

## БИОСПЕЦИФИЧЕСКИЕ ГЕМОСОРБЕНТЫ. УСПЕХИ И ПРОБЛЕМЫ

**В.В. Кирковский, И.Г. Колесникова, Г.А. Лобачева, Е.Л. Седёлкина**  
Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь

### BIOSPECIFIC HEMOSORBENTS. THE SUCCESSES AND PROBLEMS

**V.V. Kirkovsky, I.G. Kolesnikova, G.A. Lobacheva, E.L. Sedjolkina**  
Belarusian state medical university, Minsk, The Republic of Belarus

#### РЕЗЮМЕ

Понимание ведущей роли активации системы эндогенного протеолиза при ряде тяжелых заболеваний существовало достаточно давно, была создана и широко применялась большая группа антиферментных препаратов. Учитывая это обстоятельство, был разработан и испытан в клинике гемосорбент, способный избирательно извлекать из крови наиболее значимый при гнойно-септической патологии класс сериновых протеиназ. Характер лечебного действия и состояние некоторых звеньев белкового метаболизма в связи с применением гемосорбции на биоспецифическом антипротеиназном гемосорбенте были изучены в группе пациентов с разлитым гнойным перитонитом аппендикулярного генеза.

#### Ключевые слова:

гемосорбент, перитонит, аппендицит, антипротеиназный гемосорбент, детоксикация.

#### ABSTRACT

Understanding the leading role of the endogenous proteolysis activation in a number of serious diseases has existed for a long time, the large group of antifermental drugs has been created and widely used. The hemosorbent, capable of selectively removing from the blood the most significant class of serine proteases in purulent septic pathology, was developed and tested in the clinic. The nature of the hemosorbents' therapeutic effect and the status of the proteins metabolism certain parts in connection with the application for haemosorption with biospecific antiproteinase hemosorbents has been studied in patients with diffuse purulent peritonitis of appendicular origin.

#### Keywords:

hemosorbent, peritonitis, appendicitis, antiproteinase hemosorbent, detoxification.

АД — артериальное давление  
ГС — гемосорбция  
ГСТ — гемосорбент  
РПП — разлитой гнойный перитонит

ТПА — трипсиноподобная активность  
ЦВД — центральное венозное давление  
ЧД — частота дыхания  
ЧСС — частота сердечных сокращений

#### АКТУАЛЬНОСТЬ

Известно крылатое выражение основоположника медицины Гиппократ «Искусство медицины есть искусство прибавления недостающего и отнятия излишнего, и кто умеет это делать, тот и есть лучший врач, а кто не умеет, тот далек от искусства врачевания». Разработкой методов «прибавления недостающего» традиционно занимаются лучшие умы человечества. В современном мире разрабатываются и внедряются в производство тысячи новых форм лекарственных препаратов. Нерациональное их применение приводит к тяжелым формам полипрагмазии. А если учесть «успехи» современной пищевой промышленности, то в организм современного человека попадает колоссальное количество ксенобиотиков, пути метаболизма которых не всегда достаточно изучены.

В этой связи разработка устройств и методов, обеспечивающих извлечение из крови патогенетически значимых соединений, является задачей исключительно актуальной. Широкое внедрение в лечебную практику методов, способствующих связыванию и ускоренному их транспорту к системе органов биотрансформации и экскреции, позволило резко расши-

рить возможности современной медицины в лечении различных патологических состояний [1]. Их основной патогенетический механизм состоит в избыточном образовании и накоплении в организме или попадании в него извне биологически активных или токсичных субстанций. Таким образом была открыта новая глава медицины — «медицины эфферентной» [2, 3].

Не касаясь методических аспектов других методов, составляющих это направление эфферентной медицины, мы хотели бы остановиться на методиках, обеспечивающих непосредственное извлечение из крови патогенетически значимых соединений с помощью различных гемосорбентов (ГСТ). Так, в конце 70-х годов в Советском Союзе коллективом авторов под руководством академика Ю.М. Лопухина были разработаны и внедрены в широкую клиническую практику методики санации крови с помощью непокрытых угольных ГСТ [4, 5]. Тем не менее, при всех преимуществах этой методики, позволяющей извлекать из крови субстанции с неограниченной молекулярной массой, в том числе и нерастворимые в воде субстанции, эта методика имеет ряд недостатков. Также

в то время стало понятно, что основной механизм лечебного действия этого метода состоит, главным образом, в извлечении из крови каких-то соединений, имеющих косвенное отношение к таким конечным метаболитам, как билирубин, мочевины, креатинин и т.д. Ю.М. Лопухин предложил разрабатывать новые поколения ГСТ, способных извлекать из крови конкретные патогенетически значимые метаболиты или их группу. Этот процесс он назвал «метаболическими ампутациями» [1].

В процессе изучения возможных причин тяжелых функционально-метаболических отклонений при ряде тяжелых заболеваний, в том числе и органов естественной детоксикации (печень и почки), было выяснено, что нелимитированная активация системы эндогенного протеолиза при этой патологии и истощение функционального запаса антипротеолитического потенциала являются не только основной причиной тяжелой дистрофии паренхиматозных органов по причине распада их структурных белков, но и появления в жидкостных средах аномально высоких концентраций продуктов промежуточного обмена белка и его производных. Эти субстанции, по мнению специалистов, занимающихся данной проблемой, обладают самыми разнообразными патобиологическими и токсическими свойствами [2, 3].

Понимание ведущей роли активации системы эндогенного протеолиза при ряде тяжелых заболеваний существовало достаточно давно. Была разработана и широко применялась большая группа антиферментных препаратов. Тем не менее, анализ результатов их применения позволил одному из корифеев отечественной медицины сделать однозначное заключение о том, что надежды на высокую эффективность антиферментных препаратов не оправдались [5].

Учитывая это обстоятельство, нами при сотрудничестве с ИНХС АН СССР и МГУ им. М.В. Ломоносова был разработан и испытан в клинике ГСТ, способный избирательно извлекать из крови наиболее значимый при гнойно-септической патологии класс сериновых протеиназ. В основе концепции создания этого ГСТ лежало использование высокогемосовместимой матрицы из полиакриламидного геля и ковалентно пришитого к ней белка утиных яиц — овомукоида [6, 7].

Полиакриламидный гидрогель не растворяется в воде, однако обладает гидрофильными свойствами и сильно набухает. Он сходен с живыми тканями: эластичен, проницаем для многих молекул и содержит большое количество воды в своем объеме. При перфузии крови через данный ГСТ происходит ее взаимодействие с достаточной биосовместимой поверхностью. В полиакриламидном гидрогеле имеются поры, которые обеспечивают эффективный транспорт извлекаемых субстратов в объем полимера и связывание их овомукоидом (рис. 1).

Иммобилизованный на матрице овомукоид выполняет роль лиганда, избирательно связывающего сериновые протеазы за счет образования с ними прочного комплекса с константой диссоциации порядка  $10^{-10}$  [6].

#### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Характер лечебного действия и состояние некоторых звеньев белкового метаболизма в связи с применением гемосорбции (ГС) на биоспецифическом антипротеиназном ГСТ был изучен в группе пациентов с разлитым гнойным перитонитом (РП) аппендикулярного генеза.

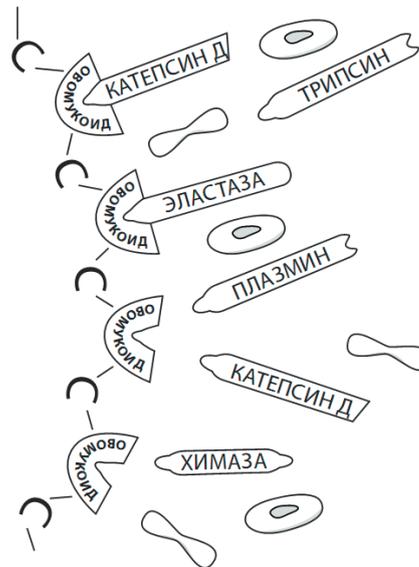


Рис. 1. Принципиальная схема биоспецифического антипротеиназного гемосорбента

В исследование были включены 104 пациента (в возрасте от 18 до 89 лет) с данным осложнением. Всем пациентам проводили медикаментозную терапию на базе отделений интенсивной терапии. У пациентов имели место существенные нарушения сознания, вплоть до делирия, нарушение дыхания, выраженная тахикардия, нестабильность АД (артериального давления) с тенденцией к гипотонии, парез кишечника, проявляющийся картиной динамического илеуса и снижение экскреторной функции почек. Как видно из данных табл. 1, у некоторых пациентов отмечались также лейкоцитоз, ускоренная СОЭ и токсическая зернистость нейтрофилов.

Таблица 1

**Изменения биохимических показателей плазмы крови у больных с разлитым гнойным перитонитом аппендикулярного генеза на фоне комплексной терапии с применением биоспецифического антипротеиназного гемосорбента**

Показатель (норма)	До гемосорбции	После гемосорбции	Через 1 сут после гемосорбции
Общий белок (64–83 г/л)	55,4±2,2	54,4±2,2	55,2±2,0
Альбумин (35–50 г/л)	25,1±1,1	25,8±1,3	23,8±1,4
Фибриноген (2–4 г/л)	4,8±0,8	4,7±0,9	4,6±0,7
Трипсиноподобная активность (16–67 нмоль/(с-л))	28,3±9,4	14,5±2,9*	28,7±16,1*
Плазминоген (80–135%)	185,9±13,5	190,0±16,0	194,0±14,0
Альфа-1-ингибитор протеиназ (5–10 мкмоль/(с-л))	14,9±0,1	15,1±0,8	14,2±2,1
Альфа-2-макроглобулин (0,7–1,2 мкмоль/(с-л))	0,33±0,04	0,34±0,08	0,35±0,06
Продукты деградации фибрина (<100 мкг/мл)	155,0±3,0	130,0±1,0*	112,0±2,0*
Средние молекулы (0,35±0,01 г/л)	1,7±0,15	1,79±0,07	1,28±0,06
Мочевина (4–8,3 ммоль/л)	8,58±0,94	8,28±1,04	7,9±0,9

Примечание: \* – достоверные различия показателей

Перед началом манипуляции пунктировали и катетеризировали одну из центральных вен двухпросвет-

ным катетером. Болюсная гепаринизация включала введение в катетер  $5000 \pm 2500$  МЕ гепарина. При проведении ГС скорость перфузии крови через массообменный модуль в среднем в группе составляла  $60 \pm 10$  мл/мин, длительность процедуры —  $90 \pm 15$  мин. Объем перфузированной крови за одну процедуру ГС был равен  $5400 \pm 120$  мл.

До и после ГС определяли следующие показатели: ЧСС, АД, ЦВД, ЧД, а также количество эритроцитов, лейкоцитов, палочкоядерных нейтрофилов, лимфоцитов, тромбоцитов, температуру тела больного, СОЭ. Оценивали почасовой диурез. Одновременно с этим изучали уровень в крови общего белка, альбумина, фибриногена, мочевины, а также трипсиноподобной активности плазмы, катепсина *D*, плазминогена, прекалликреина, калликреина, альфа-1-ингибитора протеиназ, альфа-2-макроглобулина, продуктов деградации фибрина и средних молекул.

Статистическую оценку результатов исследования проводили с использованием критерия статистической значимости различий по Стьюденту, непараметрического критерия Манна–Уитни, таблиц сопряженности  $2 \times 2$  и критерия  $\chi^2$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Состояние больных перед включением ГС в комплексную терапию оценивали как тяжелое или крайне тяжелое.

Как видно из данных табл. 1, непосредственно после сеанса ГС на Овосорбе отмечали статистически значимое снижение протеаземии, при этом трипсиноподобная активность (ТПА) плазмы снижалась в 2 раза.

Через 1 сут после ГС уровень ТПА плазмы возвращался к досорбционным значениям. При этом содержание ингибиторов протеиназ статистически значимо не изменялось. Исследование активности катепсина *D* в плазме крови у этих больных показало, что уровень его статистически значимо не изменялся к концу 1-й ГС ( $131,8 \pm 19,5$  ЕД), но через сутки статистически значимо снижался по сравнению с досорбционным уровнем ( $153,6 \pm 17,2$  до  $115,0 \pm 12,1$  ЕД). Тенденция к снижению уровня катепсина *D* - кислой лизосомальной пептидгидролазы, не ингибируемой овомукоидом, свидетельствует об уменьшении активации системы тканевого протеолиза в результате элиминации Овосорбом плазменных сериновых протеиназ. Согласно полученным данным, как непосредственно после ГС, так и через 1 сут после ее проведения, количество плазминогена в плазме крови не изменялось. Вместе с тем количество продуктов деградации фибрина, как сразу после ГС на Овосорбе, так и через 1 сут, статистически значимо уменьшалось, при этом содержание  $\alpha$ -1-ИП и  $\alpha$ -2-МГ в плазме оставалось неизменным.

Необходимо также отметить, что сеанс ГС с использованием данного типа сорбента, приводя к нормализации уровня ТПА плазмы и восстановлению ингибиторного потенциала крови, при этом не оказывает непосредственного статистически значимого влияния на концентрацию общего белка, альбумина, мочевины и СМ. Однако через 1 сут после ГС отмечали снижение и последующую постепенную нормализацию уровня в крови мочевины, СМ, общего белка и альбумина крови. Динамика показателей, характеризующих основные тенденции в протеиназно-ингибиторном статусе при этой патологии, представлена на рис. 2 и 3.

При абдоминальном сепсисе летальность пациентов достигает уровня более 50% по данным различных

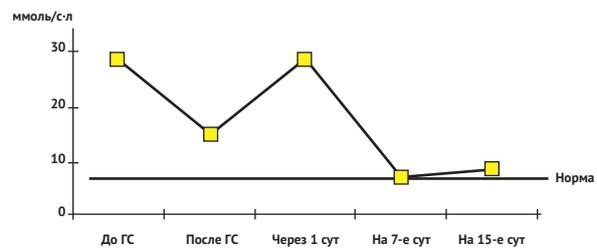


Рис. 2. Динамика трипсиноподобной активности плазмы крови у больных с разлитым гнойным перитонитом на почве аппендицита, у которых использовали гемосорбцию (ГС) на гемосорбенте «Овосорб»: 1 — средние значения показателя до сеанса ГС; 2 — после ГС; 3 — через сутки после гемосорбции; 4 — на 7-е сут; 5 — на 15-е сут

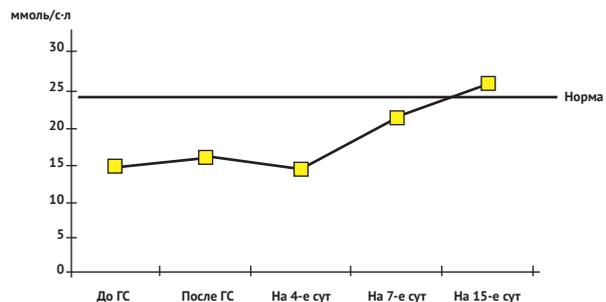


Рис. 3. Динамика уровня альфа-1-ингибитора протеиназ плазмы крови в группе больных с разлитым гнойным перитонитом на почве аппендицита, у которых использовали гемосорбцию (ГС) на гемосорбенте «Овосорб»: 1 — средние значения показателя до сеанса ГС; 2 — после ГС; 3 — через сутки после ГС; 4 — на 7-е сут; 5 — на 15-е сут

авторов [8–10]. Как видно из табл. 2, включение в комплексную терапию ГС с использованием этого типа ГСТ в постсорбционном периоде наряду с улучшением некоторых показателей белкового метаболизма приводило к заметному уменьшению выраженности клинико-лабораторных признаков эндогенной интоксикации и регистрируемому клинически усилению перистальтики. Детоксикационный эффект проявлялся исчезновением или уменьшением явлений энцефалопатии, снижением частоты пульса, одышки, лейкоцитоза, увеличением почасового диуреза. Проведение ГС не приводило к статистически значимым изменениям температуры тела, АД, уровней гемоглобина, лимфоцитов и СОЭ.

Несмотря на проводимую интенсивную терапию и раннее включение ГС в комплексное лечение на биоспецифическом ГСТ в послеоперационном периоде, детоксикационный эффект от 1-го сеанса ГС был заметным, но нестойким. Поэтому требовалось проведение повторных сеансов, чтобы достигнуть стабильного улучшения состояния пациентов. Как показали наши исследования, после 2–3 сеансов ГС стабилизация наступала у половины пациентов этой категории. В некоторых случаях требовалось проведение 5 сеансов и более. В среднем в группе одному пациенту было проведено  $3,4 \pm 0,6$  ГС. Стойкий лечебный эффект, проявляющийся исчезновением или уменьшением выраженности эндогенной интоксикации, признаков воспаления брюшины, а также восстановлением функции кишечника, зафиксирован у 99 больных. При явлениях, главным образом, ранее существовавшей и нарастающей после хирургического лечения хронической

сердечной или легочно-сердечной недостаточности умерли 5 пациентов. Послеоперационная летальность, таким образом, составила 4,8%.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Приведенные клинические данные свидетельствуют о высокой эффективности антипротеиназного биоспецифического ГСТ в коррекции нарушений белкового метаболизма и связанных с ними системных нарушений у больных с РПП аппендикулярного генеза. Совершенно очевидно, что детоксикационный и другие позитивные эффекты после перфузии крови через антипротеиназный ГСТ связаны с его воздействием на одно из ключевых звеньев патогенеза перитонита — гиперактивность систем эндогенного протеолиза. Длительность, последовательность и кратность применения данного ГСТ определяется в каждом конкретном случае индивидуально и зависит от тяжести расстройств протеиназно-ингибиторного потенциала и связанных с ними нарушений белкового обмена, а также глубины расстройств микрогемодинамики, выраженности пареза кишечника, наличия признаков печеночной и почечной недостаточности и др. Однако до настоящего времени судить о выраженности расстройств протеиназно-ингибиторного баланса приходится по косвенным признакам, так как методики определения ТПА, уровня катепсинов, эластазы и других патогенетически важных протеиназ, а также антипротеиназного потенциала пока малодоступны для применения их в широкой клинической практике. Поэтому о состоянии этой системы до сих пор судят по характеру диспротеинемии, уровню промежуточных и конечных продуктов белкового метаболизма — «средних молекул». Как показывает клинический опыт, данный класс метаболитов наиболее тесно коррелирует с выраженностью эндогенной интоксикации и

## ЛИТЕРАТУРА

1. Лопухин Ю.М., Молоденков М.Н. Гемосорбция. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: Медицина, 1985. – 287 с.
2. Николаев В.Г. Метод гемокорбции в эксперименте и клинике. – Киев: Наукова думка, 1983. – 359 с.
3. Николайчик В.В. Молекулярные механизмы развития эндогенной интоксикации и совершенствование путей детоксикации: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – М., 1984. – 44 с.
4. Кирковский В.В. Применение гемосорбции в комплексном лечении синдрома эндогенной интоксикации у больных с перитонитом и ожоговой болезнью: автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Минск, 1983. – 21 с.

## REFERENCES

1. Lopukhin Yu.M., Molodenkov M.N. *Gemosorbtsiya* [Hemosorption]. 2nd ed., rev. and exp. Moscow: Meditsina Publ., 1985. 287 p. (In Russian)
2. Nikolaev V.G. *Metod gemokarboperfuzii v eksperimente i klinike* [Hemokarboperfusion in experiment and clinic]. Kiev: Naukova dumka Publ., 1983. 359 p. (In Russian)
3. Nikolaychik V.V. *Molekulyarnye mekhanizmy razvitiya endogennoy intoksikatsii i sovershenstvovanie putey detoksikatsii: avtoref. dis. ... d-ra med. nauk* [Molecular mechanisms of development of endogenous intoxication and to improve detoxification: Dr. med. sci. diss. synopsis]. Moscow, 1984. 44 p. (In Russian)
4. Kirkovskiy V.V. *Primenenie gemosorbtsii v kompleksnom lechenii sindroma endogennoy intoksikatsii u bol'nykh s peritonitom i ozhogovoy boleznyu: avtoref. dis. ... kand. med. nauk* [The use of hemosorption in the complex treatment of the syndrome of endogenous intoxication in patients with peritonitis, and burn disease: Cand. med. sci. diss. synopsis]. Minsk, 1983. 21 p. (In Russian)
5. Napalkov P.N., Shekhtel' V.V. *Razvitie khirurgii pankreatita v SSSR* [The development of pancreatitis surgery in the USSR]. *Vestnik khirurgii*. 1977; 11: 17–24. (In Russian)

Таблица 2

**Изменение клинических показателей в группе больных с разлитым гнойным перитонитом аппендикулярного генеза после сорбции на биоспецифическом антипротеиназном гемосорбенте**

Показатель	До гемосорбции	После гемосорбции	<i>p</i>
Температура тела, °С	37,6±0,3	37,1±0,2	
ЧСС, уд/мин	112,6±2,5	100,0±1,2	<0,05
ЦВД, мм вод.ст.	+19,0±1,7	+17±1,0	
ЧД, в мин	28,0±4,0	20,0±2,0	<0,05
Почасовой диурез, мл/час	45,0±2,0	56,0±3,1	<0,05
АД, мм рт.ст.			
– max	133,0±3,0	124,0±2,0	
– min	80,0±2,1	80,0±1,1	
Гемоглобин, г/л (12–14)	13,2±0,7	13,0±0,9	
Лейкоциты, (10 <sup>9</sup> ) (4–9)	13,4±0,4	10,4±0,7	<0,05
Палочкоядерные нейтрофилы, % (1–6)	10,8±0,4	10,7±0,4	
Лимфоциты, % (19–37)	16,1±0,5	20,4±0,8	
СОЭ, мм/час (1–15)	33,7±1,2	34,5±1,1	

Примечание. Значения *p* указаны при наличии достоверной разницы изучаемых показателей. АД – артериальное давление; СОЭ – скорость оседания эритроцитов; ЦВД – центральное венозное давление; ЧД – частота дыхания; ЧСС – частота сердечных сокращений

динамикой патологического процесса, в связи с чем необходимо его более широкое применение для оценки эффективности проводимой детоксикационной терапии и динамики течения послеоперационного периода.

5. *Напалков П.Н., Шехтель В.В.* Развитие хирургии панкреатита в СССР // *Вестник хирургии*. – 1977. - № 11. – С. 17–24.
6. *Plate N., Kirkovsky V., Antiperovich O., et al.* Biospecific haemosorbents based on proteinase inhibitor. II Efficiency of biospecific antiproteinase haemosorbent «Ovosorb» in complex treatment of experimental generalized purulent peritonitis and acute destructive pancreatitis // *Biomaterials*. – 1994. – Vol. 15, N. 4. – P. 285–288.
7. *Kirkovsky V., Antiperovich O., Valueva T., et al.* Biospecific haemosorbents based on protei-III Biospecific antiproteinase haemosorbent «Ovosorb» in complex therapy of acute destructive pancreatitis // *Biomaterials*. – 1994. – Vol. 15, N. 5. – P. 334–336.

6. *Plate N., Kirkovsky V., Antiperovich O., et al.* Biospecific haemosorbents based on proteinase inhibitor: II. Efficiency of biospecific antiproteinase haemosorbent «Ovosorb» in complex treatment of experimental generalized purulent peritonitis and acute destructive pancreatitis. *Biomaterials*. 1994; 15 (4): 285–288.
7. *Kirkovsky V., Antiperovich O., Valueva T., et al.* Biospecific haemosorbents based proteinase inhibitor: III Biospecific antiproteinase haemosorbent «Ovosorb» in complex therapy of acute destructive pancreatitis. *Biomaterials*. 1994. 15 (5): 334–336.

Поступила 24.07.2015

Контактная информация:

**Колесникова Ирина Геннадьевна**,  
м.н.с., врач анестезиолог-реаниматолог РЦЭМД,  
НИЧ Белорусского государственного медицинского  
университета, Республика Беларусь  
e-mail: klsnk\_a@tut.by