвобождением протеолитических ферментов, чрезмерной и неконтролируемой продукцией медиаторов воспаления с последующим повреждением эндотелиальных клеток, повышением проницаемости сосудов, развитием диссеминированной внутрисосудистой коагуляции, тканевой гипоперфузии, гипоксии, нарушением тканевого метаболизма путем ингибирования митохондриальных ферментов [5]. Неблагоприятная чрезмерная активность нейтрофилов в системном кровотоке, несоответствующая активация и размещение их в пределах микроциркуляторного русла может быть ключевой стадией в инициации полиорганных нарушений [6], [7], [8], [9]. Таким образом, нивелирование взаимодействия активированных НФ с сосудистой стенкой является перспективным направлением терапевтического поиска в лечении сепсиса, в том числе, с применением экстракорпоральных методик.

В последние десятилетия при лечении сепсиса применяют селективную гемосорбцию липополисахарида, являющегося одной из ключевых сигнальных молекул в патогенезе сепсиса, с использованием картриджа с иммобилизованным полимиксином В (полимиксиновая сорбция, polymyxin sorption – PMX). Вместе с тем в литературе имеются сообщения об избирательной сорбции при проведении PMX активированных нейтрофилов [10], [11], [12], в том числе посредством механизмов, в котором не участвуют липополисахарид и цитокины [13], [14].

Представленные выше данные позволяют предположить, что терапевтическое воздействие PMX при сепсисе помимо удаления эндотоксина включает и другие механизмы, в частности, специфическую сорбцию активированных нейтрофилов, что и определило цель настоящего исследования.

Оценить избирательность воздействия полимиксиновой сорбции в отношении активированных нейтрофилов у больных сепсисом.

Материал и методы

Все больные, включенные в исследование, дали добровольное информированное согласие на проведение экстракорпорального лечения, а также на участие в научном исследовании и публикацию полученных результатов.

Критерии включения: возраст старше 18 лет; клинико-лабораторные критерии сепсиса в условиях хирургической санации очага инфекции; SOFA (*sequential organ failure assessment*) – > 2 баллов, прокальцитонин (PCT) – > 2 нг/мл, при активности эндотоксина по ЕАА-тесту (*endotoxin activity assay*) < 0,5 у.е. Критерии невключения: возраст младше 18 лет; SOFA < 2 баллов, PCT – < 2 нг/мл, ЕАА-тест > 0,5 у.е. РМХ была включена в комплекс интенсивного лечения 12 больным (7 мужчин и 5 женщин) в возрасте от 52 до 74 лет, подвергнутым обширным хирургическим вмешательствам по поводу злокачественных новообразований билиопанкреатодуоденальной области – 4 человека (33%); торакоабдоминальной (пищевод, легкое, бронхи) – 6 человек (50%); почек и забрюшинного пространства – 2 человека (17%), течение послеоперационного периода у которых осложнилось развитием сепсиса.

Диагностику сепсиса проводили в соответствии с консенсусными критериями «The Third International Consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis-3) [1]. Тяжесть органных дисфункций по шкале SOFA составляла более 7 баллов (7; 18). По данным лабораторных исследований концентрация интерлейкина-6 в сыворотке крови составляла более 600 пг/мл (680; 1700), PCT – более 10 нг/мл (11; 56). В целях изучения способности РМХ к липополисахарид-независимой сорбции активированных нейтрофилов в исследование включены случаи её применения у больных только при клинически незначимых уровнях активности эндотоксина, определяемых по результатам ЕАА-теста – менее 0,5 у.е. (0,3; 0,5).

Гемоперфузию проводили на аппарате Plazauto Sigma с использованием картриджа ToraymuXinPMX-20 R со скоростью перфузии 150 мл/мин в течение 4-6 часов. Антикоагуляция – нефракционированный гепарин: наполнение 2 тыс. Ед на 500 мл 0,9% раствора натрия хлорида, болюс – 3 тыс. Ед, поддержание – 20 Ед/кг массы тела/час с коррекцией дозы с учетом активированного времени свертывания 150-180 сек. Уровень тромбоцитов крови во всех описываемых случаях был более $40 \times 10^9/\text{л}$.

Во время проведения полимиксиновой сорбции изучали функциональное состояние нейтрофилов в образцах крови, полученных из системного кровотока до входа в картридж РМХ, через 30 минут после завершения РМХ, а также определяли наличие и функциональные свойства нейтрофилов в промывных водах после завершения гемоперфузии и отмывания картриджа. В целях подтверждения фиксации нейтрофилов на полимиксиновых волокнах картриджа проводили их микроскопическое исследование.

Функциональное состояние нейтрофилов в образцах крови и промывных водах оценивали путем определения показателей внутриклеточных компонентов перекисного окисления липидов: диеновых конъюгатов (ДК), малонового диальдегида (МДА) и ферментативного звена антиоксидантной системы: супероксиддисмутазы (СОД), суммарной пероксидазной активности (СПА), активности глутатионпероксидазы (ГПО) и содержания восстановленного глутатиона (GSH). Для выделения нейтрофилов образцы крови и промывных вод наслаивали на два градиента плотности фиколл-урографина с $\rho=1,077 \text{ г/см}^3$ и $\rho=1,119 \text{ г/см}^3$. После центрифугирования получали кольца лимфоцитов (верхнее) и нейтрофилов (нижнее). Полученные кольца НФ отбирали в чистые центрифужные пробирки и дважды отмывали раствором натрия хлорида 0,9%, центрифугируя по 20 минут при 1500 об/мин. Надосадок сливали, осадок ресуспендировали в 1 мл натрия хлорида 0,9%. Количество клеток подсчитывали в камере Горяева с последующим определением внутриклеточных продуктов перекисного окисления липидов по стандартным методикам [15]. Содержание ДК изучали при длине волны 233 нм на микропланшетном автоматическом анализаторе INFINITE M NANO (Tecan Austria GmbH, Австрия), содержание МДА – методом с тиобарбитуровой кислотой при длине волны 535 нм на двулучевом спектрофотометре U-2900 с программным обеспечением UV Solutions (Hitachi, Япония). Активность СОД определяли по степени ингибирования восстановления нитросинего тетразолия в присутствии супероксидного радикала, генерируемого в реакции восстановления молекулярного кислорода адреналином в щелочной среде при длине волны 540 нм, на спектрофотометре APOL PD-303 UV (Япония). СПА исследовали при длине волны 602 нм по образованию окрашенных продуктов при окислении бензидина перекисью водорода, образуемой в реакции, катализируемой белками с пероксидазной активностью, на спектрофотометре U-2900 (Hitachi, Япония). Активность ГПО определяли при длине волны 412 нм в реакции расщепления гидроперекиси третичного бутила, используя в качестве субстрата восстановленный глутатион; содержание восстановленного глутатиона определяли по реакции с 5,5-дитиобис(2-нитробензойной кислотой) при 412 нм, на спектрофотометре U-2900 (Hitachi, Япония). Были использованы реактивы 96-99% чистоты фирм “Sigma-Aldrich” (США), “AppliChem” (Германия), “Fluka” (США). В качестве нормальных величин были приняты значения, полученные у 10 обследованных относительно здоровых людей (5 мужчин и 5 женщин) в возрасте от 48 до 74 лет ($60,9 \pm 2,8$).

После окончания сорбции картридж отмывали холодным 0,9% раствором натрия хлорида в объеме до 2 л со скоростью 150 мл/мин до чистых вод. Затем на фоне встряхивания колонки и создания сопротивления на выходе забирали пробы промывных вод для исследования клеточного состава и внутриклеточного статуса окислительно-восстановительных процессов в выделенных нейтрофилах. Далее производили вскрытие картриджа путем его распиливания и выделения участков с иммобилизованными волокнами полимиксина В с последующим изготовлением микропрепаратов. Образец проводили по методике изготовления гистологических срезов по общепринятой методике. Фиксировали в 10% растворе нейтрального забуференного формалина в течение 24 часов. Обезвоживание осуществляли в растворах этанолового спирта восходящей концентрации в течение 12 часов в гистопроцессоре Leica ASP 200. Затем проводили заливку в парафин. Парафиновые срезы депарафинировали и в дальнейшем окрашивали гематоксилином и эозином стандартным способом. Оценивали результаты на уровне световой микроскопии.

3.1. Статистический анализ

Результаты исследования были обработаны при помощи программы Statistica 10 по критерию Стьюдента для двух независимых выборок и непараметрическому критерию Вилкоксона-Манна-Уитни. Анализ индивидуальной направленности изменений проводили методом парных сравнений. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Проверку выборок на соответствие нормальному распределению проводили по критерию Колмогорова-Смирнова и W-критерию Шапиро-Уилка. Поскольку в большинстве случаев распределение было близко к

нормальному, результаты представлены в виде $M \pm t$, где M – выборочное среднее, t – ошибка среднего. Медиана (Me) во всех группах практически не отличалась от M , а интерквартильный разброс приведен в виде подсчета нижнего и верхнего квартилей: (Q_{25} и Q_{75}).

Результаты исследования

При морфологическом исследовании волокон картриджа с иммобилизованным полимиксином В выявили большое количество клеточных элементов, которые были представлены нейтрофилами (Рис.1). Все клетки имели типичную для незрелых (палочкоядерных) нейтрофилов форму ядра (неправильное подковообразное). Зачастую ядро клетки было сильно фрагментированным, что характерно для «стареющих» форм, не подверженных апоптозу. В некоторых микропрепаратах присутствовали единичные лимфоциты. Других клеток крови не регистрировали. Морфологическая картина во всех 12 случаях была идентична.

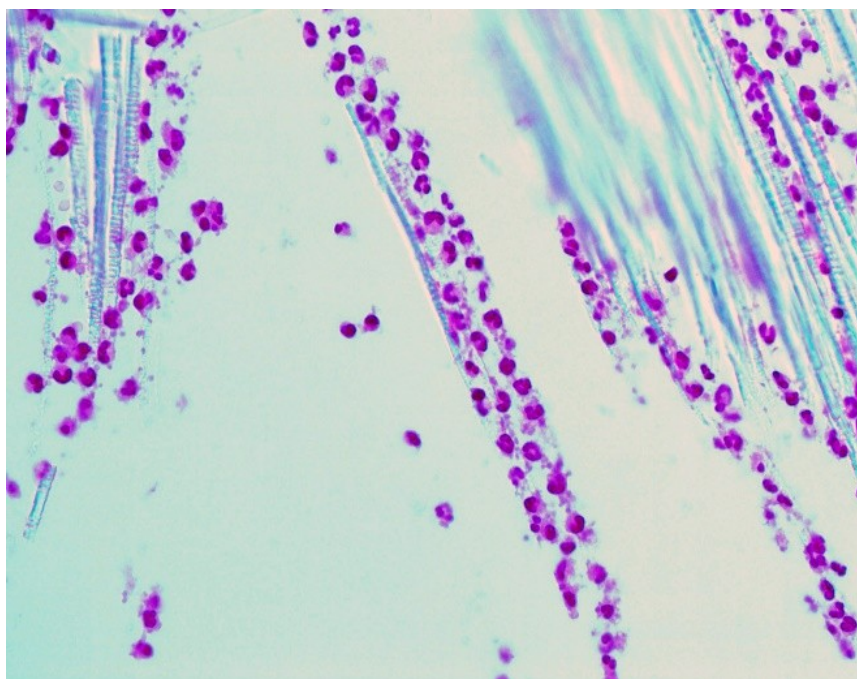


Рисунок 1 - Морфологическое исследование волокон картриджа с иммобилизованным полимиксином В
DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2024.149.2.1>

Примечание: окраска гематоксилином-эозином, увеличение $\times 600$

Результаты исследования компонентов перекисного окисления липидов и ферментативного звена антиоксидантной системы в нейтрофилах, выделенных из образцов крови, полученной из системного кровотока до входа в картридж, через 30 минут после завершения РМХ, и далее в промывных водах после завершения гемоперфузии и отмывания картриджа, представлены в таблице.

Таблица 1 - Показатели компонентов перекисного окисления липидов и ферментативного звена антиоксидантной защиты в нейтрофилах крови до, через 30 минут после завершения РМХ и в промывных водах после отмывания РМХ-картриджа

DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2024.149.2.2>

Показатели, ед. изм-я	Здоровые люди (n=10)	До РМХ (n=12)	Через 30 минут после РМХ (n=12)	В промывных водах (n=12)
ДК, мкмоль/мл суспензии	1,381±0,153 1,385 [1,24;1,8]	2,783±0,464 2,31 [1,93; 3,88] $p_i=0,010165$	1,347±0,169 1,305 [1,02; 1,48] $p_i>0,1$ $p_{нар.}=0,009785$	6,108±0,58 6,36 [4,76; 7,43] $p_i=0,000000$ $p_2=0,000292$ $p_3=0,000000$
МДА, нмоль/мл суспензии	1,899±0,166 1,855 [1,54;2,43]	2,76±0,321 2,42 [2,05; 3,58] $p_i=0,028659$	1,901±0,289 1,665 [1,15; 2,82] $p_i>0,1$	3,956±0,581 3,71 [2,18; 5,12] $p_i=0,003175$

			$p_{нар.}=0,011934$	$p_2=0,088588$ $p_3=0,005365$
СОД, ед.акт./мг белка	3,749±0,301 3,525[3,28;3,83]	4,384±0,382 4,552[3,41;5,56]	5,294±0,468 5,743 [4,29; 6,31] $p_1=0,012428$ $p_{нар.}=0,010954$	1,773±0,151 1,773 [1,47; 2,07] $p_1=0,000028$ $p_2=0,000012$ $p_3=0,000003$
СПА, ед.акт./мг белка	0,152±0,016 0,155[0,11;0,19]	0,193±0,023 0,205[0,13;0,25]	0,266±0,029 0,26 [0,19; 0,33] $p_1=0,003218$ $p_{нар.}=0,011054$	0,334±0,027 0,31 [0,26; 0,40] $p_1=0,000020$ $p_2=0,001041$
GSH, мкмоль/мг белка	35,04±2,13 33,47 [30,76; 39,33]	24,62±2,95 24,69 [16,96; 27,79] $p_1=0,010244$	33,97±2,63 30,7 [26,65;43,93] $p_{нар.}=0,003083$	24,4±3,28 18,99[16,68;33,45] $p_1=0,014027$ $p_3=0,035142$
ГПО, МЕ/мг белка	133,1±14,6 123,5 [92,99; 167,2]	131,5±17,8 105,9 [83,77; 194,2]	83,73±15,98 78,74 [34,96;136,06] $p_1=0,034880$ $p_{нар.}>0,1$	61,95±13,93 60,15[19,61;82,48] $p_1=0,002399$ $p_2=0,065080$

Примечание: p_1 – по отношению к здоровым людям (T-Test для независимых данных); $p_{нар}$ – между до и после РМХ (T-Test для зависимых данных); p_2 и p_3 – в промывных водах по отношению к показателям в крови до и после РМХ (T-Test для независимых данных)

Аббревиатуры: ДК – диеновые конъюгаты, МДА – малоновый диальдегид, СОД – супероксиддисмутаза, СПА – суммарная пероксидазная активность, GSH – содержание восстановленного глутатиона, ГПО – глутатионпероксидаза.

Анализ результатов исследования показал, что в образцах крови до входа в картридж РМХ содержание компонентов перекисного окисления липидов в НФ было существенно выше, чем у здоровых людей: содержание ДК было выше в 2 раза ($p=0,01$), концентрация МДА — в 1,5 раза ($p=0,03$). При этом наблюдали неадекватный ответ со стороны ферментов первой линии антиоксидантной защиты и глутатионовой системы, который характеризовался отсутствием роста активации СОД и СПА, а также снижением содержания глутатиона в 1,4 раза ($p=0,01$). При этом активность ГПО, как основного глутатионзависимого антиоксидантного фермента, статистически значимых отличий от нормальных значений не имела.

При исследовании промывных вод выявили присутствие в них НФ, в некоторых образцах встречались единичные лимфоциты, наличие других клеток крови не фиксировали. При биохимическом исследовании функционального состояния в выделенных НФ отмечали более высокую активность процессов гиперпероксидации относительно исхода. Содержание обоих продуктов перекисного окисления липидов превышало результаты, полученные в пробах крови: уровень ДК был выше в 2,2 раза ($p=0,000$), а концентрация МДА — на уровне тенденции к значимости в 1,4 раза ($p=0,089$). При этом активность СОД в НФ промывных вод была ниже, чем в крови, в 2,5 раза ($p=0,000$), но СПА, напротив, выше в 1,7 раза ($p=0,001$). Статистически значимых изменений показателей глутатионовой системы не выявили.

В пробах крови через 30 минут после завершения гемоперфузии регистрировали нормализацию показателей перекисного окисления липидов в НФ. Это было связано с более низкими значениями ДК и МДА по сравнению с образцами крови до начала РМХ: в 2,1 и в 1,5 раза соответственно ($p=0,01$). При этом активность СОД и СПА была выше в 1,2 и 1,4 раза соответственно ($p=0,01$), существенно превышая, в том числе, и нормальные значения. При парном сравнении активности ГПО значимых отличий не было, а содержание GSH превышало показатели по сравнению с образцами крови до входа в картридж РМХ в 1,4 раза ($p=0,003$).

Обсуждение

Полученные данные морфологического исследования свидетельствуют об избирательной фиксации незрелых форм нейтрофилов на волокнах картриджа с иммобилизованным полимиксином В. Известно, что нейтрофилы, в том числе циркулирующие в системном кровотоке, функционально не являются гомогенными. Они состоят из субпопуляций с определенными фенотипическими и секреторными параметрами и существуют в трех состояниях: покой, возбуждение и активация. Следует отметить, что только пул активированных НФ предрасположен к эндотелиальному взаимодействию, инициирующему развитие эндотелиальной дисфункции.

Нами впервые было проведено исследование функциональных свойств экстракорпорально удаляемых нейтрофилов при проведении РМХ, результаты которого указывают на специфичность воздействия полимиксиновой сорбции именно в отношении активированных НФ. Так, для клеток, «выдавленных» с волокон картриджа (промывные воды), был характерен значительно более выраженный дисбаланс активности процессов пероксидации липидов и

снижения защитных реакций со стороны антиоксидантных систем по сравнению с нейтрофилами в пробах крови из системного кровотока, полученных перед входом в картридж РМХ. Особенно выраженным оказался дисбаланс между 2,2-кратным увеличением концентрации первичных продуктов перекисного окисления липидов, 1,4-кратным повышением концентрации МДА и 2,5-кратным снижением активности СОД. Это сопровождалось нарушением соотношения между активностью сопряженных ферментов первой линии антиоксидантной защиты. Наблюдали снижение коэффициента отношения СОД/СПА до 5,3 тогда как в нейтрофилах в пробах крови этот коэффициент составлял 22,7.

Нейтрофилы крови через 30 минут после завершения полимиксиновой сорбции отличало более стабильное и сбалансированное течение окислительно-восстановительных реакций как по сравнению с клетками, фиксируемыми на волокнах картриджа с иммобилизованным полимиксином В, так и в сравнении с НФ крови до РМХ, на что указывала нормализация внутриклеточной интенсивности процессов гиперпероксидации липидов и содержания восстановленного глутатиона.

Результаты представленного исследования отчетливо демонстрируют продуктивность избирательного удаления из системного кровотока больных сепсисом пула нейтрофилов, активация которых играет ключевую роль в инициации эндотелиальной дисфункции с последующим развитием органических и системных повреждений (Рис. 2).

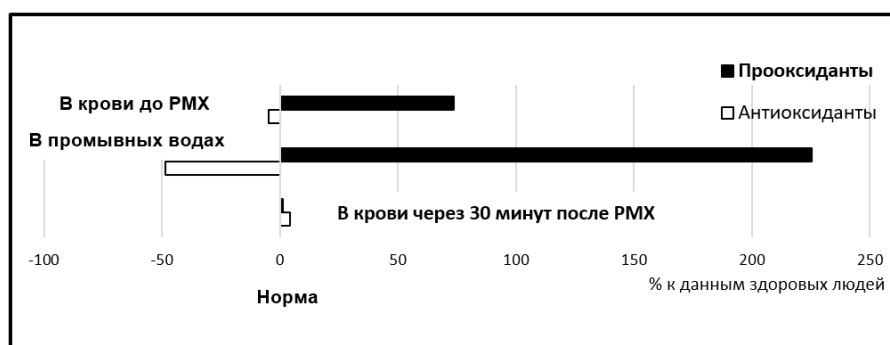


Рисунок 2 - Схема внутриклеточного баланса прооксиданты/антиоксиданты в нейтрофилах в исследуемых пробах исследования

DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2024.149.2.3>

Полученные результаты согласуются с данными японских авторов об избирательной связывающей способности РМХ в отношении клеток моноцитарно-макрофагальной системы крови, в частности активированных нейтрофилов [11], [12], [13]. Механизмы адсорбции НФ на картридже РМХ до конца не ясны. Некоторые исследователи связывают это с возможным «налипанием» НФ к липополисахариду клеточной мембраны грамотрицательных микроорганизмов, селективно сорбируемому данным устройством для экстракорпорального лечения. Однако следует отметить, что в нашем исследовании у больных, которым проводили полимиксиновую сорбцию, активность эндотоксина была клинически незначимой (ЕАА-тест <0,5 у.е.). Косвенно, наличие, в том числе и липополисахарид-независимой аффинности картриджа с иммобилизованным полимиксином В по отношению к активированным нейтрофилам подтверждает опубликованное в 2016 году исследование японских авторов, в котором отмечено повышение выживаемости больных при обострении неклассифицированной идиопатической интерстициальной пневмонии и идиопатическом легочном фиброзе, в патогенезе которых немаловажную роль играет инфильтрация легочной ткани активированными нейтрофилами [13].

Выявленные нами отличия в характере течения процессов перекисного окисления липидов в НФ крови и промывных водах на фоне проведения РМХ позволяют предположить сродство клеточной мембраны активированных нейтрофилов к полимиксину В, аналогично тому, как липид А липополисахарида связывается с полимиксином В, поскольку интенсивность внутриклеточной активации процессов пероксидации при истощении факторов антиоксидантной защиты неизбежно приводит к изменению структуры и разрыхлению липидного слоя клеточной мембраны, изменению ее проницаемости, потенциала, и, соответственно, заряда.

Заключение

Полученные данные расширяют представление о механизмах положительного влияния РМХ на характер течения септического процесса. Можно предположить, что продуктивность экстракорпорального удаления активированных нейтрофилов из системного кровотока может уменьшить выраженность системной воспалительной реакции и вносит определенный вклад в органопротективное воздействие сорбционного лечения у больных сепсисом.

Конфликт интересов

Не указан.

Рецензия

Сообщество рецензентов Международного научно-исследовательского журнала

DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2024.149.2.4>

Conflict of Interest

None declared.

Review

International Research Journal Reviewers Community

DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2024.149.2.4>

Список литературы / References

1. Singer M. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3) / M. Singer, C.S. Deutschman, C.W. Seymour [et al.] // JAMA. — 2016. — Vol. 315, № 8. — P. 801–810. — DOI:10.1001/jama.2016.0287.
2. Rudd K.E. Global, regional, and national sepsis incidence and mortality, 1990–2017: analysis for the Global Burden of Disease Study / K.E. Rudd, S.C. Johnson, K.M. Agesa [et al.] // Lancet. — 2020. — Vol. 395, № 10219. — P. 200–211. — DOI:10.1016/S0140-6736(19)32989-7.
3. MacPhail A. Sepsis mortality among patients with haematological malignancy admitted to intensive care 2000–2022: a binational cohort study / A. MacPhail, C. Dendle, M. Slavin [et al.] // Crit Care. — 2024. — Vol. 28, № 1. — P. 148. — DOI:10.1186/s13054-024-04932-0.
4. Chousterman B.G. Cytokine storm and sepsis disease pathogenesis / B.G. Chousterman, F.K. Swirski, G.F. Weber // Semin Immunopathol. — 2017. — Vol. 39, № 5. — P. 517–528. — DOI: 10.1007/s00281-017-0639-8.
5. Zhang H. Neutrophil, neutrophil extracellular traps and endothelial cell dysfunction in sepsis / H. Zhang, Y. Wang, M. Qu [et al.] // Clin Transl Med. — 2023. — Vol. 13, № 1. — P. e1170. — DOI:10.1002/ctm2.1170.
6. Front M.D. Sepsis and Septic Shock Basics of diagnosis, pathophysiology and clinical decision-making / M.D. Front, B. Thyagarajan, A.K. Khanna // Med Clin North Am. — 2020. — Vol. 104, № 4. — P. 573–585. — DOI:10.1016/j.mcna.2020.02.011.
7. Denning N.L. DAMPs and NETs in Sepsis / N.L. Denning, M. Aziz, S.D. Gurien [et al.] // Front Immunol. — 2019. — Vol. 10. — P. 2536. — DOI:10.3389/fimmu.2019.02536.
8. Wang X. New strategy for sepsis: Targeting a key role of platelet-neutrophil interaction / X. Wang, W. Qin, B. Sun // Burns Trauma. — 2014. — Vol. 2, № 3. — P. 114–120. — DOI:10.4103/2321-3868.135487.
9. Islam M.M. Role of Neutrophil Extracellular Traps in Health and Disease Pathophysiology: Recent Insights and Advances / M.M. Islam, N. Takeyama // Int J Mol Sci. — 2023. — Vol. 24, № 21. — P. 15805. — DOI:10.3390/ijms242115805.
10. Nishibori M. Specific Removal of Monocytes from Peripheral Blood of Septic Patients by Polymyxin B-immobilized Filter Column / M. Nishibori, H.K. Takahashi, H. Katayama [et al.] // Acta Med Okayama. — 2009. — Vol. 63, № 1. — P. 65–69. — DOI:10.18926/AMO/31855.
11. Kumagai T. Apheresis of activated leukocytes with an immobilized polymyxin B filter in patients with septic shock / T. Kumagai, N. Takeyama, T. Yabuki [et al.] // Shock. — 2010. — Vol. 34, № 5. — P. 461–466. — DOI:10.1097/SHK.0b013e3181e14ca0.
12. Gocho T. Removal of Circulating Neutrophil Extracellular Trap Components With an Immobilized Polymyxin B Filter: A Preliminary Study / T. Gocho, H. Mori, M.M. Islam [et al.] // Shock. — 2020. — Vol. 54, № 1. — P. 44–49. — DOI:10.1097/SHK.0000000000001476.
13. Oishi K. Survival from an acute exacerbation of idiopathic pulmonary fibrosis with or without direct hemoperfusion with a Polymyxin B-immobilized fiber column: A Retrospective Analysis / K. Oishi, K. Aoe, Y. Mimura [et al.] // Intern Med. — 2016. — Vol. 55, № 24. — P. 3551–3559. — DOI:10.2169/internalmedicine.55.6056.
14. Katagiri D. Blood perfusion with polymyxin B immobilized columns in patients with COVID-19 requiring oxygen therapy / D. Katagiri, A. Tsukada, S. Izumi [et al.] // Sci Rep. — 2024. — Vol. 14, № 1. — P. 12550. — DOI:10.1038/s41598-024-63330-2.
15. Арутюнян А.В. Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма : методические рекомендации / А.В. Арутюнян, Е.Е. Дубинина, Н.Н. Зыбина. — Санкт-Петербург : ИКФ «Фолиант», 2000. — 104 с.

Список литературы на английском языке / References in English

1. Singer M. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3) / M. Singer, C.S. Deutschman, C.W. Seymour [et al.] // JAMA. — 2016. — Vol. 315, № 8. — P. 801–810. — DOI:10.1001/jama.2016.0287.
2. Rudd K.E. Global, regional, and national sepsis incidence and mortality, 1990–2017: analysis for the Global Burden of Disease Study / K.E. Rudd, S.C. Johnson, K.M. Agesa [et al.] // Lancet. — 2020. — Vol. 395, № 10219. — P. 200–211. — DOI:10.1016/S0140-6736(19)32989-7.
3. MacPhail A. Sepsis mortality among patients with haematological malignancy admitted to intensive care 2000–2022: a binational cohort study / A. MacPhail, C. Dendle, M. Slavin [et al.] // Crit Care. — 2024. — Vol. 28, № 1. — P. 148. — DOI:10.1186/s13054-024-04932-0.
4. Chousterman B.G. Cytokine storm and sepsis disease pathogenesis / B.G. Chousterman, F.K. Swirski, G.F. Weber // Semin Immunopathol. — 2017. — Vol. 39, № 5. — P. 517–528. — DOI: 10.1007/s00281-017-0639-8.
5. Zhang H. Neutrophil, neutrophil extracellular traps and endothelial cell dysfunction in sepsis / H. Zhang, Y. Wang, M. Qu [et al.] // Clin Transl Med. — 2023. — Vol. 13, № 1. — P. e1170. — DOI:10.1002/ctm2.1170.
6. Front M.D. Sepsis and Septic Shock Basics of diagnosis, pathophysiology and clinical decision-making / M.D. Front, B. Thyagarajan, A.K. Khanna // Med Clin North Am. — 2020. — Vol. 104, № 4. — P. 573–585. — DOI:10.1016/j.mcna.2020.02.011.
7. Denning N.L. DAMPs and NETs in Sepsis / N.L. Denning, M. Aziz, S.D. Gurien [et al.] // Front Immunol. — 2019. — Vol. 10. — P. 2536. — DOI:10.3389/fimmu.2019.02536.
8. Wang X. New strategy for sepsis: Targeting a key role of platelet-neutrophil interaction / X. Wang, W. Qin, B. Sun // Burns Trauma. — 2014. — Vol. 2, № 3. — P. 114–120. — DOI:10.4103/2321-3868.135487.

9. Islam M.M. Role of Neutrophil Extracellular Traps in Health and Disease Pathophysiology: Recent Insights and Advances / M.M. Islam, N. Takeyama // *Int J Mol Sci.* — 2023. — Vol. 24, № 21. — P. 15805. — DOI:10.3390/ijms242115805.
10. Nishibori M. Specific Removal of Monocytes from Peripheral Blood of Septic Patients by Polymyxin B-immobilized Filter Column / M. Nishibori, H.K. Takahashi, H. Katayama [et al.] // *Acta Med Okayama.* — 2009. — Vol. 63, № 1. — P. 65–69. — DOI:10.18926/AMO/31855.
11. Kumagai T. Apheresis of activated leukocytes with an immobilized polymyxin B filter in patients with septic shock / T. Kumagai, N. Takeyama, T. Yabuki [et al.] // *Shock.* — 2010. — Vol. 34, № 5. — P. 461–466. — DOI:10.1097/SHK.0b013e3181e14ca0.
12. Gocho T. Removal of Circulating Neutrophil Extracellular Trap Components With an Immobilized Polymyxin B Filter: A Preliminary Study / T. Gocho, H. Mori, M.M. Islam [et al.] // *Shock.* — 2020. — Vol. 54, № 1. — P. 44–49. — DOI:10.1097/SHK.0000000000001476.
13. Oishi K. Survival from an acute exacerbation of idiopathic pulmonary fibrosis with or without direct hemoperfusion with a Polymyxin B-immobilized fiber column: A Retrospective Analysis / K. Oishi, K. Aoe, Y. Mimura [et al.] // *Intern Med.* — 2016. — Vol. 55, № 24. — P. 3551–3559. — DOI:10.2169/internalmedicine.55.6056.
14. Katagiri D. Blood perfusion with polymyxin B immobilized columns in patients with COVID-19 requiring oxygen therapy / D. Katagiri, A. Tsukada, S. Izumi [et al.] // *Sci Rep.* — 2024. — Vol. 14, № 1. — P. 12550. — DOI:10.1038/s41598-024-63330-2.
15. Harutyunyan A.V. Metody ocenki svobodnoradikal'nogo okislenija i antioksidantnoj sistemy organizma: metodicheskie rekomendacii [Methods for assessing free radical oxidation and the antioxidant system of the body : methodological recommendations] / A.V. Harutyunyan, E.E. Dubinina, N.N. Zyбина. — St. Petersburg : IKF "Foliant", 2000. — 104 p. [in Russian]