

**Федеральное государственное бюджетное учреждение  
«Национальный медицинский исследовательский центр онкологии  
имени Н.Н. Блохина»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации**

*На правах рукописи*

**ЗАХАРОВ ЕГОР ВЛАДИМИРОВИЧ**

**ЭФФЕКТИВНОСТЬ НЕСЕЛЕКТИВНЫХ ГЕМОСОРБЕНТОВ ПРИ  
ПОЛИОРГАННОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ У СОБАК СО  
ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ НОВООБРАЗОВАНИЯМИ**

14.01.12 – Онкология

**ДИССЕРТАЦИЯ**

на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

**Научные руководители:**

доктор медицинских наук, профессор

**Киселевский Михаил Валентинович**

кандидат биологических наук

**Корнюшенков Евгений Александрович**

**Москва – 2020**

**ОГЛАВЛЕНИЕ**

ВВЕДЕНИЕ.....	3
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	9
1.1 Провоспалительные цитокины .....	10
1.2 Противовоспалительные цитокины .....	12
1.3 Бактериальный токсин и его динамика при развитии сепсиса и полиорганной недостаточности .....	13
1.4 Экстракорпоральные методы детоксикации при сепсисе и полиорганной недостаточности	14
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.....	26
2.1 Список использованных материалов.....	26
2.2 Список использованного оборудования.....	26
2.3 Список использованных сорбентов .....	27
2.4 Общая характеристика больных животных .....	27
2.5 Технические аспекты применения ГП .....	33
2.5.1 Аппаратура и расходные материалы .....	33
2.5.2 Сосудистые доступы .....	33
2.6 Методы исследования .....	33
2.7 Методы статистической обработки .....	36
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ .....	37
3.1 Оценка эффективности гемосорбента «ВНИИТУ-1».....	39
3.2 Оценка эффективности гемосорбента СТИРОСОРБ-514 .....	56
3.3 Оценка эффективности гемосорбента «ОВОСОРБ» .....	74
3.4 Ретроспективный анализ группы без проведения гемоперфузии .....	88
ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....	102
ВЫВОДЫ .....	108
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ .....	110
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ .....	111
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ .....	113

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность темы исследования

Роль экстракорпоральной детоксикации (ЭКД) в лечении сепсиса и полиорганной недостаточности, несмотря на большое количество публикаций, посвященных этой проблеме, остается спорной. Как известно в развитии данных патологических состояний ведущая роль принадлежит бактериальному эндотоксину – липополисахариду (ЛПС) индуцирующему гиперпродукцию провоспалительных медиаторов, TNF, I6 и IL-1. Воспалительная реакция в ответ на травму и/или инфекцию обусловлена, прежде всего, врожденным иммунитетом и развивается уже в ранние сроки. Эндогенные медиаторы воспаления, синтезируемые иммунокомпетентными клетками, высвобождаются в ответ на действие микробных компонентов или тканевых факторов в течение нескольких минут и могут достигать пиковых концентраций в крови через 1-3 часа. Именно они играют главную роль в формировании противоинфекционного ответа (увеличивают бактерицидное действие фагоцитов, способствуют рекрутированию лейкоцитов в участок инфекции, стимулируют гемопоэз и вызывают лихорадку). Однако гиперовоспалительная реакция приводит к чрезмерному высвобождению медиаторов воспаления, белковой (цитокины) и липидной природы (метаболиты мембранных липидов – лейкотриены, тромбоксаны, фактор активации тромбоцитов). Эти соединения, выполняющие защитную функцию, обладают высокой токсичностью и способны вызывать весь спектр нарушений гемодинамики, метаболические и патологические изменения, приводящие к органной и полиорганной недостаточности. Активации противовоспалительных факторов, как и ингибиторов медиаторов воспаления (простагландина E2, IL-1ra, IL-10 и TGF-β), развивается на фоне синдрома системной воспалительной реакции (ССВР) и рассматривается как компенсаторный противовоспалительный синдром – защитный механизм, ограничивающий повреждение ткани эндогенными провоспалительными факторами. С другой стороны, преобладание противовоспалительных медиаторов может приводить к иммунодепрессии и

анергии иммунных клеток [50]. Очевидно, что гипер и гиповоспалительные фазы могут чередоваться или развиваться и независимо друг от друга, в соответствии с уровнем исходной реактивности организма. Оба состояния гипер- и гипо-(а)реактивности одинаково опасны и могут явиться причиной летального исхода. Поэтому при лечении сепсиса чрезвычайно важно воздействовать на медиаторы воспалительного каскада. При этом для профилактики развития полиорганной недостаточности (ПОН) микробные компоненты (эндотоксин и т.д.) и эндогенные медиаторы воспаления (цитокины, хемокины лейкотриены, тромбоксаны, фактор активации тромбоцитов), которые вызывают системный воспалительный синдром, необходимо удалять уже в начальной фазе сепсиса. Ограничить гиперактивность иммунной системы больных с сепсисом предлагалось, посредством ингибирования различных элементов воспалительного каскада. Для этих целей были использованы антитела к ЛПС и TNF и другим провоспалительным биорегуляторам. Однако, рандомизированные испытания не выявили клинической эффективности этих препаратов [98]. Другим перспективным направлением стала разработка гемосорбентов позволяющих элиминировать значительные количества бактериального токсина из крови больных, а также медиаторы воспаления.

Для повышения эффективности элиминации бактериальных токсинов и медиаторов воспаления при сепсисе и ПОН используют различные методы селективной и неселективной гемоперфузии (ГП) [59].

В настоящее время ГП является перспективным направлением в лечении сепсиса. На экспериментальных моделях была показана важная роль медиаторов воспаления в развитии сепсиса. Ингибирование этих медиаторов улучшало выживаемость животных с сепсисом или эндотоксическим шоком [35]. Чаще всего используют доступные угольные сорбенты, которые обладают высокой сорбционной емкостью, однако характеризуются низкой гемосовместимостью. Большой интерес в этом плане представляют новые отечественные гемосорбенты типа Стиросорб, полученные на основе нанотехнологий. Предварительные экспериментальные данные свидетельствуют об их высокой гемосовместимости и

способности эффективно элиминировать из кровотока медиаторы и триггеры воспаления.

Поэтому, возникает необходимость провести сравнительное исследование эффективности угольных и перспективных гемосорбентов на крупных животных с онкологическими заболеваниями, осложненными сепсисом и полиорганной недостаточностью.

### **Степень разработанности темы**

Несмотря на достаточно большое количество работ по изучению эффективности различных методов экстракорпоральной детоксикации до настоящего времени отсутствуют четкие рекомендации по использованию данных подходов у пациентов с онкологическими заболеваниями. Не достаточно исследованным аспектом является эффективность существующих и перспективных гемосорбентов, их способность элиминировать из кровотока избыток бактериальных токсинов, про- и противовоспалительных цитокинов. В отечественной литературе использование методов экстракорпоральной детоксикации при сепсисе подробно рассматривалось в работах Ярустовского М. Б., Фомин А.М., Громовой Е.Г., Анисимовой Н.Ю., Киселевского М.В. и соавторов. В зарубежной литературе клиническая эффективность методов очистки крови исследовалась в работах Ronco C., Rogiers P., Kramer P., Laurent I. и др.

### **Цель исследования**

Сравнительная характеристика эффективности и безопасности современных неселективных гемосорбентов у собак с сепсисом и полиорганной недостаточностью на фоне злокачественного новообразования.

### **Задачи исследования**

1. Исследовать динамику содержания бактериального токсина и цитокинов у собак со злокачественными новообразованиями до и после процедуры гемоперфузии.

2. Оценить изменения биохимических показателей у собак на фоне процедуры гемоперфузии.
3. Изучить гемосовместимость сорбентов.
4. Разработать показания и критерии оценки эффективности гемоперфузии при полиорганной недостаточности.
5. Сравнить эффективность различных гемосорбентов и оценить перспективность их применения у онкологических больных собак с полиорганной недостаточностью.

### **Научная новизна**

Впервые проведено изучение гемосовместимости полистирольного сорбента Стиросорб-514 в сравнении с угольным сорбентом «ВНИИТУ-1» и гемосорбентом «Овосорб». Впервые исследована эффективность перспективных гемосорбентов на основе сверхшитых полистиролов. Впервые проведено сравнительное исследование эффективности гемосорбентов и нового сорбента на основе наномезопористого сверхшитого полистирола.

Впервые проведены пилотные клинические исследования, подтвердившие целесообразность проведения экстракорпоральной детоксикации с применением гемосорбентов у собак с полиорганной недостаточностью. Впервые установлена способность нового современного гемосорбента на основе сверхшитого полистирола элиминировать из крови животных бактериальный эндотоксин. Получены новые данные, характеризующие спектр элиминируемых метаболитов из крови животных с сепсисом и полиорганной недостаточностью.

### **Теоретическая и практическая значимость**

Проведенное исследование позволило оптимизировать методы экстракорпоральной детоксикации собак с полиорганной недостаточностью при онкологических заболеваниях и обосновать рациональность применения гемоперфузии в комплексной терапии ПОН и сепсиса.

Установлено, что новый сорбент на основе сверхшитого полистирола обладает высокой гемосовместимостью и позволяет элиминировать из кровотока

собак с ПОН и сепсисом триггеров (бактериальный липополисахарид) и медиаторов воспаления, а также существенно снизить повышенный уровень билирубина у собак со злокачественными новообразованиями осложненными полиорганной недостаточностью.

Установлено, что гемоперфузия может использоваться как дополнительный метод лечения у собак со злокачественными новообразованиями при грамтрицательном сепсисе и полиорганной недостаточности.

Разработан и апробирован на собаках с системной воспалительной реакцией и ПОН макет гемосорбционной колонки на основе сорбента Стиросорб-514.

Полученные результаты могут служить основанием для внедрения в клиническую практику нового эффективного сорбента Стиросорб-514 и устройств для экстракорпоральной детоксикации на его основе.

### **Методы и методология и исследования**

При проведении работы были использованы методы клинической оценки состояния животных с определением показателей кардиореспираторной системы, состава и биохимических показателей крови. Для оценки элиминации медиаторов воспаления и бактериального эндотоксина при проведении процедуры гемоперфузии были использованы методы иммуноферментного анализа и ЛАЛ-тест. Для оценки фагоцитарной активности лимфоцитов животных на фоне гемоперфузии применяли световую микроскопию.

### **Положения, выносимые на защиту**

1. Сорбенты на основе нано- мезопористого свёрнутого полистирола могут рассматриваться в качестве перспективных гемосорбентов с высокой гемосовместимостью.

2. Гемоперфузия у собак с онкологическими заболеваниями и полиорганной недостаточностью является эффективным методом элиминации из кровотока триггеров и медиаторов воспаления, а также реактивных метаболитов.

3. Гемоперфузия может использоваться как дополнительный эффективный метод лечения собак с онкологическими заболеваниями, осложнёнными полиорганной недостаточностью.

### **Степень достоверности и апробация результатов**

Основные положения работы доложены на VIII Всероссийской конференции по анестезиологии, реаниматологии и интенсивной терапии домашних животных с международным участием представителей Всемирной ассоциации ветеринарных анестезиологов — AVA (10-11 марта 2012 г., г. Москва); IX Всероссийской ветеринарной конференции по анестезиологии, реаниматологии и интенсивной терапии при участии Всемирной ассоциации ветеринарных анестезиологов AVA (29-31 марта 2013 г., г. Москва); IX международной научно-практической конференции «Балтийский форум ветеринарной медицины и пищевой безопасности 2013» (20-21 сентября 2013 г., г. Санкт-Петербург); Конгрессе Всемирной ассоциации ветеринарных анестезиологов AVA Autumn Meeting Moscow 2013 (2-5 октября 2013г., г. Москва); Национальной ветеринарной конференции (22-23 октября 2013 г., г. Москва); X Юбилейной Всероссийской конференции по ветеринарной анестезиологии, реанимации и интенсивной терапии (19-21 марта 2014 г., г. Москва); XXV Московском международном ветеринарном конгрессе (22-24 апреля 2017 г., г. Москва), X Национальной ветеринарной конференции (18-20 октября 2017 г., г. Москва).

## ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Несмотря на достижения современной медицины, частота послеоперационных инфекционных осложнений остается достаточно высокой. Довольно значительный рост осложнений в послеоперационном периоде отмечают и в области онкохирургии. Частота развития инфекционных осложнений после расширенных хирургических операций варьирует в пределах 50 – 70 % [3,12].

Гнойно-септические послеоперационные осложнения не только отягощают состояние пациента, удлиняют время выздоровления, но и нередко служат причиной летальных исходов.

Так, летальность от сепсиса колеблется от 28 % до 50 % и более. При этом, вероятность неблагоприятного исхода при сепсисе у онкологических больных на 30% выше, чем у пациентов без онкологической патологии, вследствие иммунокомпromетированного состояния иммунной системы. Предрасполагающими факторами к развитию инфекционных осложнений являются не только наличие онкологического процесса, но и расширенные хирургические операции, а так же применение гормональной и лучевой терапии на предоперационном этапе [21].

Тяжелый сепсис вызывает 215 000 смертей в США каждый год, что значительно превышает показатели смертности пациентов от инфаркта миокарда, рака легких, и других широко известных причин смерти в больницах [21,61,62].

В России ежегодно среди пациентов общего профиля регистрируется 25,8% пациентов с сепсисом, среди которых 4 % с септическим шоком [14,15, 21,22].

В настоящее время сепсис рассматривается не только как результат прямого действия микроорганизмов на макроорганизм, но и как следствие существенных нарушений иммунной системы, проходящих в своем развитии путь от избыточной фазы гипервоспаления к состоянию иммунопаралича. Таким образом, организм является активным участником деструктивного, а точнее — аутодеструктивного процесса. Это обусловлено гиперпродукцией эндогенных факторов, которые

инициируют и поддерживают системную воспалительную реакцию (СВР), развивающуюся в ответ на контакт с микроорганизмами или их компонентами, приводя к полиорганной недостаточности (ПОН). Опубликованные данные, характеризующие иммунологический статус онкологических больных, свидетельствуют о повышении при сепсисе концентраций широкого спектра сывороточных цитокинов – IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-2, TNF, IL-8, IL-10 [23,60].

Указанная гиперцитокинемия неизбежно приводит к нарушению функциональной активности клеток–эффекторов врожденного иммунитета (натуральные киллеры, нейтрофилы, макрофаги), в результате чего наблюдается либо ареактивность, либо неоправданная агрессивность эффекторов иммунитета [67].

### **1.1 Провоспалительные цитокины**

Цитокины – пептиды, имеющие малую молекулярную массу, появляются в кровотоке в большом количестве в результате активации или нарушения целостности мембраны иммунокомпетентных клеток и во многом определяют кооперативные взаимоотношения в иммунной системе.

TNF – первичный медиатор врожденной иммунной системы и играет критическую роль в индукции местной защитной реакции. TNF- $\alpha$  (называемый также кахектином) – это пироген. Во многом он дублирует действие IL-1, но, кроме того, играет важную роль в патогенезе септического шока, вызванного грамотрицательными бактериями [16]. Под влиянием TNF- $\alpha$  резко увеличивается образование макрофагами и нейтрофилами перекиси водорода и других свободных радикалов. При хроническом воспалении TNF- $\alpha$  активирует катаболические процессы и тем самым способствует развитию кахексии – симптома многих хронических заболеваний.

IL-1 – медиатор острого и хронического воспаления [28]. IL-1 выполняет много важных функций: воздействуя на гипоталамус, вызывает лихорадку; стимулирует выход нейтрофилов из костного мозга; активирует лимфоциты и нейтрофилы. IL-1 осуществляет различные функции: индуцирует хемотаксис

полиморфноядерных лейкоцитов, хемотаксис макрофагов [36], пролиферацию эндотелиальных клеток и остеобластов [29], стимулирует дифференцировку и пролиферацию В-клеток [77], высвобождение факторов, связанных с ростом и дифференцировкой миелоидной и лимфоидной клеточных линий [73], играет роль в регуляции и транскрипции гена IL-2 и гена IL-3 в определенных Т-клеточных линиях [41]. Среди набора веществ, вызывающих продукцию IL-1, наиболее активны компоненты клеточной стенки бактерий и цитокины, появляющиеся в очаге воспаления в ходе развития защитной реакции.

IL-6 – некоторые эффекты, вызываемые IL-6, аналогичны наблюдаемым при действии IL-1 и TNF. Однако основное действие IL-6 связано с его участием в качестве кофактора при дифференцировке В-лимфоцитов, их созревании и преобразовании в плазматические клетки, секретирующие иммуноглобулины. Помимо этого, IL-6 способствует экспрессии рецептора IL-2 на активированных иммунocyтах, а также индуцирует производство IL-2 Т-клетками. Этот цитокин стимулирует пролиферацию Т-лимфоцитов и реакции гемопоэза [53].

IL-6 является одним из наиболее активных цитокинов, участвующих в реализации иммунного ответа и воспалительной реакции.

Активный синтез IL-6 начинается сразу после воздействия на клетки бактерий, вирусов, митогенов, различных медиаторов. Быстрая и выраженная реакция на всю эту многообразную группу эндогенных и экзогенных веществ указывает на то, что данный цитокин относится к категории ранних медиаторов. Подобное свойство имеет особое значение в быстром формировании реакции организма на внедрение чужеродных патогенов или при повреждении тканей [16].

INF- $\gamma$  – обладает ярко выраженной иммуномодулирующей активностью, усиливая экспрессию антигенов главного комплекса гистосовместимости I и II класса (ГКГП); активизирует макрофаги, усиливает активность натуральных киллеров; снижает экспрессию субпопуляции В-клеток, моноцитов и эозинофильных гранулоцитов, индуцированных IL-4. А также уменьшает продукцию IgE; стимулирует рост и дифференцировку В-клеток [16].

Продуцируется Т-клетками и натуральными киллерами (NK- клетками) в

ответ на чужеродные антигены или митогены [102]. Основная функция – это противовирусный иммунитет.

## 1.2 Противовоспалительные цитокины

IL-4 – выступает в качестве костимулятора пролиферации В-клеток. Оказывает существенное влияние на процессы продуцирования IgE и IgG1, переключения С генов иммуноглобулинов на активацию Th2 типа, накопление эозинофилов, экспрессию на В-лимфоцитах и тучных клетках низкоаффинного рецептора для IgE (CD23). Является антагонистом процесса дифференциации CD4<sup>+</sup>-клеток Th1 типа и продуцирования ими цитокинов. Подавляет активность макрофагов и процесс биосинтеза ими цитокинов – IL-1, TNF, IL-6, то есть оказывает противовоспалительный эффект [16].

По своей природе IL-4 выступает в качестве плеiotропного регулятора, так как взаимодействует с самыми разнообразными типами клеток. Так, его действие на макрофаги проявляется в усилении экспрессии молекул II класса ГКГП и Fc-рецептора для IgG, приобретении противоопухолевой активности по отношению к фибросаркоме, усилении антигенпредставляющей функции.

Источником IL-4 являются Т-хелперы, стимулированные митогеном, тучные клетки, неидентифицированные клетки стромы костного мозга. IL-4 – продукт субпопуляции активированных Т-клеток.

IL-10 – относится к многофункциональным цитокинам. IL-10 способен подавлять активацию и эффекторные функции Т-клеток, NK-клеток, моноцитов и макрофагов и продукцию этими клетками ряда цитокинов (IL-12, TNF- $\beta$ ), в том числе и провоспалительных (IL-1, TNF- $\alpha$ , INF- $\gamma$ ) [16].

Цитокин также оказывает угнетающее действие на экспрессию на активированных антиген представляющие клетки (АПК) ГКГП II класса, выработку макрофагами бактерицидных факторов (оксида азота (NO), активных форм кислорода). Является важным эндогенным регулятором иммунных и воспалительных процессов в легких. Вырабатывается преимущественно Th2-клетками.

IL-13 – вырабатывается активированными Th-клетками. По ряду свойств сходен с IL-4. Способствует переключению синтеза иммуноглобулинов на IgG4 и IgE, подавляет антителозависимую клеточно-опосредованную цитотоксичность, оказывает противовоспалительное действие, подавляет продукцию провоспалительных цитокинов. Оказывает регуляторное влияние на экспрессию клеточных молекул CD72, HLA-DR и мембранного IgM [16].

Таким образом, все известные про- и противовоспалительные цитокины являются частью сложной сети взаимодействий и интеграции элементов сепсиса и неинфекционного системного воспалительного синдрома, которые имеют много общих параметров. В частности, у пациентов в крайне тяжелом состоянии без признаков инфекции (после остановки сердца, сосудистой хирургии) нередко развивается воспалительный процесс, который может привести к органной дисфункции и, в конечном счете, смерти на фоне клинических проявлений, подобных сепсису. Следовательно, цитокины участвуют не только в развитии инфекционных процессов, но играют также важную роль в патогенезе неинфекционных ССВР [18].

### **1.3 Бактериальный токсин и его динамика при развитии сепсиса и полиорганной недостаточности**

Также в настоящее время в литературных источниках указывается, что пусковым механизмом развития СВР и септических состояний могут выступать не только целые микроорганизмы, но и компоненты клеточной стенки такие как: липополисахариды, пептидогликаны, липотейхоевые кислоты, маннаны, флагеллин, бактериальная ДНК, вирусные двуспиральные РНК, глюканы и внутриклеточные компоненты, а также продукты их жизнедеятельности. Среди выше перечисленных наиболее изученным является липополисахарид (ЛПС) – мощный индуктор воспалительного ответа, способный вызывать сепсисоподобные состояния и септический (эндотоксический) шок даже при введении в организм животных при отсутствии инфекции [7,10].

Липополисахарид – компонент клеточной стенки грамотрицательных бактерий, относится к одним из наиболее значимых триггерных факторов развития системной воспалительной реакции. При попадании в кровь часть ЛПС связывается липополисахарид-связывающим белком (LBP от англ. lipopolysaccharide-binding protein), и образовавшийся комплекс реагирует с CD14-позитивными клетками, такими как макрофаги и нейтрофилы. Далее ЛПС взаимодействует с толл-подобными рецепторами (TLR4) и инициирует каскад внутриклеточных реакций, приводящий к запуску синтеза медиаторов воспаления макрофагами [37,91]. LBP способствует доставке ЛПС к рецепторам макрофагов (CD14) и стимулирует функциональную активность этих эффекторов врожденного иммунитета [92]. Таким образом, LBP, наряду с sCD14, выполняет для ЛПС функции транспортной системы, что позволяет рассматривать этот белок как маркер эндотоксемии, а, следовательно, и развития септических осложнений. В ряде работ приводятся данные о повышенном содержании этих маркеров при сепсисе, в том числе и у онкологических больных [70, 72].

Необходимо также отметить, что взаимодействие ЛПС с толл-подобными рецепторами на иммунокомпетентных клетках является необходимым этапом для мобилизации усилий организма на борьбу с инфекцией. Это положение подтверждено в экспериментах на мышах линии С3Н/HeJ, устойчивых к эндотоксину из-за мутации гена TLR4. Несмотря на резистентность к эндотоксину, при истинном (бактериальном) сепсисе у этих мышей отмечалась высокая смертность [44].

#### **1.4 Экстракорпоральные методы детоксикации при сепсисе и полиорганной недостаточности**

Развитие органных и системных повреждений при сепсисе, прежде всего, связано с неконтролируемым распространением из первичного очага инфекционного воспаления провоспалительных медиаторов эндогенного происхождения (цитокинов, фактор активации тромбоцитов, метаболиты арахидоновой кислоты, эндотелин-1, оксид азота, компоненты комплемента и др.),

с последующей активацией под их влиянием макрофагов, нейтрофилов, лимфоцитов и ряда других клеток в других органах и тканях, с вторичным выделением аналогичных эндогенных субстанций, повреждением эндотелия и снижением органной перфузии и доставки кислорода [46].

У онкологических больных вероятность развития синдрома системной воспалительной реакции в послеоперационном периоде особенно высока, поскольку обширные оперативные вмешательства стимулируют высвобождение провоспалительных цитокинов, что может способствовать развитию системного воспалительного ответа [42,58]. Дезорганизация системы естественной детоксикации организма при тяжёлом сепсисе влечёт за собой нарушения со стороны систем кровообращения, дыхания, ЦНС, с быстрым развитием синдрома полиорганной недостаточности и возрастанием в сыворотке циркулирующей крови молекул со средним весом (5-30 кДа) [85]. Значительную часть пептидных молекул со средним весом составляют цитокины. Цитокины являются низкомолекулярными протеинами с молекулярной массой примерно 25 кДа, которые индуцируются клетками иммунной системы в ответ на стимуляцию и реализуют свою сигнальную функцию через специфические рецепторы. Поэтому представляется целесообразным удаление из крови не только триггерных факторов (бактериальных токсинов), но и медиаторов воспаления (цитокины и хемокины) в возможно более ранние сроки - до наступления необратимых патологических изменений в органах и тканях больного.

На экспериментальных моделях была показана важная роль медиаторов в развитии сепсиса. Ингибирование этих медиаторов улучшало выживаемость животных с сепсисом или эндотоксическим шоком [34,77]. Однако многообещающая противовоспалительная терапия, а также антитела к экзогенным (ЛПС) и эндогенным медиаторам воспаления (TNF и IL-1) не показала существенных клинических преимуществ в борьбе против высокой смертности.

Иммунный ответ при сепсисе формируется в результате сложного сочетания про- и противовоспалительных факторов, и их рецепторов. При этом, очевидно, что баланс между агонистами и антагонистами воспаления имеет большее

физиологическое и клиническое значение чем концентрации отдельных цитокинов [44, 79]. В то время как высокие концентрации провоспалительных медиаторов могут индуцировать системную воспалительную реакцию, противовоспалительные цитокины формируют так называемый компенсационный противовоспалительный синдром, который может привести к ареактивности и анэргии. Таким образом, патогенетически обусловленная терапия должна быть направлена на удаление бактериальных токсинов и избытка про- и противовоспалительных цитокинов.

В связи с этим комплексную терапию сепсиса в последние годы рекомендуется дополнять методами экстракорпоральной детоксикации.

Для терапии сепсиса использовались различные виды ЭКД включая (plasma exchange) плазмаферез, непрерывную заместительную почечную терапию (CRRT). Обычная CRRT в настоящее время не рекомендуется для терапии сепсиса пациентов без почечной недостаточности. Хотя высокообъемная гемофильтрация (ГФ) может использоваться для того, чтобы уменьшить концентрации и про- и противовоспалительных медиаторов, таким образом, способствовать восстановлению иммуногемостаза [85, 101, 105, 109, 110].

Многие авторы предполагали, что ГФ может стать специфическим методом лечения сепсиса вне зависимости от состояния почечной функции [71, 88]. Несмотря на то, что ГФ признана наиболее толерантной процедурой у гемодинамически нестабильных больных [71], адекватный объем фильтрации в настоящее время изучается.

Многочисленные экспериментальные исследования на моделях сепсиса и эндотоксического шока были посвящены оценке эффективности различных режимов ГФ. В частности, на модели эндотоксического шока у свиней было показано, что ГФ в дозе 30-50 мл/кг в час не оказывает статистически достоверного влияния на гемодинамику и выживаемость животных [71]. Высокопоточная ГФ (HV-HF) (>50 мл/кг в час) при эндотоксическом шоке и сепсисе, вызванном *Staphylococcus aureus* у свиней и собак, улучшала физиологические показатели и выживаемость животных [24,56,83,95].

Ультрафильтраты от зараженных животных при введении здоровым особям вызывали уменьшение сердечного выброса и среднего артериального давления и даже гибель животных [83]. Это указывает, на то, что септический ультрафильтрат содержит медиаторы воспаления, ответственные за гемодинамические расстройства при сепсисе. Вместе с тем, наблюдаемые благоприятные воздействия ГФ не были связаны с удалением TNF, так как процедура не влияла на плазменные уровни TNF, а концентрации этого цитокина в ультрафильтрате были очень низкими [39, 83].

На модели ишемии кишки HV-HF улучшала гемодинамику и 24-часовую выживаемость животных, а также уменьшала макроскопическое повреждение кишки. При экспериментальном панкреатите и сепсисе, HV-HF нивелировала гемодинамические расстройства и полностью восстанавливала вызванный сепсисом иммунопаралич и улучшала выживаемость животных. В этих условиях установлено, что HV-HF более эффективна, чем низкопоточная ГФ (LV-HF) [40,98,100].

Физико-химические свойства гемофильтров, в том числе и сорбционная способность недостаточна и существенно не влияют на эффективность процедуры при сепсисе. Так, полиакрилонитрильный фильтр, характеризующийся более высокими сорбирующими свойствами, по сравнению с полисульфоновым фильтром оказывал лишь кратковременное (в течение 5 ч – время, в течение которого наступало насыщение полиакрилонитрильной мембраны) благоприятное воздействие на гемодинамику собаках с эндотоксическим шоком [26,51,84]. В тоже время конвекционное удаление медиаторов воспаления (эндотелеин, TNF, простагландины, эндотоксин) было низким при использовании обоих типов фильтров [24].

В отличие от клинической практики, при экспериментальных исследованиях сепсиса животные, как правило, не получали антибиотиков. [38]. Поэтому, Yekebas с соавторами провел исследования на собаках с бактериальным перитонитом с применением антибиотикотерапии. В этих условиях по данным авторов HV-HF существенно не улучшала гемодинамику или 7 дневную выживаемость животных.

Однако, в этом исследовании, скорости ультрафильтрации были несколько ниже (60 мл/кг в час), по сравнению с использованными ранее ( $> 100$  мл/кг в час) [98,100].

В большинстве экспериментальных исследований ГФ проводилась прежде или вскоре после микробного заражения. Только в тех случаях, когда процедура начиналась в ранние сроки (одновременно или через 2 ч после заражения) ГФ оказывала благоприятное воздействие на физиологические и клинические параметры при сепсисе и эндотоксическом шоке [66,107].

В опытах на животных показано, что эффективность ГФ может быть несколько повышена за счет увеличения размера пор мембран, что позволяет элиминировать молекулы средних масс, в том числе медиаторы воспаления [68,69]. Использование HV-HF и high cutoff мембран достоверно увеличило время жизни (103 против 56 часов) свиней с сепсисом (*Staphylococcus aureus*) по сравнению с HV-HF и обычной мембраной [57]. Однако при испытании данного режима ГФ (HV-HF 120 мл/кг в час и high cutoff мембраны) у пони с эндотоксическим шоком не повышало эффективности ГФ [97].

Таким образом, экспериментальные исследования ГФ при сепсисе свидетельствуют о незначительном улучшении сердечной функции и оксигенации при применении LV-HF. Преимущества выживаемости в случае использования HV-HF вызывают сомнения из-за отсутствия адекватной контрольной группы. Наиболее эффективной следует считать HV-HF, которая не только оказывает нормализующее влияние на параметры гемодинамики, улучшает краткосрочную выживаемость, но также снижает риск развития органной недостаточности и индуцированный сепсисом иммунопаралич. Применение HV-HF менее агрессивных режимов ультрафильтрации (60 мл/кг в час против  $>100$  мл/кг в час) в сочетании с антибактериальной терапией снижает эффективность ГФ.

Экспериментальные исследования показали, что удаление медиаторов воспаления при проведении CRRT способствует улучшению выживаемости при сепсисе. В нескольких клинических исследованиях была подтверждена

корреляция между уровнями циркулирующих воспалительных цитокинов и исходом заболевания у пациентов с сепсисом.

Как показали клинические исследования, плазмофильтрация (34 ч) и стандартные режимы (2 л /ч) CVVH не влияют на смертность больных с сепсисом без острого повреждения почек (ОПП) [82]. Низкая эффективность данных режимов связывалась с недостаточным удалением медиаторов сепсиса.

В нескольких рандомизированных клинических испытаниях изучалась эффективность HV-HF при сепсисе [31,47,55]. В исследования были включены пациенты после остановки сердца. У этих больных, после остановки сердца, отмечался сепсис-подобный синдром, ассоциированный с увеличенными уровнями эндотоксина [19]. HV-HF улучшала 6-месячную выживаемость и снижала риск смерти от шока в ранние сроки. Никакого существенного влияния на концентрацию IL-6 в крови или анафилотоксинов обнаружено не было. Сравнение эффективности HV-HF (80 мл/кг в час в течение 8 часов) и LV-HF (13 мл/кг в час в течение 8 часов) при септическом шоке и ОПП, [31] позволили установить, что для поддержания АД ( $>$  на 70 mm Hg) в течение HV-HF, требовалась меньшая вазопрессорная нагрузка, чем при LV-HF (на 68 % и 7%, соответственно). Другие гемодинамические параметры значительно не изменялись ни при одном из использованных вариантов экстракорпоральной терапии. HV-HF вызвала большее снижение уровня анафилотоксинов, чем LV-HF. Концентрация медиаторов воспаления в ультрафильтратах, независимо от применяемого режима ГФ была незначительной. Это позволило предположить, что адсорбция, а не конвекция является главным механизмом элиминации медиаторов при использовании полиакрилонитрильных фильтров. Вероятно, повышение адсорбции медиаторов воспаления при проведении HV-HF связано с высоким трансмембранным давлением и использованием большего фильтра. У пациентов с тяжелым панкреатитом, показатели гемодинамики и кратковременная выживаемость были значительно лучше в группе с HV-HF (70 мл/кг в час), чем у пациентов, получавших LV-HF (18 мл/кг в час) [47].

У септических пациентов проведение HV-HF (63 мл/кг в час,  $\geq 24$  ч), снижало вероятность смертности (с 33% до 76% по шкале APACHE II) [79]. Проведение HV-HF (40-60 мл/кг в час, 96 часов) у пациентов с сепсисом улучшало гемодинамику и снижало потребность в поддержке катехоламинами [47].

Так же для лечения критических пациентов широко используется метод гемодиализации (ГДФ), который может проводится в постоянном или непрерывном режиме. ГДФ позволяет проводить экстракорпоральную терапию пациентов с постепенным восстановлением водного баланса, электролитов, и осмотического давления, и пациентов с достаточным питанием. Кроме того, преимуществом продолжительной ГДФ (CHDF) является способность устранять средне – и высокомолекулярные вещества, включая бактериальные ЛПС и воспалительные цитокины посредством механизмов конвекции и абсорбции фильтрующей мембраной. CHDF применяется при сепсисе, как технология удаления цитокинов [54,63]. Hirasawa с соавторами выполнили CHDF на пациентах с ПОН и наблюдали выраженное улучшение дыхательного индекса, метаболизма кислорода в ткани, и клеточного состава раны в соответствии с уменьшением уровня цитокинов [74]. Позднее, они показали, что CHDF улучшил выживание пациентов с ПОН в ретроспективном исследовании [63]. Чтобы определить эффект CHDF на увеличение выживаемости у пациентов с ПОН необходимы дальнейшие рандомизированные контролируемые испытания.

По данным некоторых исследований видно, что не было никакого существенного различия между интермиттирующим гемодиализом (IHD) и CHDF при лечении острой почечной недостаточности.

Mehta R.L. с соавторами сравнили, CRRT с IHD при терапии ОПП в мультицентровом рандомизированном контролируемом испытании [63]. Несмотря на потенциальное преимущество непрерывных методов, они не приводили никаких доказательств улучшения выживания при ГДФ по сравнению с IHD. Так же, Kellum J.A. с соавторами выполнили метаанализ всех предшествующих рандомизированных и наблюдательных исследований, которые сравнили CRRT с IHD [52]. Данных было недостаточно, чтобы дать заключения относительно

преимуществ одного из способов заместительной терапии при ОПП. Эти результаты позволили предложить, что нет никакого категорического свидетельства, чтобы поддержать превосходство CRRT по отношению к ИHD особенно при ОПП. Однако, в случае сепсиса в отсутствие ОПП, CHDF может внести вклад, в улучшение клинического результата посредством удаления цитокинов.

Множество цитокинов с про- и противовоспалительными свойствами действуют при сепсисе, однако, блокада отдельных цитокинов, не приводит к положительному результату у пациентов с сепсисом [17]. Хотя CHDF рассматривают как метод, неспецифически устраняющий различные медиаторы воспаления при сепсисе, способность CHDF, удалять провоспалительные цитокины оставалась спорной в течение нескольких лет. Многочисленные исследования демонстрировали, что гемофильтрация может до известной степени устранять почти любое вещество, вовлеченное в сепсис [43]. CHF была применена как метод, который может удалять цитокины, типа TNF-альфа и IL-1 конвекцией [25]. Впоследствии, Oda S. с соавторами сообщили, что три последовательных дня CHDF с polymethylmethacrylate (PMMA) мембраной могут удалять цитокины, включая TNF, IL-6 и IL-8, более эффективно, по сравнению с ethylene vinyl alcohol copolymers мембраной, главным образом адсорбцией, а не конвекцией. В то время как, даже после трех дней воздействия CHDF, уровни цитокинов крови снижались только на 20 – 25% [75, 99,104].

Даже если CHDF может удалять цитокины из кровообращения септических пациентов, уровень в крови цитокинов - не всегда низкий. В рандомизированном испытании, использующем CVVH в раннем сепсисе, Cole L. с соавторами продемонстрировали, что раннее использование CVVH 2 л/ч не уменьшало концентрации циркулирующих цитокинов. Напротив, Matsuda K. с соавторами показали существенное уменьшение уровней различных цитокинов, при их высоком базовом уровне перед CHDF с мембраной PMMA. Эти результаты свидетельствуют, что нет корреляции между уровнем цитокинов и эффективностью CHDF.

Эндотоксин, элемент стенки грамотрицательных бактерий, играет важную роль в инициировании и развитии ПОН. Цитокины, особенно TNF-альфа, являются ранними регуляторами иммунного ответа и могут вызвать высвобождение вторичных цитокинов. Чтобы удалять эндотоксин и TNF-альфа у пациентов с ПОН, адсорбционный метод, оказывается, самым эффективным. В связи с этим перспективным методом для лечения больных с сепсисом и ПОН является гемоперфузия.

Для селективной ГП используют сорбционные системы различных производителей. Так, для избирательной элиминации эндотоксина всё большее распространение получают колонки для селективной сорбции липополисахарида (Alteco, Sweden) и адсорберы с polymyxin B (PMX) – иммобилизованной мембраной (Toray, Japan) [89].

Первое мультицентровое клиническое исследование, хотя и не рандомизированное, было выполнено на 42 пациентах с сепсисом Клинической Группой по изучению PMX [90, 106, 103]. Они показали уменьшение концентрации эндотоксина с  $83.7 \pm 26.7 \text{ pg ml}^{-1}$  по  $56.4 \pm 27.9 \text{ pg ml}^{-1}$  после PMX у 37 пациентах с идентифицированным эндотоксином. Двадцать пациентов выжили, и 17 пациентов умерли. Хотя средний уровень эндотоксина не отличался у оставшихся в живых и умерших перед PMX, авторы сообщили, что уровень эндотоксина был значительно ниже у оставшихся в живых после PMX.

О другом неожиданном благоприятном воздействии PMX на восстановлении иммунопаралича сообщали Оно S. с соавторами [76]. Они оценили экспрессию антигена HLA-Dr на моноцитах, и маркера CD16 на гранулоцитах у пациентов с сепсисом при лечении с применением PMX. Было отмечено, что снижение экспрессии обоих поверхностных антигенов коррелировало с тяжестью сепсиса, рассматривали это снижение как проявление иммунодепрессивного статуса. Лечение с использованием PMX показало положительную динамику в плане повышения этих антигенов. Эти результаты позволили предположить, что PMX мог бы вызвать благоприятный исход для пациентов с сепсисом имея иммуномодулирующий эффект.

Следовательно, лечение с применением РМХ безопасно и эффективно у пациентов с сепсисом, связанным с улучшением гемодинамического статуса. Однако нет больших клинических и мультицентровых исследований, доказывающих эффективность РМХ.

Некоторыми исследователями эффективности применения гемоперфузии высказывалось мнение о том, что высокая клиническая эффективность применения колонок с селективными сорбентами обусловлена не только элиминацией ЛПС, но также снижением концентрации провоспалительных цитокинов в циркулирующей крови [49].

Учитывая эти данные, ряд специалистов пришли к выводу о целесообразности разработки для терапии сепсиса колонок на основе неселективных гемосорбентов, позволяющих удалять из организма больного не только эндотоксин, но и избыток медиаторов воспаления, участвующих в инициации и развитии каскада воспалительных реакций [34].

Имеется большое количество сообщений о благоприятном влиянии на состояние больных с сепсисом гемоперфузии [20,65,94]. Эта процедура не только способствует улучшению реологических свойств крови, но и значительно снижает концентрацию факторов воспаления (эндотоксина, цитокинов) в системном кровотоке [81,87]. Кроме того, имеются отдельные данные, что некоторые сорбенты способны прочно иммобилизовать на своей поверхности бактериальные клетки [30]. Современные достижения в области разработки новых и модификации предложенных ранее сорбентов привели к тому, что гемоперфузия на сегодняшний день имеет ряд преимуществ перед другими неселективными методами экстракорпоральной детоксикации (плазмаферез, плазмофильтрация) при лечении сепсиса [65].

Выпускаемые в настоящее время колонки для ГП (Adsorba, Gambro; Hemosorba, Asahi Medical) содержат в основном модифицированный гранулированный активированный уголь (ГАУ) – неселективный сорбент, характеризующийся большой сорбционной емкостью.

В данных колонках гранулы модифицированного активированного угля

покрывают тонкой биосовместимой мелкопористой мембраной. Таким образом, несколько улучшаются показатели биосовместимости, но хуже сорбционные характеристики, касающиеся поглощения молекул с высоким (выше 15000) и средним молекулярным весом между (300 и 15000), поскольку спектр элиминируемых ими молекул лимитирован размерами мембранных пор, обеспечивающих контакт целевых молекул с активной основой. Этот факт обуславливает еще одну отрицательную черту применения угольных сорбентов - происходит активное истощение низкомолекулярной белковой фракции сыворотки крови.

Есть данные, что ГП с использованием угольных сорбентов способствует нормализации ряда клинических показателей. Отмечено снижение требуемой вазопрессорной поддержки, а также нормализация температуры тела. Параллельно с отмеченной динамикой клинических параметров установлено снижение концентрации в крови эндотоксина и ряда медиаторов воспаления (IL-1, IL-6, IL-10, IL-18, и TNF $\alpha$ ) [1].

Однако, несмотря на доказанную способность элиминации угольными сорбентами широкого спектра токсинов, целесообразность их применения при сепсисе до настоящего времени остается дискуссионной.

Одним из перспективных направлений в качестве основы устройств для ЭКД является использование сверхсшитых полистиролов ряда Стиросорб, которые способны элиминировать из физиологических жидкостей различные биологически активные молекулы [26,51,88].

Эти сорбенты получают не традиционным путем сополимеризации моно- и дивинильных мономеров, а путем сшивания длинных полистирольных цепей, растворенных или сильно набухших в органическом растворителе, очень большим числом конформационно жестких поперечных мостиков и поэтому называются сверхсшитыми. В качестве сшивающих агентов используют 4,4-бисхлор-метилдифенил, ксилендихлорид или монохлордиметиловый эфир. При этом между полистирольными цепями образуются мостики. Степень сшивки сорбента Стиросорб составляет 100 %, а это означает, что каждое бензольное кольцо

полистирольной цепи вовлечено в образование сшивающего мостика [33]. Адсорбционный спектр известных сверхсшитых полистирольных сорбентов включает вещества 100 - 20000 Да. Наиболее эффективно сорбируются молекулы массой 3000-15000 Да.

Известно, что некоторые сорбенты на основе сверхсшитых полимеров стирола ряда Стиросорб, благодаря пористости основы и модифицированной поверхности гранул, способны элиминировать широкий спектр биологически активных молекул (бактериальный эндотоксин, цитокины, гормоны) [33,71,88].

Сорбенты серии Стиросорб, полученные на основе полистирола, представляющие собой пористые гранулы, обладают уникальными сорбционными характеристиками за счет наличия в структуре и на поверхности гранул большого количества пор с предельно широким диапазоном размера (0,6-60 нм). В соответствие с литературными данными распределение среднего радиуса пор соответствует 6,7- 36 нм [8]. Наличие большого числа открытых пор в сорбентах ряда Стиросорб подтверждается анализом удельной поверхности гранул: она примерно соответствует 1100 м<sup>2</sup>/г [8]. Тонкая пористая (ажурная) структура полимера, характерная для сверхсшитых сорбентов, резко повышает гемосовместимость материала и сорбцию низкомолекулярных токсинов.

Исследования по изучению гемоперфузии у животных с полиорганной недостаточностью малочисленны, а полученные результаты противоречивы. Поэтому представлялось целесообразным изучить эффективность используемых в клинической практике гемосорбентов и нового наномезопористого сорбента Стиросорб-514 у животных со злокачественными новообразованиями с сепсисом и полиорганной недостаточности.

## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### 2.1 Список использованных материалов

В работе были использованы следующие материалы: таблетки для приготовления фосфатно-солевого буфера, pH=7.4 («ПанЭко», Россия), раствор Хенкса («ПанЭко», Россия), среда RPMI-1640 с 25 мМ NEPER («ПанЭко», Россия), глутамин натрия («ПанЭко», Россия), антибиотики Пеницилин (25 000 ЕД) – Стрептомицин (25 000 мг) лиофилизировано на 5 мл 100<sup>x</sup> раствора («ПанЭко», Россия), раствор фикола-урографина  $\rho=1,077$  г/см<sup>3</sup> («ПанЭко», Россия), физиологический раствор (NaCl 0,9%) (ООО «Гемотек», Россия), сыворотка крови эмбриональная телячья («ПанЭко», Россия), латекс для фагоцитоза 1,5 мкм 10 мл («ПанЭко», Россия), нитросиний тетразолий (НСТ) («MERCK», Германия), МТТ-(3-[4,5-диметилтиазол-2-ил4]-2,5-дифенилтетразолиум бромид) («ПанЭко», Россия), диметилсульфоксид (ДМСО) («ПанЭко», Россия), формальдегид («ХимМед», Россия), лизирующий раствор (OptiLyse («Immunotech Beckman Coulter», Франция), наборы реактивов для постановки иммуноферментного анализа для определения концентрации в сыворотке крови ЛПС, ИЛ-1 $\beta$ , 2, 4, 6, 8, 10; Цитокин – Стимул – Бест («Вектор-Бест», Россия; «Nucult biotech», Нидерланды), Эозин метиленовый синий по Май-Грюнвальду («МиниМед», Украина), Азур-Эозин по Романовскому («МиниМед», Украина), Эозин метиленовый синий типа Лейшмана (ОАО "ПО "ТОС", Россия), раствор трипанового синего - концентрация трипанового синего (ПанЭко, РФ) - 2 мг на 1 мл физиологического раствора.

1. Агар Эндо (Pronadisa, España)
2. Маннит-солевой агар (Pronadisa, España)
3. BIGGY (висмут-глицин-глюкозо-дрожжевой) агар (Pronadisa, España)

### 2.2 Список использованного оборудования

При выполнении работы были использованы следующие виды

лабораторного и аналитического оборудования: Аппараты для гемосорбции: АМП-ТТ («Гемофеникс», Россия) и «Гемос-ГП» (Биотех-М, Россия), биохимический анализатор Vet Test (IDEXX, США), проточный гематологический анализатор ProCyte Dx (IDEX, США), коагулометр TS1000 (High Technology, США), анализатор электролитного и газового состава CCA-TS (OPTI Medical Systems, США), кардиомонитор Storm 5770 (Dixon, Германия), тонометр PetMap (Ramsey, США), фотометр («Labsystems Multiskan MS original», Финляндия), весы лабораторные электронные («Adventure Pro AV 264C ohaus corp», США), автоматические дозаторы фиксированного и переменного объема производства («ВЮНИТ», Финляндия), проточный цитофлюориметр BD Canto II («Becton Dickinson», США), световой микроскоп («ZEISS», Германия), термостатический шейкер («ELMI», США), центрифуга Eppendorf Centrifuge 5415 R («Eppendorf», США), центрифуга («Jouan», Франция), камера Горяева («МиниМед», Украина), предметные стекла («Menzel», Германия), 96-луночный планшет («Corning Costar», США), матрасы для культивирования клеточных культур («SPL», США), пластиковые пробирки 14 мл и 50 мл («Termo Scientific», США), CO<sub>2</sub> – инкубатор («Nuare», США), виалы («ПанЭко», Россия).

### **2.3 Список использованных сорбентов**

1. Стиросорб-514. Образцы были произведены и предоставлены для исследования лабораторией стереохимии сорбционных процессов ИНЭОС РАН им. А. Н. Несмеянова, зав. профессор В.А. Даванков. Россия.

2. «ВНИИТУ-1». Гранулированный углеродный сорбент (содержание углерода не менее 99,5%) - произведен Институтом проблем переработки углеводородов СО РАН, г. Омск, Россия.

3. «Овосорб». Представляет собой полиакриламидный гидрогель, сшитый N,N'-метиленбисакриламидом, с иммобилизованным в нем биоспецифическим лигандом – овомукоидом. НПО «Фармавит». Республика Беларусь.

### **2.4 Общая характеристика больных животных**

В исследование включено 50 собак со злокачественными

новообразованиями в возрасте от 1 до 14 лет (средний возраст 7,3 года), массой тела от 70 кг до 10 кг (средняя масса 32,8 кг). В качестве критерия отбора животных использовали оценку тяжести общего состояния животного (не ниже средней), цитологическое и/или гистологическое подтверждение диагноза злокачественной опухоли и наличие клинических признаков органной, полиорганной недостаточности и/или сепсиса. Оценка тяжести состояния оценивали по следующим критериям:

- **УДОВЛЕТВОРИТЕЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ**

Легко или относительно легко протекающие острые и обостренные хронические заболевания с минимальными отклонениями функции различных органов и систем:

боли нет или есть, но не носит выраженный характер;

сознание сохранено, реагирует на внешние раздражители, животное активное или в нормальной позе, питание не нарушено или отсутствует без явных на то причин (стресс в стационаре);

температура тела нормальная или субфебрильная;

видимые слизистые оболочки розовые или бледно-розовые;

функция сердечно-сосудистой системы (пульс, АД) без отклонений, либо с минимальными отклонениями;

частота, глубина и ритм дыхания не нарушены, одышка может возникать только при физической нагрузке;

функция печени, почек, эндокринной системы без выраженных отклонений от нормы;

показатели лабораторных и инструментальных исследований могут быть с минимальными отклонениями.

- **СОСТОЯНИЕ СРЕДНЕЙ ТЯЖЕСТИ**

При заболевании, которое приводит к декомпенсации функций жизненно важных органов, однако не представляет непосредственной опасности для жизни животного.

Признаки интенсивные боли, требующей систематического приема

анальгетиков

сознание обычно ясное, иногда может быть несколько заторможенным, положение тела чаще вынужденное;

лихорадка  $>40$  или гипотермия  $<37$ ;

выраженная бледность или цианоз, желтушность слизистых;

тахикардия либо брадикардия, аритмия, повышение или снижение артериального давления;

одышка (тахипноэ) с увеличением частоты дыханий в покое свыше 30 в минуту;

олигоурия 0,5-1 мл/кг/ч;

периферические отеки, асцит, гидроторакс, гидроперикард;

умеренное кровотечение, требующее назначения кровеостанавливающих препаратов;

симптомы «острого» живота, пареза кишечника, неукротимая или повторная рвота, диарея, признаки ЖКТ кровотечения.

- **ТЯЖЕЛОЕ СОСТОЯНИЕ**

Выраженная декомпенсация функций жизненно важных органов, представляет непосредственную опасность для жизни животного. Наблюдается при осложненном течении болезни с ярко выраженными и быстро прогрессирующими клиническими проявлениями.

Ярко выраженный болевой синдром;

выраженные нарушения сознания до стадии сопора, положение тела пассивное или вынужденное;

высокая лихорадка  $>42$  или гипотермия  $<35$ ;

кахексия, гиповолемия, выраженный цианоз или бледность слизистых;

выраженная тахикардия в покое, нитевидный пульс, значительная артериальная гипертензия;

тахипное в покое свыше 50 в минуту (астматический статус, отек легких);

олигоурия <0,5 мл/кг/ч;  
 неукротимая рвота, профузная диарея;  
 значительное кровотечение, требующее гемотрансфузии;  
 признаки перитонита (асцит, наличие бактерий в выпоте, отсутствие  
 кишечной перистальтики), признаки массивного желудочно-кишечного  
 кровотечения.

- **КРАЙНЕ ТЯЖЕЛОЕ СОСТОЯНИЕ**

Резкое нарушение основных жизненно важных функций организма, что без срочных и интенсивных лечебных мероприятий животное может погибнуть в течение ближайших часов или даже минут.

сознание нарушено до уровня комы, положение тела пассивное, иногда отмечается двигательное возбуждение, генерализованные судороги;

пульс не прощупывается, артериальное давление не определяется, тоны сердца едва выслушиваются;

частое, поверхностное дыхание, изо рта выделяется пенная мокрота розового цвета, по всей поверхности легких выслушиваются влажные хрипы, дыхательные шумы не выслушиваются;

анурия;

открытое кровотечение, требующее хирургической коррекции.

Животные были разделены на три группы. Первой ГП проводилась с использованием коммерческого угольного гемосорбента «ВНИИТУ-1» (N=14), второй – с использованием нового гемосорбента на основе наномезопористого полистирола Стиросорб-514 (N=14), в третьей группе животным проводилась ГП с сорбентом «Овосорб» (N=6). В первой группе было 10 (71%) собак в тяжелом и 4 (29%) собаки в крайне тяжелом состоянии. Во второй группе у 5 (35,7%) собак диагностировано тяжелое состояние, а у 9 (64,3%) – крайней степени тяжести. В 3 группе 6 (100%) собак в тяжелом состоянии. До проведения гемоперфузии в 21 (61,8 %) случае проводилось противоопухолевое лечение: полихимиотерапия у 16 (47,1 %) и химиолучевая терапия у 5 (14,7 %) собак. В четвертую группу ретроспективного контроля отобрали пациентов из базы данных историй болезни

ветеринарной клиники «Биоконтроль», которым не проводилась гемоперфузия. В группу вошло 16 собак, из них 9 собак в состоянии крайней степени тяжести, и 7 – в тяжелом.

В таблице 1 приведены характеристики собак, включенных в исследование.

**Таблица 1** – Пол и возраст собак

Параметр	Группа ГП	Контроль
Пол		
Самки	17	8
Самцы	17	8
Возраст	7±3	7±1

Преобладающим злокачественным новообразованиям была аденокарцинома молочной железы в 25 случаях (50 %) (Таблица 2).

**Таблица 2** – Распределение собак по локализации первичной опухоли и цитологическому варианту

Локализация первичной опухоли	Группа ГП	Контроль
Аденокарцинома молочной железы	15 (44 %)	8 (50 %)
Остеосаркома	6 (18 %)	3 (19 %)
Аденокарцинома печени	6 (18 %)	3 (19 %)
Аденокарцинома яичников	4 (11 %)	1 (6 %)
Плоскоклеточный рак МП	3 (9 %)	1 (6 %)
Всего	34 (100 %)	16 (100 %)

В таблице 3 приведены данные об осложнениях у собак, включенных в настоящее исследование.

**Таблица 3** – Общее распределение собак по осложнениям

Осложнение	Группа ГП	Контроль
ПОН	16 (47 %)	10 (63 %)
Сепсис	8 (23 %)	4 (25 %)
Перитонит	3 (9 %)	2 (12 %)
Панкреатит	4 (12 %)	
Почечная недостаточность	3 (9 %)	
Всего	34 (100 %)	16 (100 %)

В таблице 4 указано распределение собак со злокачественными новообразованиями, включенных в исследование в зависимости от сорбционной колонки, с помощью которой проводилась ГП. Распределение проводилось случайным образом.

**Таблица 4** - Распределение собак по группам в зависимости от типа сорбента и осложнения

Осложнение	ВНИИТУ-1	Стиросорб-514	Овосорб	Контроль
ПОН	6 (43 %)	5 (36 %)	3 (50 %)	10 (63 %)
Сепсис	3 (22 %)	5 (36 %)	1 (17 %)	4 (25 %)
Перитонит	1 (7 %)	1 (7 %)	2 (33 %)	2 (12 %)
Панкреатит	2 (14 %)	2 (14 %)	-	-
Почечная недостаточность	2 (14 %)	1 (7 %)	-	-
Всего	14 (100 %)	14 (100 %)	6 (100 %)	16 (100 %)

Каждой собаке проводили от 1 до 4 процедур ГП. Всего в процессе

настоящего исследования было исследовано изменение параметров 34 собак с онкологией в течение 57 процедур ГП.

## **2.5 Технические аспекты применения ГП**

### **2.5.1 Аппаратура и расходные материалы**

Процедуры ГП выполняли на аппаратах АМП-ТТ («Гемофеникс», Россия) и «Гемос-ГП» (Биотех-М, Россия). ГП проводили с использованием колонок «Стиросорб-514» (Россия), «ВНИИТУ-1» (Россия), «Овосорб» (Республика Беларусь).

### **2.5.2 Сосудистые доступы**

Во всех случаях формировали венозный доступ посредством катетеризации по стандартной методике яремной или бедренной вены перфузионным однопросветным катетером производства компаний "B Braun". В исследуемой группе животных не зарегистрировано ни одного случая катетер-ассоциированной инфекции.

Образцы крови для исследования отбирали у пациентов по общепринятой методике из яремной вены в пластиковые пробирки объемом 1,5 мл. Сыворотку крови выделяли путем центрифугирования со скоростью 3000 оборотов в минуту в течение 15 минут и однократно замораживали при  $-18^{\circ}\text{C}$ .

Забор крови производился до проведения процедуры и через 30 минут после ГП. Образцы сыворотки, плазмы крови хранили при  $-70^{\circ}\text{C}$ . Проводились следующие анализы: общеклинический с подсчетом лейкоцитарной формулы, биохимический, газово-электролитный состав, коагулограмма, исследование на ЛПС, фагоцитарная активность.

## **2.6 Методы исследования**

**Поглотительная активность фагоцитов.** В качестве объектов фагоцитоза использовали суспензии гранул латекса (ПанЭко, РФ), *S.cerivisiae* и *L. acidophilus* (Наринэ, РФ). Коинкубацию крови, стабилизированной гепарином, и латекса осуществляли в течение 45 минут. Готовили мазок, окрашивали его по

Романовскому-Гимзе и проводили микроскопию с иммерсией. В каждом мазке подсчитывали не менее 100 нейтрофилов, вычисляя фагоцитарный индекс (ФИ) - процент клеток, содержащих фагоцитированные объекты, а также фагоцитарное число (ФЧ) - количество гранул латекса в одном фагоците.

**Метаболическая активность фагоцитов.** Для изучения респираторного взрыва нейтрофилов *in vitro* использовали реакцию восстановления клетками нитросинего тетразолия (НСТ-тест), результат учитывали в условных единицах (у.е.) [2]. В ходе реакции нитросиний тетразолий восстанавливается до нерастворимого диформаза, откладывающегося в клетках в виде темно-синих гранул. НСТ-тест проводили как при стимуляции нейтрофилов латексом (индуцированный НСТ-тест), так и без нее (спонтанный НСТ-тест) [5].

**Сывороточный уровень бактериального липополисахарида (ЛПС)** определяли с использованием коммерческих наборов на основе LAL теста фирмы Nycult biotechnology, The Netherlands или NyClon, USA по методике, рекомендованной производителями. Интенсивность окрашивания комплекса LAL реагента с ЛПС в испытуемой пробе учитывали против фонового значения интактной пробы данного образца при 450 нм.

**Определение фагоцитарной активности и НСТ-теста** осуществляли по методике Гордиенко Г. И. с некоторыми изменениями [6]. Использовали гепаринизированную кровь. В стерильные виалы вносили 150 мкл крови. Затем в каждую виалу добавляли суспензию частичек латекса диаметром 1,5 мкм и 0,5 % раствор нитросинего тетразолия (НСТ) – С40Н30С12N10O6 с молекулярным весом 817,65 в объемах согласно таблице 5.

**Таблица 5** – Состав реакционной смеси

Компоненты	Виала 1	Виала 2	Виала 3
Гепаринизированная кровь, 150 мкл	+	+	+
Гранулы латекса, разведенные в NaCl (0,9 %) 1:25, 5 мкл	+	–	+
Раствор НСТ (0,5 %), 150 мкл	+	+	–

Далее кровь инкубировали 40 мин при 37<sup>0</sup>С в шейкере при 200 оборотах. После инкубации кровь тщательно перемешивали. Затем с каждой виалы брали по 4 мкл крови и наносили на предметное стекло, предварительно обезжиренное, и делали мазок. Далее оставляли стекла на 15 мин при комнатной температуре для высыхания. После чего проводили окрашивание мазков крови по методике Романовского-Гимза. Далее проводили подсчет фагоцитирующих клеток путем эмиссионной микроскопии [12].

Для определения поглотительной активности нейтрофилов учитывали данные на 100 нейтрофилов, из которых рассчитывали фагоцитарную активность: (ФИ) – процент фагоцитирующих нейтрофилов; фагоцитарное число (ФЧ) – среднее количество частиц, захваченных одной клеткой.

НСТ-тест осуществляли путем подсчета количества формазан-позитивных клеток, вычисления цитохимического показателя активности, как при спонтанном, так и стимулированном НСТ-тестах и разницы показателей НСТ-тестов ( $\Delta$  НСТ). Стимулированный НСТ-тест – осуществляли суспензией латекса, спонтанный – без него.

Индекс активации нейтрофилов рассчитывали по формуле (ИАН) [4]:

$$\text{ИАН} = (0 \times N_0 + 1 \times N_1 + 2 \times N_2 + 3 \times N_3) / 100,$$

где  $N_0$ ,  $N_1$ ,  $N_2$ ,  $N_3$  — количество нейтрофилов с активностью 0, 1, 2 и 3 балла соответственно (0 – отсутствие гранул диформаза в клетке; 1 – менее 25% гранул диформаза в клетке; 2 – 50 % гранул диформаза в клетке; 3 – более

50% гранул диформаза в клетке).

## **2.7 Методы статистической обработки**

Статистический анализ проводили с использованием программы «Statistica 6.0». Первичные данные представлены в формате «медиана и размах между 25% и 75% квантилями (25%-75%) или максимальным и минимальным значениями, относительные данные - в формате «среднее арифметическое  $\pm$  стандартное отклонение».

Попарное сравнение между независимыми группами при помощи критерия Манна-Уитни. Различия между группами считались статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

### **ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ**

В настоящем исследовании была проведена сравнительная оценка эффективности трех типов гемосорбционных колонок у собак с полиорганной недостаточностью и сепсисом на фоне злокачественных новообразований при неэффективной стандартной терапии. Животные были разделены методом случайной рандомизации на три группы в зависимости от используемого гемосорбента. Первой группе животных (n=14) использовался известный угольный гемосорбент «ВНИИТУ-1», во второй группе (n=14) гемоперфузию проводили новым перспективным наномезоструктурированным сорбентом Стиросорб-514, животным третьей группы (n=6) гемоперфузию проводили с использованием сорбента «Овосорб» (Рисунки 1-3). В качестве группы контроля провели ретроспективный анализ собак с полиорганной недостаточностью на фоне онкологического процесса (n=16). Данным животным не проводились методы экстракорпоральной детоксикации.

Применяемые дозы гепарина составили 0 - 200 ЕД/кг. Продолжительность процедуры была 1,5 - 2 ч. Объем обрабатываемой крови составил от 1 до 4 % ОЦК. Исследования проводили на базе ветеринарной клиники ООО «Биоконтроль» совместно с лабораторией клеточного иммунитета НИИ ЭДиТО ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России.



**Рисунок 1** – Аппарат для гемосорбции «Гемос-ГП» (Биотех-М, Россия) с углеродной колонкой «ВНИИТУ-1».



**Рисунок 2** – Аппарат для гемосорбции «Гемос-ГП» (Биотех-М, Россия) с колонкой «Стиросорб-514» на основе полистирола.



**Рисунок 3** – Внешний вид системы для гемосорбции, готовой к использованию. Аппарат АМП-ТТ («Гемофеникс», Россия) с колонкой «Овосорб».

Для исследования у животных отбирали пробы венозной крови до и через 30 минут после ГП (1 и 2 точки). В этих точках проводили оценку биохимических, гематологических, иммунологических параметров крови, исследование ее газового состава и уровня электролитов, а также осуществляли оценку критериев физиологического состояния животных до, после и через сутки после ГП (точка 3).

### **3.1 Оценка эффективности гемосорбента «ВНИИТУ-1»**

У данной группы из 14 особей на фоне неэффективного лекарственного

лечения полиорганной недостаточности проводили гемоперфузию через колонку с угольным сорбентом «ВНИИТУ-1». Учитывая низкую гемосовместимость угольного сорбента гемоперфузию, проводили с применением рекомендованных в клинической практике высоких доз гепарина (200 ЕД/кг). Состояние животных перед процедурой оценивалось как тяжелое (n = 10) и крайне тяжелое (n=4).

Представленные в таблице 6 данные свидетельствуют о нормализации ряда клинических показателей больных животных в результате применения процедуры ГП. В частности, у большинства (71%) животных отмечена очевидная тенденция к нормализации двигательной активности, частоты сердечных сокращений (ЧСС) и уровня артериального давления (АД).

Процедура ГП оказала влияние на гематологические показатели, как следует из данных таблицы 7 отмечена тенденция к снижению (28%) количества лейкоцитов.

**Таблица 6** – Влияние ЭКД с использованием ГП на основе углеродного сорбента «ВНИИТУ-1» на физиологическое состояние собак на фоне злокачественного новообразования\*

Параметр	До ГП	После ГП	Через сутки	Норма
Двигательная активность, Баллы	1	2 (+100%)	2 (+100%)	5
Реактивность на внешние раздражители, баллы	3	3 (0%)	3 (0%)	5
ЧСС, уд/сек	145	120 (-17%)	112 (-20%)	70-120
АД сист., мм.рт.ст.	145	120 (-17%)	140 (-3%)	100-160
АД диастол., мм.рт.ст.	96	104 (+8%)	116 (+21%)	80-120
АД среднее, мм.рт.ст.	91	61 (-33%)	82,5 (-9%)	60-100

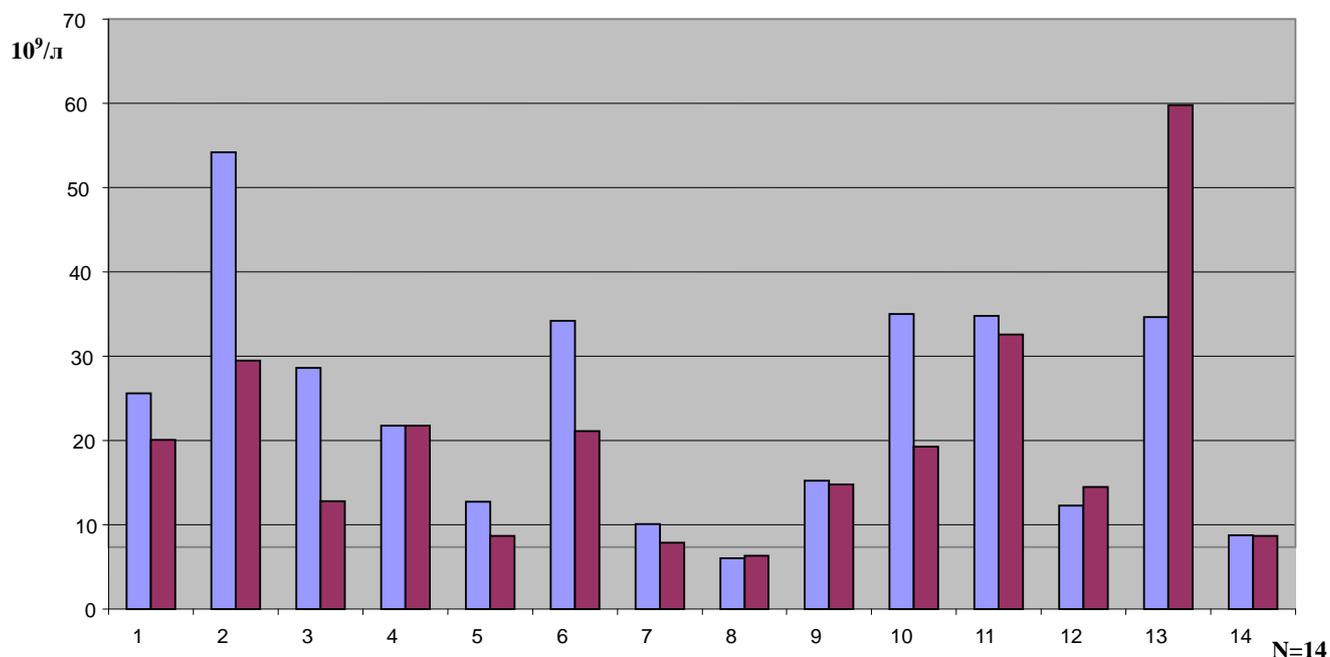
\*приведены медианные значения и изменение показателей после ГП относительно исходного уровня

**Таблица 7** – Влияние ЭКД с использованием колонок для ГП на основе углеродного сорбента на гематологические показатели собак на фоне злокачественного новообразования \*

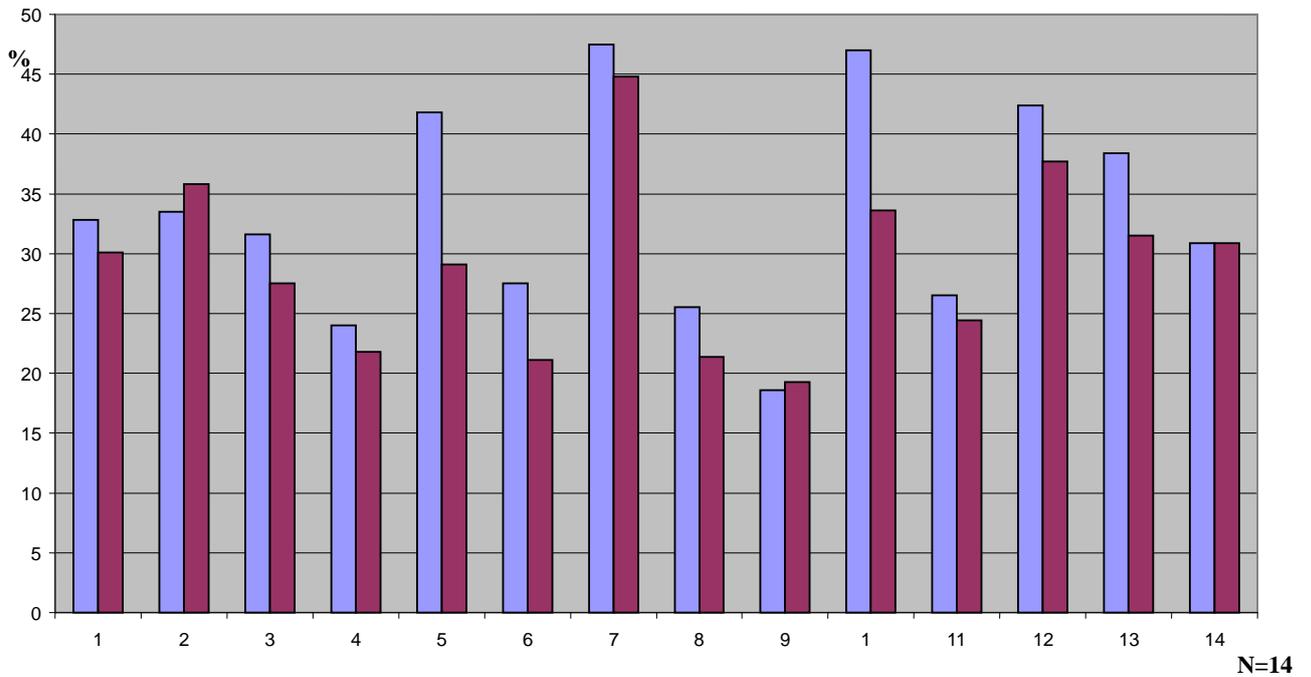
	Лейкоциты, 10 <sup>9</sup> /л		Эритроциты, 10 <sup>12</sup> /л		Гематокрит, %		Гемоглобин, г/дл		Тромбоциты, К/мкл	
	До	После	До	После	До	После	До	После	До	После
Среднее	23,8	19,9 (-16%)	4,7	4,1 (-13%)	33,4	29,2 (-13%)	11,1	9,6 (-14%)	174,9	187,1 (+7%)
Медиана	23,7	17 (-28%)	4,7	4,2 (-11%)	32,2	29,6 (-8%)	10,7	9,6 (-10%)	120	178,5 (+49%)
25	12,4	9,7 (-22%)	3,7	3,1 (-16%)	26,8	22,5 (-16%)	8,8	7,3 (-17%)	29	29 (0%)
75	34,5	21,6 (-37%)	5,7	4,6 (-19%)	40,9	33,1 (-19%)	13,6	10,6 (-22%)	267,3	256 (-4%)

\*приведены медианные значения и изменение показателей после ГП относительно исходного уровня

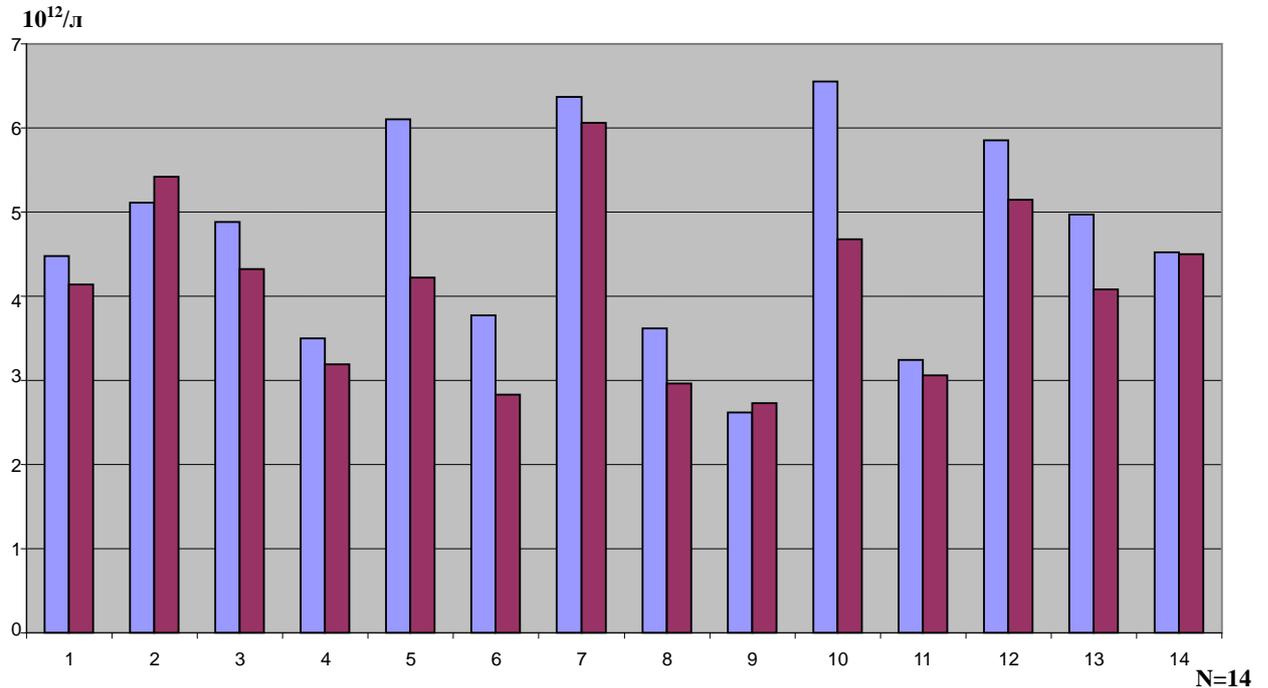
При индивидуальном анализе собак, установлено, что значимое снижение количества лейкоцитов имело место у 8 (57 %) животных, у которых исходно отмечался лейкоцитоз. У остальных 6 (43%) животных уровень лейкоцитов до ГП не превышал физиологической нормы (Рисунок 4). Изменение остальных гематологических показателей не значимые (Рисунок 5,6,7).



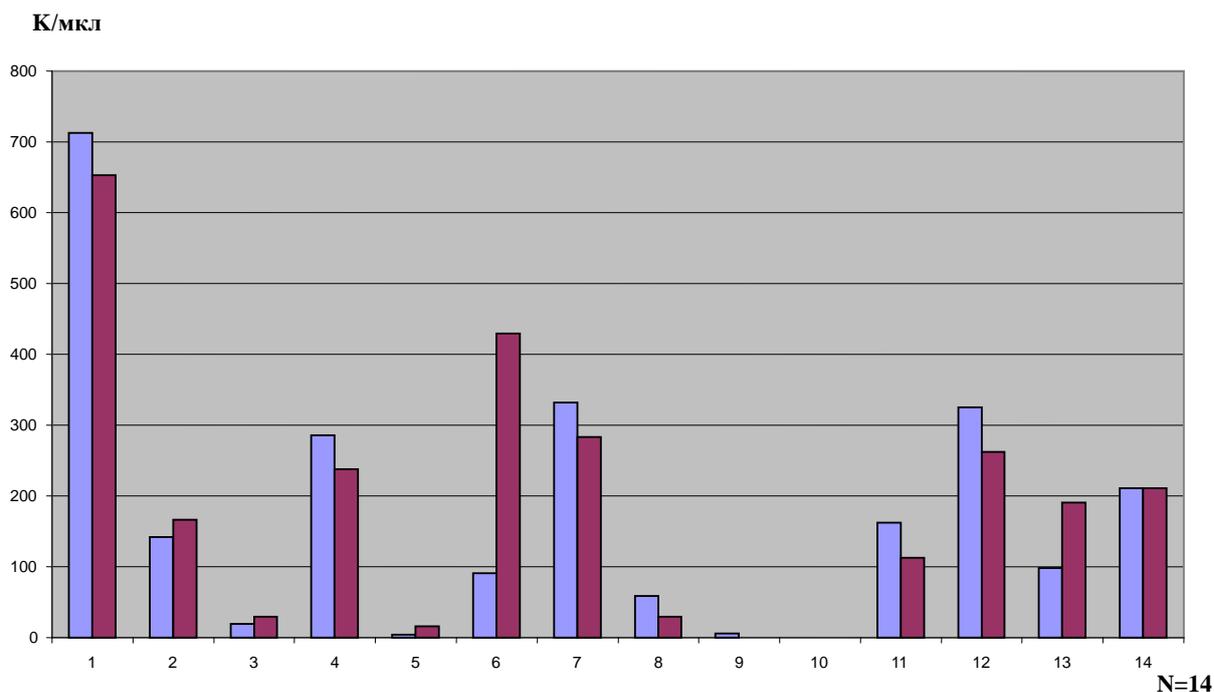
**Рисунок 4** – Изменение содержания лейкоцитов в крови собак со злокачественными новообразованиями в результате процедуры ГП с применением «ВНИИТУ-1»



**Рисунок 5** – Изменение уровня гематокрита в крови собак со злокачественными новообразованиями в результате процедуры ГП с применением «ВНИИТУ-1»



**Рисунок 6** – Изменение содержания эритроцитов в крови собак со злокачественными новообразованиями в результате процедуры ГП с применением «ВНИИТУ-1»



**Рисунок 7** – Изменение содержания тромбоцитов в крови собак со злокачественными новообразованиями в результате процедуры ГП с применением «ВНИИТУ-1»

Применение углеродного сорбента достоверно не влияет на изменения биохимических показателей (Таблица 8). Однако следует отметить тенденцию к снижению некоторых показателей, таких как креатинин (-38%), мочевины (-18%), а также щелочная фосфатаза (-22%). Как показано на рисунках 8, 10, 11, 14 снижение рассматриваемых показателей отмечаются при изначально повышенных уровнях. Так после ГП у 3 (21%) животных наблюдалось снижение высокого содержания билирубина, у 5 (35,7%) животных показатель до процедуры не превышал физиологическую норму и не изменялся по ее окончании, а у 2 (14%) животных наблюдалось незначительное повышение билирубина в крови после ГП. Содержание мочевины и креатинина после ГП снизилось до физиологических значений у 4 собак (28,5%). У 7 (50%) животных с повышенным уровнем щелочной фосфатазы после ГП наблюдалось снижение данного показателя, при этом из них у 4 собак уменьшение достигало  $\geq 50\%$ . После процедур ГП с применением «ВНИИТУ-1» не отмечено уменьшения содержания белковых

фракций крови (Рисунок 13). Так же не было зафиксировано значимого влияния на остальные биохимические показатели (Рисунки 9,12,13).

Необходимо отметить практически полную элиминацию липополисахарида (95%) (Таблица 11).

На ряду с элиминацией бактериального эндотоксина, отмечалось достоверное снижение провоспалительных цитокинов ИЛ-6 и ИЛ-8 после проведения ГП с использованием «ВНИИТУ-1» (Таблица 11).

ГП с использованием «ВНИИТУ-1» не оказывает достоверного влияния на показатели функциональной активности нейтрофилов собак с ПОН (в тяжелом состоянии) на фоне онкологических заболеваний (Таблица 12). Влияние ГП на газовый и электролитный состав крови собак так же не было отмечено (Таблица 9).

У животных с сепсисом на фоне гемоперфузии с использованием угольного сорбента отмечено существенное повышение протромбинового времени на 50 % (Таблица 10).

Из 14 особей, несмотря на крайне тяжелое и тяжелое состояние после применения ГП выжило 8 особей (57%).

### ***Клинический пример 1.***

*Собака леонбергер, 9 лет, самец кастрированный. Поступил в клинику с новообразованием молочной железы. По цитологическому исследованию аденокарцинома. Выполнена операция в объеме унилатеральной мастэктомии слева. По гистологическому заключению аденокарцинома молочной железы с метастазами в паховый и подмышечный лимфоузлы.*

*Далее животному проводился курс химиотерапии доксорубицином 25 мг/м<sup>2</sup>. Через 9 день животное поступило в отделение реанимации в тяжелом состоянии с полиорганной недостаточностью. Одышка, вялость, чсс 100 уд/мин, АД 102/64, диурез 0,6 мл/кг/ч.*

*Анализы при поступлении: WBC 12,7, RBC 6,1, PLT 4.*

*Общий билирубин 45, мочевины 59,8, креатинин 520, щелочная фосфатаза 442, протромбиновое время 10 с.*

*Животному было решено добавить к стандартной проводимой терапии процедуру гемоперфузии. Процедура проводилась на аппарате «ГЕМОС-ГП» с использованием гемосорбционной колонки «ВНИИТУ-1». Проводилась одна процедура. Для проведения использовалась гепариновая нагрузка 100 Ед на килограмм.*

*Анализы через сутки: WBC 8,7, RBC 4,2, PLT 16.*

*Общий билирубин 26,8, мочевины 47,5, креатинин 469, щелочная фосфатаза 244, протромбиновое время 82 с.*

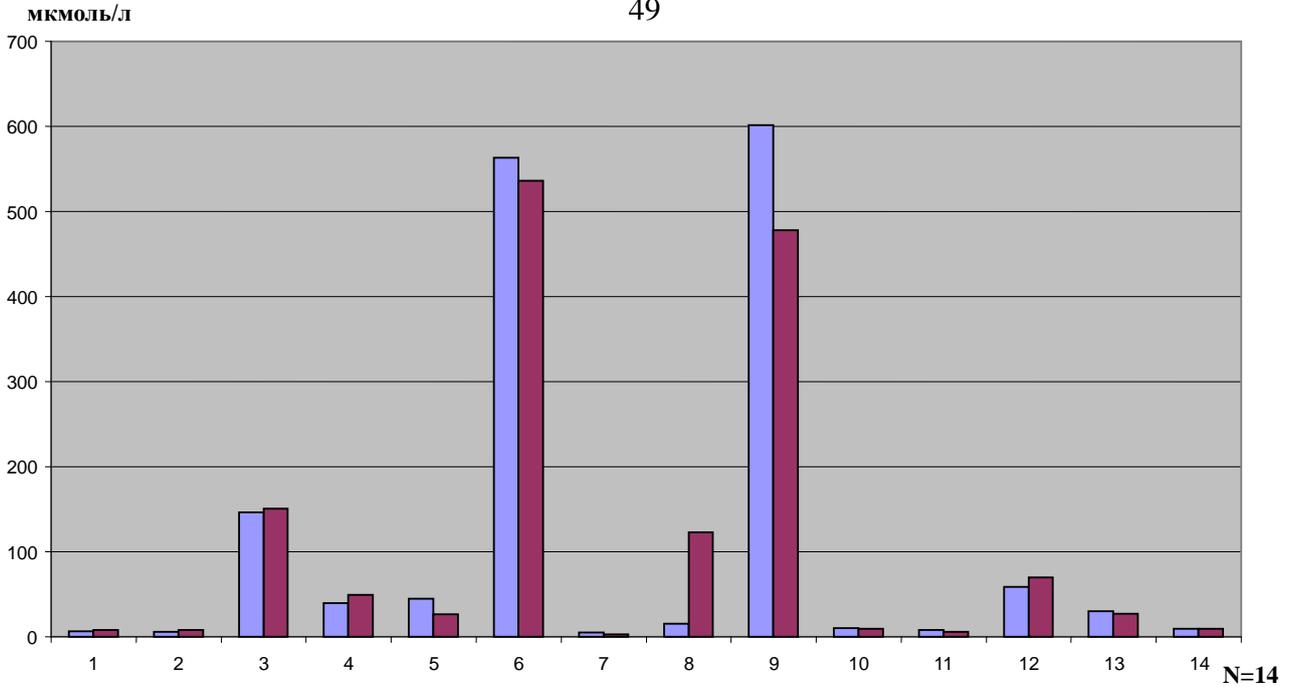
*ЧСС 100, АД 110/62, диурез 0,6 мл/кг/ч.*

*Таким образом, проведенное исследование свидетельствует о том, что колонка с угольным гемосорбентом «ВНИИТУ-1» позволяет элиминировать из организма животных с полиорганной недостаточностью бактериальный токсин и реактивные метаболиты, однако не изменяет содержание белковых фракций сыворотки крови. Процедура ГП с применением «ВНИИТУ-1» позволяет уменьшить уровень лейкоцитоза и существенно не влияет на другие гематологические показатели. Вместе с тем невысокая гемосовместимость угольных сорбентов требует применения высоких доз антикоагулянтов, что приводит к изменениям параметров свертывающей системы крови.*

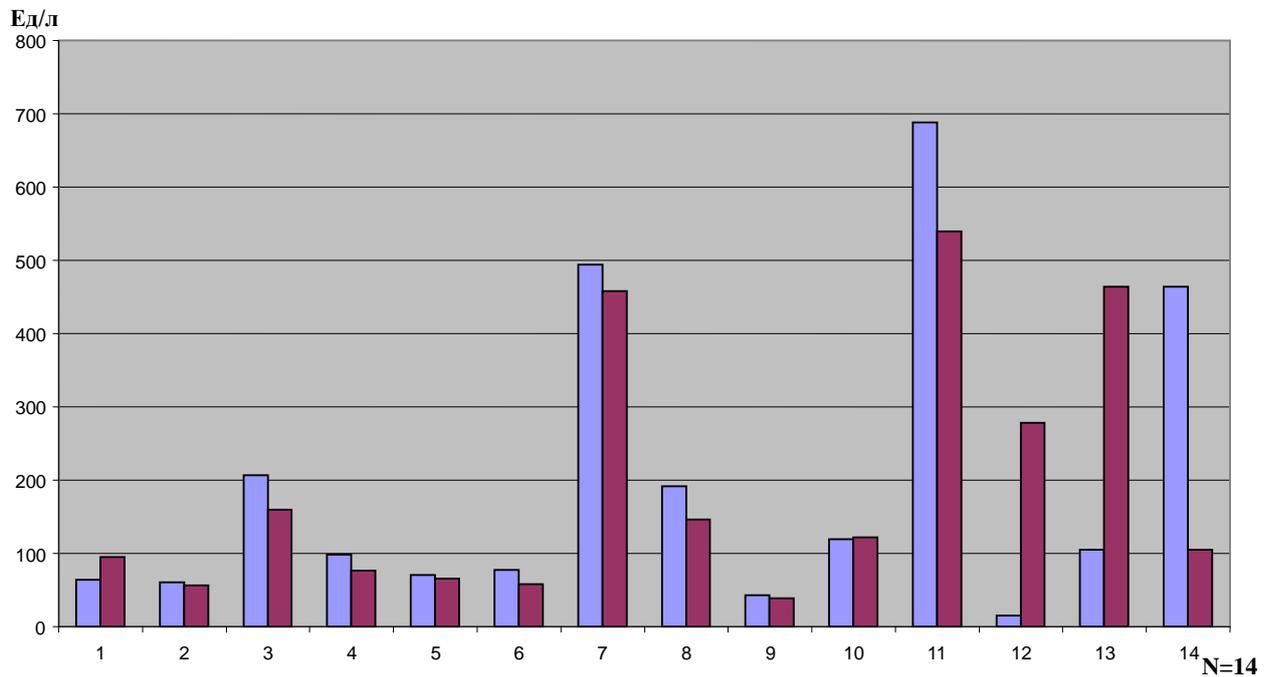
**Таблица 8** – Влияние ЭКД с использованием колонок для ГП на основе углеродного сорбента на биохимический состав сыворотки крови собак на фоне злокачественных новообразований \*

	Глюкоза, ммоль/л		Билирубин, мкмоль/л		Креатинин, мкмоль/л		Мочевина, ммоль/л		АЛТ, Ед/л		Панкреатическая амилаза, Ед/л		Общий белок, г/л		Альбумин, г/л		Щелочная фосфатаза, Ед/л	
	До	после	До	После	До	после	До	После	До	после	До	после	До	после	До	после	До	После
среднее	5,6	5,9 (+5%)	110,5	107,4 (-3%)	275,9	230,7 (-16%)	27,2	25,4 (-7%)	192,7	190,2 (-1%)	1274,9	1216,6 (-5%)	53,2	49,8 (-6%)	21, 5	20,2 (-6%)	1121,5	1064,5 (-5%)
медиана	5,6	5,6 (0%)	23,1	27,2 (+18%)	120,8	74,4 (-38%)	14,5	11,9 (-18%)	101,6	113,8 (+12%)	519,7	711,8 (+37%)	50	45,7 (-9%)	19, 8	20,8 (+5%)	597,4	466,8 (-22%)
25	4,2	4,2 (0%)	8,6	8,2 (-5%)	78,5	54,9 (-30%)	6,4	4,1 (-36%)	65,7	68,5 (+4%)	434,5	525,9 (+21%)	44,6	42,3 (-5%)	18, 5	17,7 (-4%)	460,3	260,8 (-43%)
75	6,7	6,7 (0%)	55,5	109,7 (+98%)	350,7	382,3 (+9%)	46,8	41,9 (-10%)	202,9	248,4 (+22%)	1909	1399,5 (+36%)	61,7	60 (-3%)	24, 4	24,5 (0%)	1546,8	1953,3 (-21%)

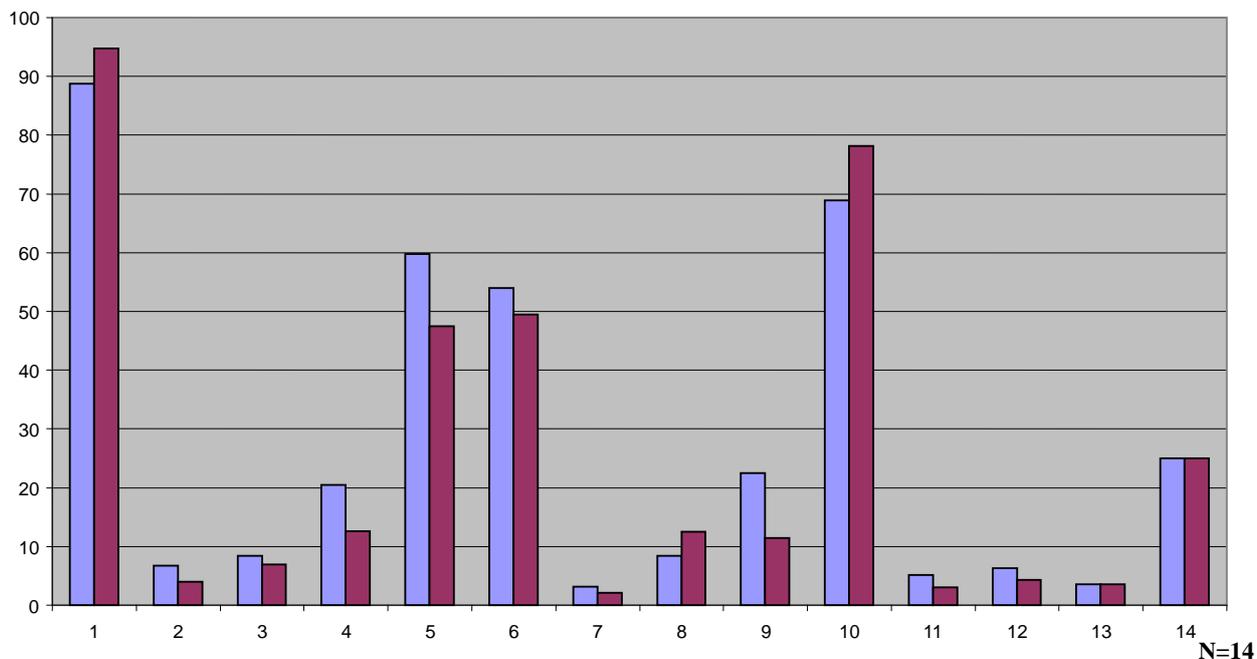
\*приведены медианные значения и изменение показателей после ГП относительно исходного уровня



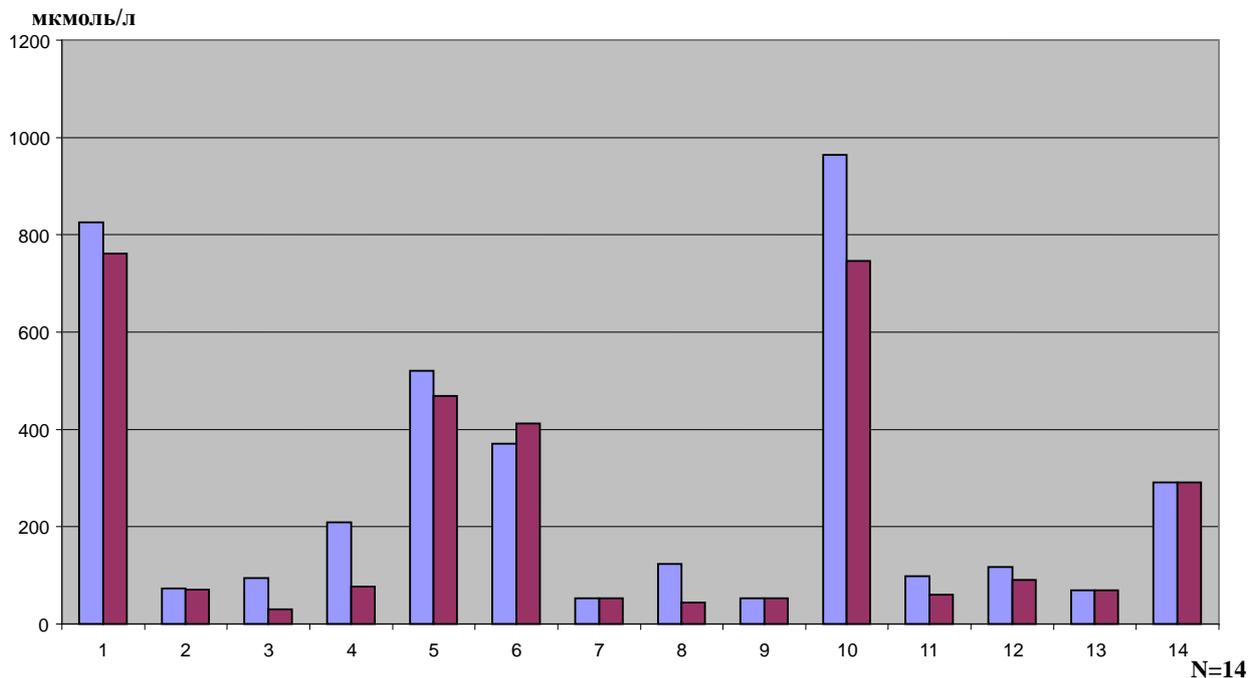
**Рисунок 8** – Изменение содержания билирубина в сыворотке крови собак со злокачественными новообразованиями в результате процедуры ГП с применением «ВНИИТУ-1»



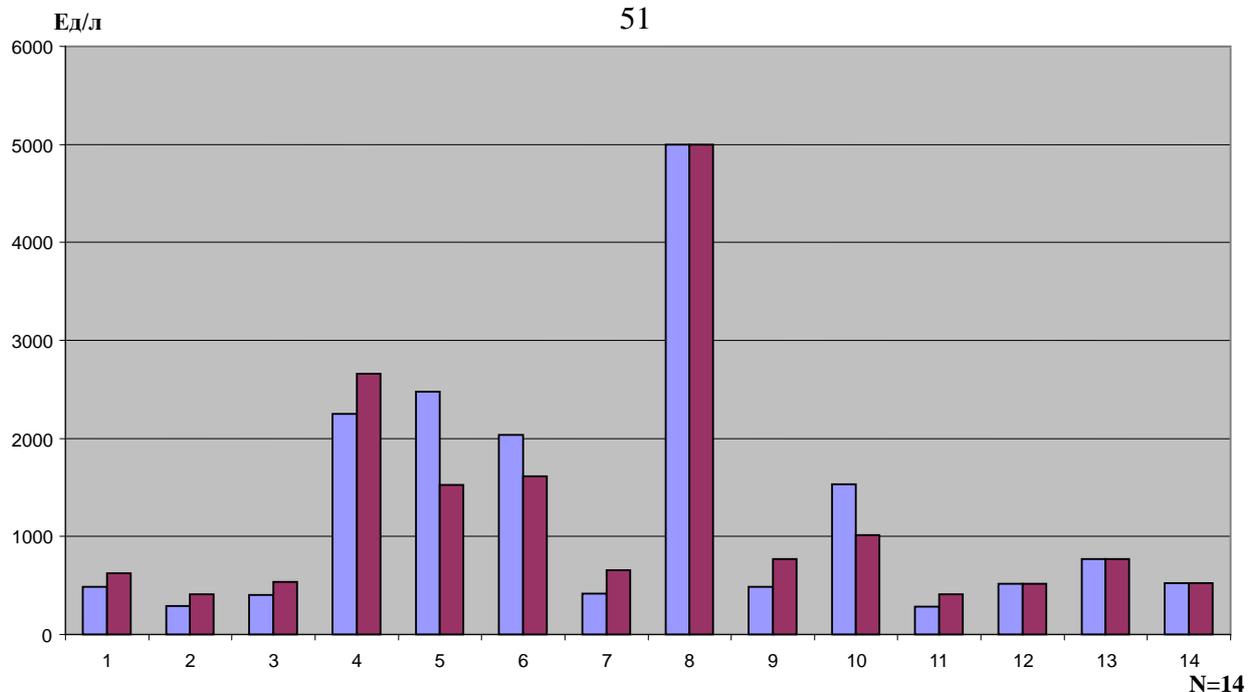
**Рисунок 9** – Изменение содержания АЛТ в сыворотке крови собак со злокачественными новообразованиями в результате процедуры ГП с применением «ВНИИТУ-1»



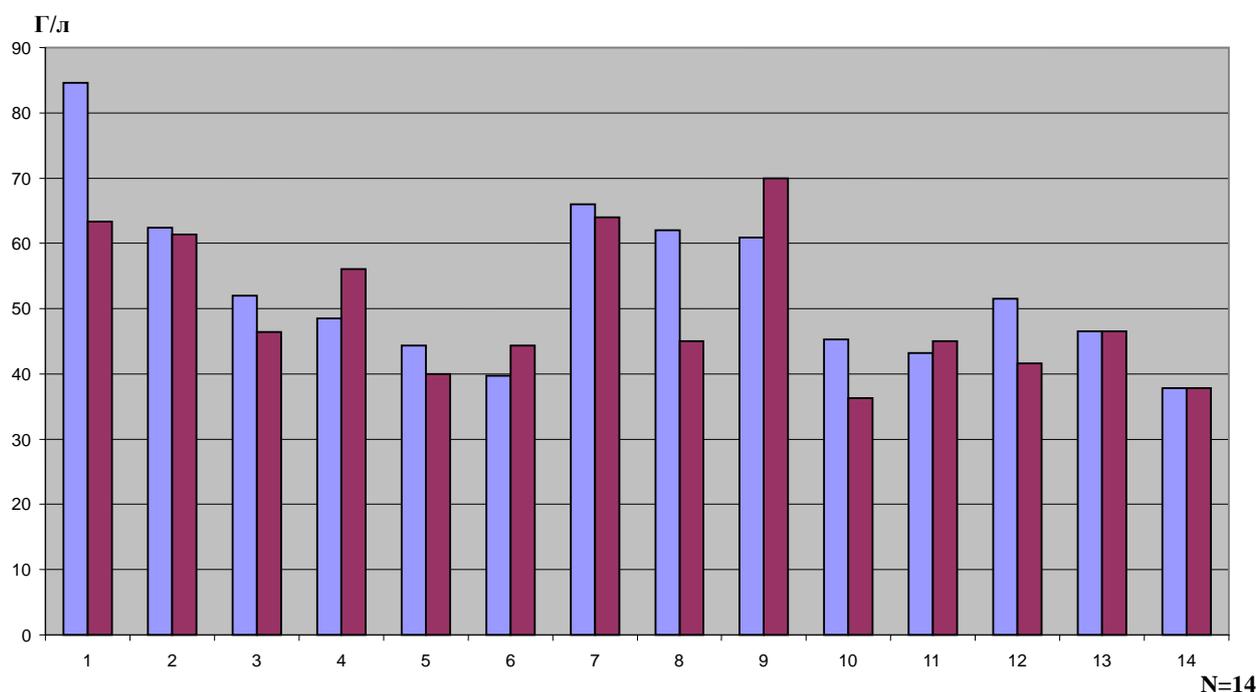
**Рисунок 10** – Изменение содержания мочевины в сыворотке крови собак со злокачественными новообразованиями в результате процедуры ГП с применением «ВНИИТУ-1»



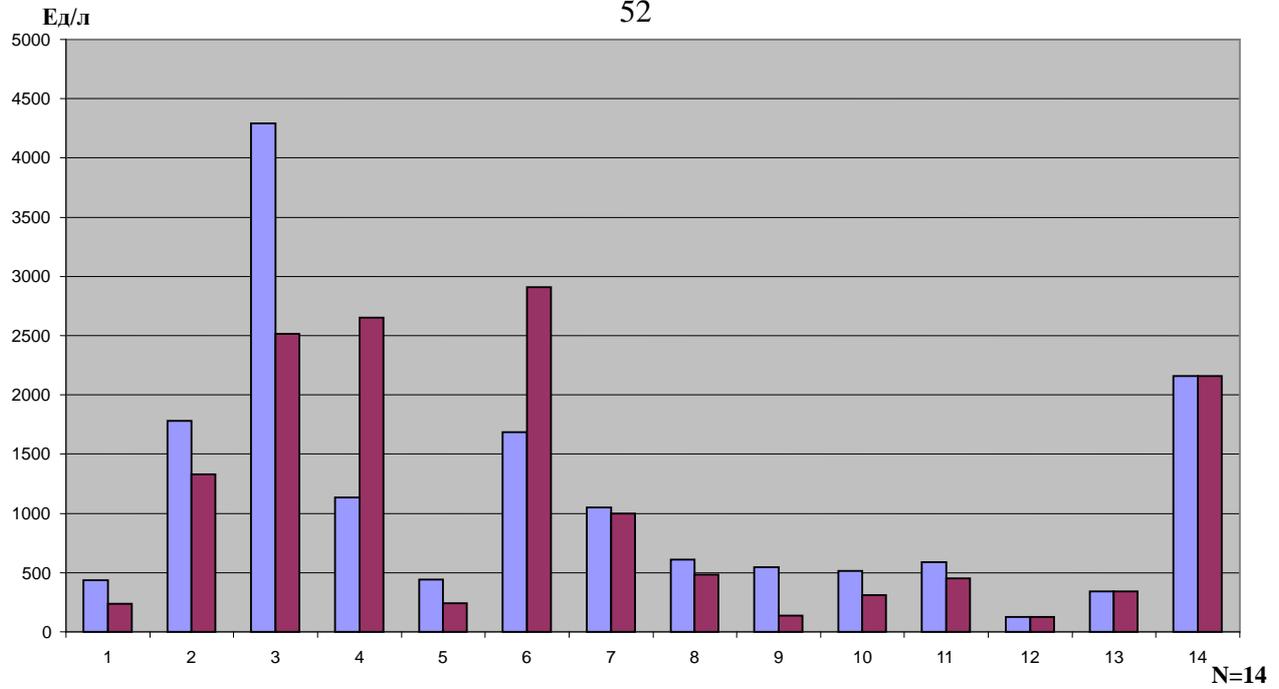
**Рисунок 11** – Изменение содержания креатинина в сыворотке крови собак со злокачественными новообразованиями в результате процедуры ГП с применением «ВНИИТУ-1»



**Рисунок 12** – Изменение содержания панкреатической амилазы в сыворотке крови собак со злокачественными новообразованиями в результате процедуры ГП с применением «ВНИИТУ-1»



**Рисунок 13** – Изменение содержания общего белка в сыворотке крови собак со злокачественными новообразованиями в результате процедуры ГП с применением «ВНИИТУ-1»



**Рисунок 14** – Изменение содержания щелочной фосфатазы в сыворотке крови собак со злокачественными новообразованиями в результате процедуры ГП с применением «ВНИИТУ-1»

**Таблица 9** – Влияние ЭКД с использованием колонок для ГП на основе углеродного сорбента на газово-электролитный состав крови собак на фоне злокачественных новообразований \*

	pH		pCO <sub>2</sub> , мм.рт.ст.		pO <sub>2</sub> , мм.рт.ст.		BE, ммоль/л		tCO <sub>2</sub> , ммоль/л		HCO <sub>3</sub> , ммоль/л		Na, ммоль/л		K, ммоль/л		Ca, ммоль/л	
	До	после	До	после	До	после	До	после	До	после	До	после	До	после	До	после	До	после
Среднее	7,34	7,37 (0%)	33,1	33,4 (+1%)	45,9	45,8 (0%)	-4,6	-3,8 (+27%)	19,1	19,9 (+4%)	17,8	18,7 (+5%)	148,9	150,1 (+1%)	4,4	4,3 (-2%)	1,24	1,24 (0%)
Медиана	7,33	7,35 (0%)	32	31 (-3%)	44,5	45 (+1%)	-4,5	-5,4 (-20%)	20,7	20,9 (+1%)	19,5	19,6 (0%)	147,5	149 (+1%)	4,3	4,2 (0%)	1,25	1,24 (-1%)
25	7,29	7,31 (0%)	29,3	30 (+2%)	41	39,3 (-4%)	-9,9	-7,8 (-21%)	14,4	17,1 (+19%)	12,5	15,7 (+26%)	145	146 (+1%)	3,9	3,9 (0%)	1,21	1,21 (0%)
75	7,41	7,42 (0%)	37,8	37 (-2%)	52,8	53,8 (+2%)	-0,5	-1 (-100%)	22,8	22,7 (0%)	21,8	21,8 (0%)	152	150,8 (-1%)	4,5	4,5 (0%)	1,29	1,32 (+2%)

\*приведены медианные значения и изменение показателей после ГП относительно исходного уровня

**Таблица 10** – Влияние ЭКД с использованием колонок для ГП на основе углеродного сорбента на показатели свертывающей системы крови собак на фоне злокачественных новообразований \*

	Протромбиновое время, с		АЧТВ, с		Фибриноген, с		Тромбиновое время, с	
	До	После	До	После	До	После	До	После
среднее	9,8	21,6 (+120%)	53,4	50 (-6%)	7,4	6,6 (-11%)	38,5	39,5 (+3%)
медиана	9	13,5 (+50%)	40	40 (0%)	6	5,5 (-8%)	22,5	23 (+2%)
25	6,5	8,8 (+35%)	34	27 (-21%)	5	4,4 (-12%)	14,5	17,8 (+23%)
75	14	17,9 (+28%)	77,5	72,5 (-6%)	11,1	9,8 (-12%)	46,8	46,8 (0%)

\*приведены медианные значения и изменение показателей после ГП относительно исходного уровня

**Таблица 11** – Влияние ЭКД с использованием ГП на основе углеродного сорбента на уровень липополисахарида собак на фоне злокачественных новообразований \*

Параметр	До ГП	После ГП	Через сутки	Норма
ЛПС, МЕ/л	0,100 (0,054-0,394)	0,0052** (0-0,084) -95%	0,091 (0,241-0,118) -9%	0-0,0001 <sup>1</sup>
ИЛ-6, нг/мл	123 (43-153)	48 (26-84)** -61%	68 (16-94)** -45%	5,0
ИЛ-8, нг/мл	305 (243-1530)	88 (16-187)** -71%	68 (44-83)** -78%	5,0

\*приведены медианные значения (минимумы и максимумы) показателей до после ГП и их изменение относительно исходного уровня, \*\*  $p < 0,05$

**Таблица 12** – Воздействие ГП на функциональную активность нейтрофилов<sup>1</sup>, \*p<0,05

Параметр		Углеродный сорбент			Здоровые собаки
Стимулятор		До ГП (1т.)	После ГП (2 т.)	Через 1 сут после ГП (3т.)	
Латекс	ФИ	22,4 (18- 28)	10 (9-31)	14 (12,5-15,5)	39 (33-43)
	ФЧ	4 (2-7,5)	2 (1,8-10)	3 (2,4-3,7)	2(1-3)
Бактерии	ФИ	12,5 (8,3-24,8)	17,5* (6,8-26,8)	7,1 (4,1-10,2)	7(6-8)
	ФЧ	1,9 (1,4-2,4)	2,2* (1,6-2,5)	1,3 (1,2-1,4)	2(1-3)
Дрожжи	ФИ	2 (1,8-2,8)	4 (2,8-6)	2,5 (2,3-2,8)	7(4-7)
	ФЧ	1 (1-1)	1 (1-1)	1 (1-1)	1 (1-1)
НСТ спонт		0,7 (0,5-1,0)	0,5 (0,4-0,5)	1,0 (0,8-1,3)	0,6 (0,5-0,7)
НСТ стим		1,5 (1,3-1,6)	1,5 (1,4-1,6)	1,85 (1,6-2,1)	1,5 (1,3-1,9)

<sup>1</sup>Данные получены совместно с д.б.н. Н.Ю. Анисимовой

### 3.2 Оценка эффективности гемосорбента СТИРОСОРБ-514

В настоящем разделе был изучен новый отечественный экспериментальный гемосорбент Стиросорб-514, показавший в экспериментальных условиях высокую гемосовместимость и способность эффективно элиминировать из крови бактериальные токсины, медиаторы воспаления и различные метаболиты.

Отсутствие гемотоксичности Стиросорб-514 позволяет использовать низкие дозы антикоагулянтов или вовсе отказаться от них в случае угрозы развития кровотечения. В исследование включено 14 собак с различными злокачественными новообразованиями, осложненные полиорганной недостаточностью и сепсисом на фоне неэффективного консервативного лечения. У 10 собак отмечено состояние крайней степени тяжести, у 4 собак – тяжелое.

Представленные данные в таблице 12 свидетельствуют о положительном эффекте ГП на клиническое состояние больных животных. Отмечается улучшение двигательной активности, кроме того, было зарегистрировано значительное улучшение когнитивного показателя реактивности животного на внешние раздражители через 1 сутки после ГП.

Указанный положительный эффект у большинства (n=8) собак после ГП с полистирольным сорбентом сохранялся и на следующие сутки после проведения процедуры (3 точка). На этом фоне имело место значительное снижение исходно повышенных параметров систолического и среднего АД.

Как следует из таблицы 13 гемоперфузия с использованием колонки «Стиросорб-514» приводит к снижению медианного показателя уровня лейкоцитов на 28%. При этом нормализация этого показателя наблюдалась у 9 (64%) животных. У 4 особей лейкоцитоз уменьшился более чем в 2 раза. Повышение данного показателя констатировано только у 1 (7%) животного (Рисунок15).

Изменения остальных гематологических показателей были не значительным (Рисунки 16,17,18).

**Таблица 13** – Влияние ЭКД с использованием ГП на основе Стиросорба-514 на физиологическое состояние собак на фоне злокачественных новообразований \*

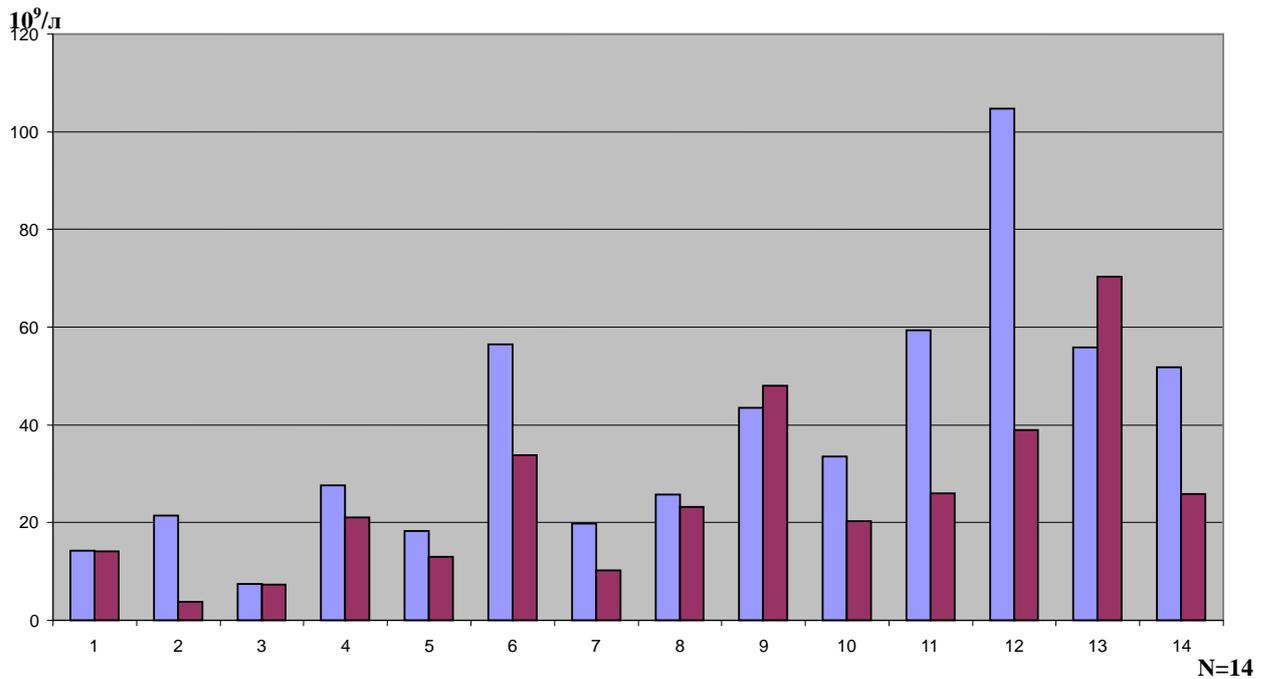
Параметр	До ГП	После ГП	Через сутки	Норма
Двигательная активность, Баллы	2,5	2,5 (0%)	4 (+60%)	5
Реактивность на внешние раздражители, баллы	3	3 (0%)	5 (+67%)	5
ЧСС, уд/сек	122	109 (-11%)	116 (-5%)	70-120
АД сист., мм.рт.ст.	170	141 (-17%)	136 (-20%)	100-160
АД диастол., мм.рт.ст.	120	104 (-13%)	112 (-7%)	80-120
АД среднее, мм.рт.ст.	146,5	112 (-24%)	122,5 (-16%)	60-100

\*приведены медианные значения и изменение показателей после ГП относительно исходного уровня

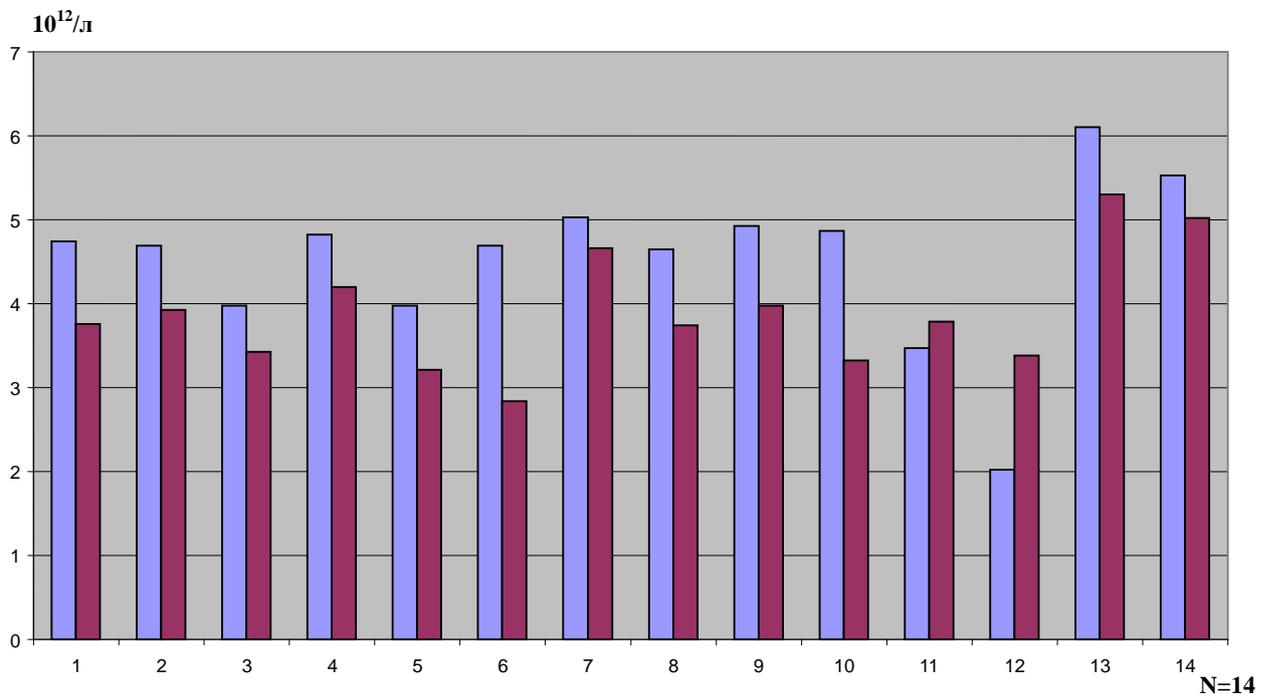
**Таблица 14** – Влияние ЭКД с использованием колонок для ГП на основе Стиросорб-514 на гематологические показатели собак на фоне злокачественных новообразований \*

	Лейкоциты, 10 <sup>9</sup> /л		Эритроциты, 10 <sup>12</sup> /л		Гематокрит, %		Гемоглобин, г/дл		Тромбоциты, К/мкл	
	До	После	До	После	До	После	До	После	До	После
Среднее	38,6	25,4 (-34%)	4,5	3,9 (-13%)	30	26,2 (-13%)	10,8	9,3 (-14%)	191	220,6 (+15%)
Медиана	30,6	22,1 (-28%)	4,7	3,8 (-19%)	32	26,6 (-17%)	10,8	8,7 (-19%)	176	117,5 (-33%)
25	20,2	13,3 (-34%)	4,1	3,4 (-17%)	28,9	22,7 (-21%)	9,3	8 (-18%)	84,5	69,5 (-18%)
75	54,8	31,9 (-44%)	4,9	4,1 (-16%)	33,6	27,7 (-18%)	11,2	9,8 (-12%)	223,8	180,8 (-19%)

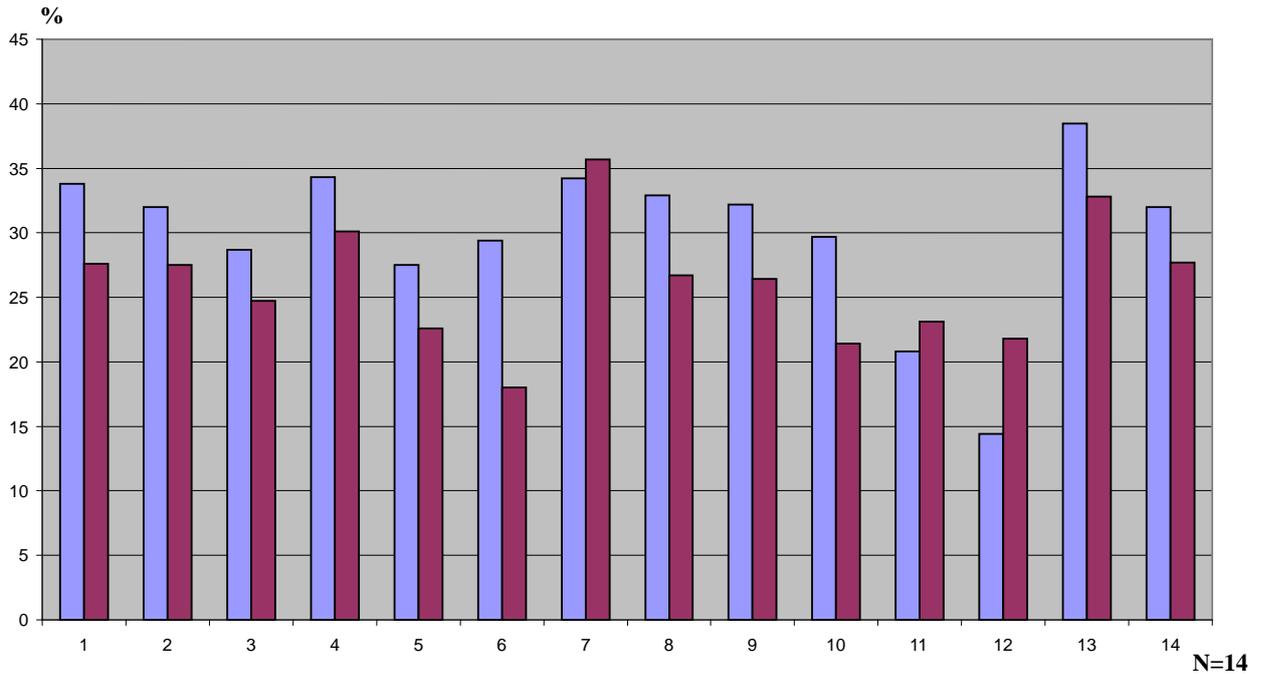
\*(приведены медианные значения и изменение показателей после ГП относительно исходного)



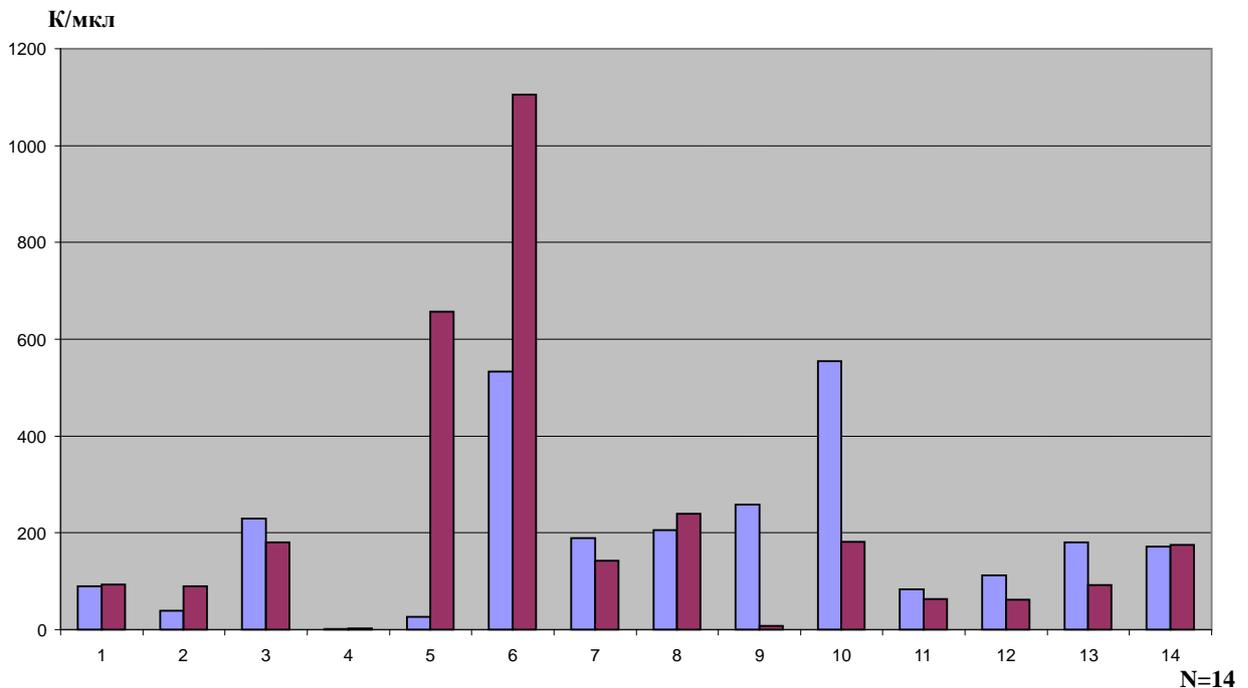
**Рисунок 15** – Изменение содержания лейкоцитов в крови собак со злокачественными новообразованиями в результате процедуры ГП с применением Стиросорб-514



**Рисунок 16** – Изменение содержания эритроцитов в крови собак со злокачественными новообразованиями в результате процедуры ГП с применением Стиросорб-514



**Рисунок 17** – Изменение уровня гематокрита в крови собак со злокачественными новообразованиями в результате процедуры ГП с применением Стиросорб-514



**Рисунок 18** – Изменение содержания тромбоцитов в крови собак со злокачественными новообразованиями в результате процедуры ГП с применением Стиросорб-514

Согласно данным таблицы 15 регистрируется очевидная тенденция к снижению уровня биохимических показателей, о чем свидетельствует снижение медианного показателя билирубина на 33%, креатинина на 11%, АЛТ на 44%, панкреатической амилазы на 44%.

При индивидуальной оценке пациентов (Рисунок 19) снижение уровня билирубина зарегистрировано у 6 (43%) животных, из них у 3 (21%) концентрации билирубина снижались более чем на 30%, и у остальных 3 (21%) снижение превышало 80%. У одного животного было отмечено повышение данного показателя на 41% после ГП.

Как видно на рисунке 23, показатели уровня панкреатической амилазы снижались у 9 (64%) собак со злокачественными новообразованиями с признаками панкреатита, из них у 7 (50%) собак показатель превышал уровень физиологической нормы. У 5 (36%) животных наблюдалось снижение данного показателя до физиологической нормы. Остальные биохимические параметры существенно не изменялись, хотя можно отметить снижение АЛТ, щелочной фосфатазы и креатинина у отдельных животных (Рисунок 20,21,22,24,25).

Не выявлено значимого влияния ГП на показатель рН крови, а также на содержание газового состава крови и показатели основных электролитов крови собак с онкологией (Таблица 16).

После ГП с использованием Стиросорб-514 наблюдалась полная элиминация бактериального токсина (ЛПС). Так же можно отметить более стойкий эффект детоксикации. Через сутки уровень ЛПС был ниже чем при использовании колонки с углеродным сорбентом (Таблица 18).

У большинства животных наблюдалась исходно повышенная концентрация сывороточных провоспалительных цитокинов (ИЛ-6 100 нг/мл, ИЛ-8 343 нг/мл), гемоперфузия через колонку «Стиросорб-514» приводила к достоверному снижению этих показателей (Таблица 18).

Из данных показанных в таблице 16 можно отметить снижение тромбинового времени, однако эти изменения происходили в пределах уровня показателей не превышающих физиологическую норму. Так же отсутствует

влияние на другие показатели свертывающей системы крови, что обусловлено лучшей гемосовместимостью сорбента, требующего применения меньших доз антикоагулянта.

Как следует из данных, представленных в таблице 19 у животных на фоне ПОН отмечается снижение функциональной активности нейтрофилов (ФИ, ФЧ). После проведения ГП с сорбентом Стиросорб-514 наблюдается нормализация исследуемых параметров. Однако, через 1 сутки после ГП вновь имеет место тенденция к снижению функциональной активности нейтрофилов.

После применения ГП с использованием колонки на основе полистирола выживаемость животных составила 71%.

### ***Клинический пример 2.***

*Собака такса, 8 лет, самка, стерилизованная. Поступила в клинику «Биоконтроль» с подозрением на новообразование печени в крайне тяжелом состоянии.*

*Анализы при поступлении: WBC 21,4 RBC 4,7, PLT 39.*

*Общий билирубин 99,2, мочевины 3,2, креатинин 36,6, АЛТ 410,4, щелочная фосфатаза 1230, протромбиновое время 6,9 с.*

*По ультразвуковому исследованию выявлено новообразование печени.*

*Поскольку состояние животного требовало стабилизации, животному проводилась инфузионная терапия, антибактериальная терапия, так же для детоксикации применяли гемоперфузию. Процедуру проводили на аппарате «ГЕМОС-ГП» с использованием гемосорбционной колонки на основе Стиросорб-514. У данного пациента гепаринизация крови не проводилась. Было проведено два сеанса гемоперфузии.*

*Анализы через сутки: WBC 16,7, RBC 3,4, PLT 20.*

*Общий билирубин 17,4, мочевины 2, креатинин 38,2, щелочная фосфатаза 778,9, протромбиновое время 7,1 с.*

*Наблюдалось улучшение общего состояния, так же отмечалась стабилизация гемодинамики, что выражалось в увеличении темпа диуреза (до 1 мл\кг\ч), повышении артериального давления (112/64 мм.рт.ст.). Нормализация*

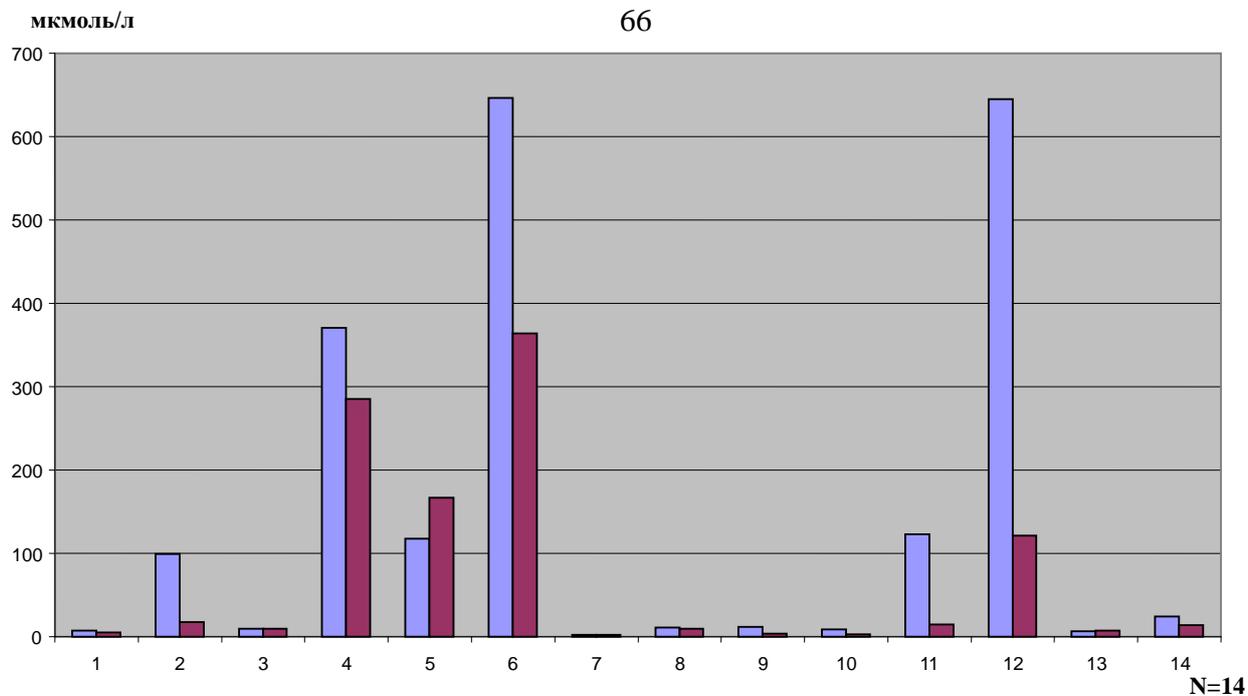
*вита́льных показателей позволили провести животному диагностическую операцию. На операции было выявлено тотальное поражение печени. По экспресс-цитологическому анализу выявлена карцинома печени.*

*Проведенное исследование свидетельствует о том, что гемосорбционная колонка «Стиросорб-514» позволяет элиминировать из организма животных с органной и полиорганной недостаточностью бактериальный токсин и реактивные метаболиты. Так же отмечено, что сорбент не влияет на содержание белковых фракций сыворотки крови. Процедура ГП с применением Стиросорб-514 позволяет уменьшить уровень лейкоцитов и существенно не влияет на другие гематологические показатели. Вместе с тем высокая гемосовместимость полистирольных сорбентов не требует применения высоких доз, а в некоторых случаях и вообще не требует применения антикоагулянтов.*

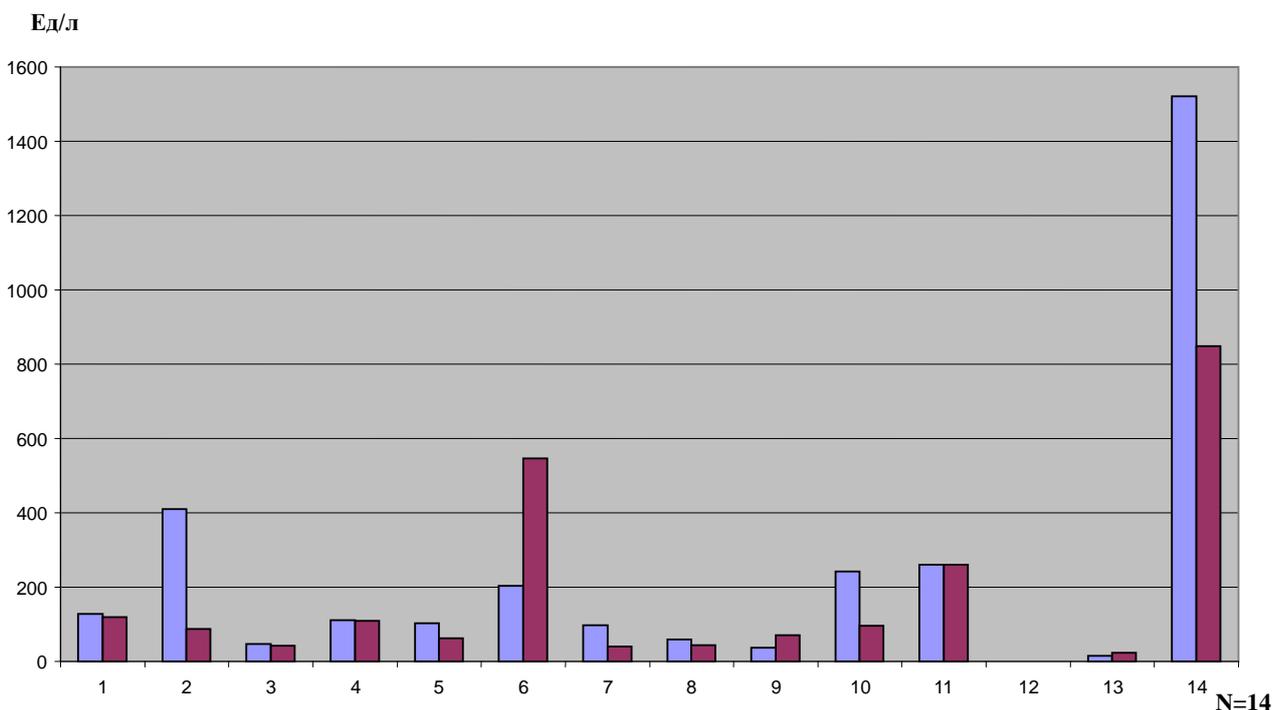
**Таблица 15** – Влияние ЭКД с использованием колонок для ГП на основе Стиросорб 514 на биохимические показатели сыворотки крови собак на фоне злокачественных новообразований \*

	Глюкоза, ммоль/л		Билирубин, мкмоль/л		Креатинин, мкмоль/л		Мочевина, ммоль/л		АЛТ, Ед/л		Панкреатическая амилаза, Ед/л		Общий белок, г/л		Альбумин, г/л		Щелочная фосфатаза, Ед/л	
	До	После	До	После	До	После	До	После	До	После	До	После	До	После	До	После	До	После
среднее	5,6	6,6 (+18%)	148,8	73,1** (-51%)	370, 1	323 (-13%)	33	31,4 (-5%)	248,9	180,7 (-27%)	1229,4	952,8 (-22%)	56,3	50,7 (-10%)	23,3	21,3 (-9%)	650,8	649,6 (0%)
медиана	5,5	5,5 (0%)	17,8	11,9 (-33%)	301, 7	269 (-11%)	34,1	34 (-0%)	111,4	88 (-21%)	1187	669,9 (-44%)	53,5	46,6 (-13%)	22,9	21,3 (-7%)	400,9	542,7 (+35%)
25	4,4	4,4 (0%)	9,1	5,9 (-35%)	94,7	89,1 (-6%)	6,9	6,2 (-10%)	59,4	43 (-28%)	432,9	552,6 (+28%)	50,3	43 (-15%)	21,3	16,3 (-23%)	263,6	310,1 (+18%)
75	6,6	6,4 (-3%)	121,7	95,1 (-22%)	471, 6	400,2 (-15%)	54,1	51,4 (-5%)	242	120,1 (-50%)	1552,3	911,8 (-41%)	62,7	55,5 (-11%)	27,3	23,7 (-13%)	853,2	902 (+6%)

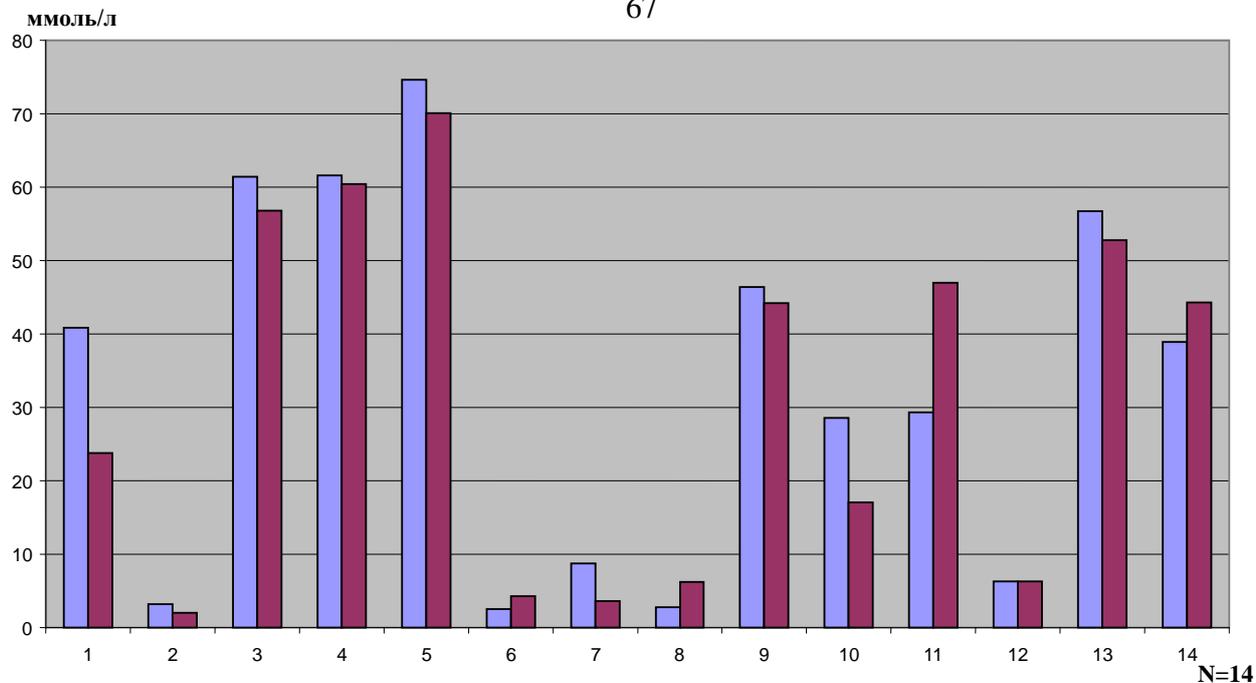
\*приведены медианные значения и изменение показателей после ГП относительно исходного уровня, \*\* p<0,05



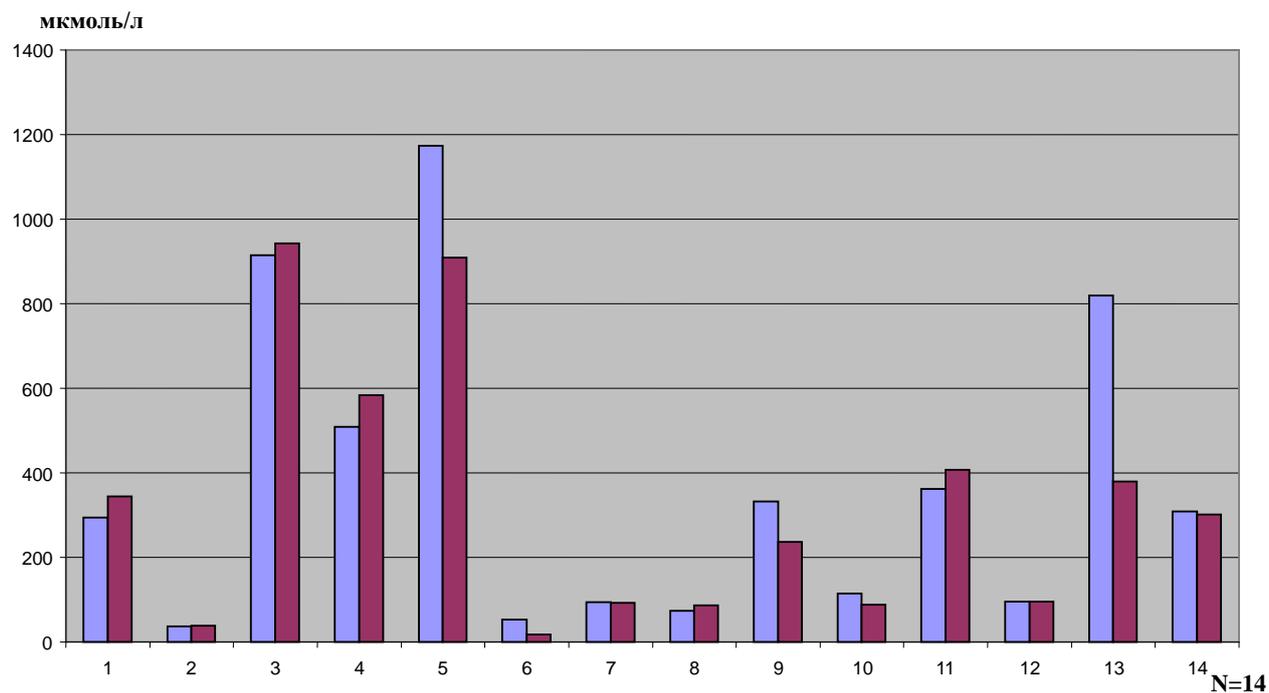
**Рисунок 19** – Изменение содержания билирубина в сыворотке крови собак со злокачественными новообразованиями в результате процедуры ГП с применением Стиросорб-514



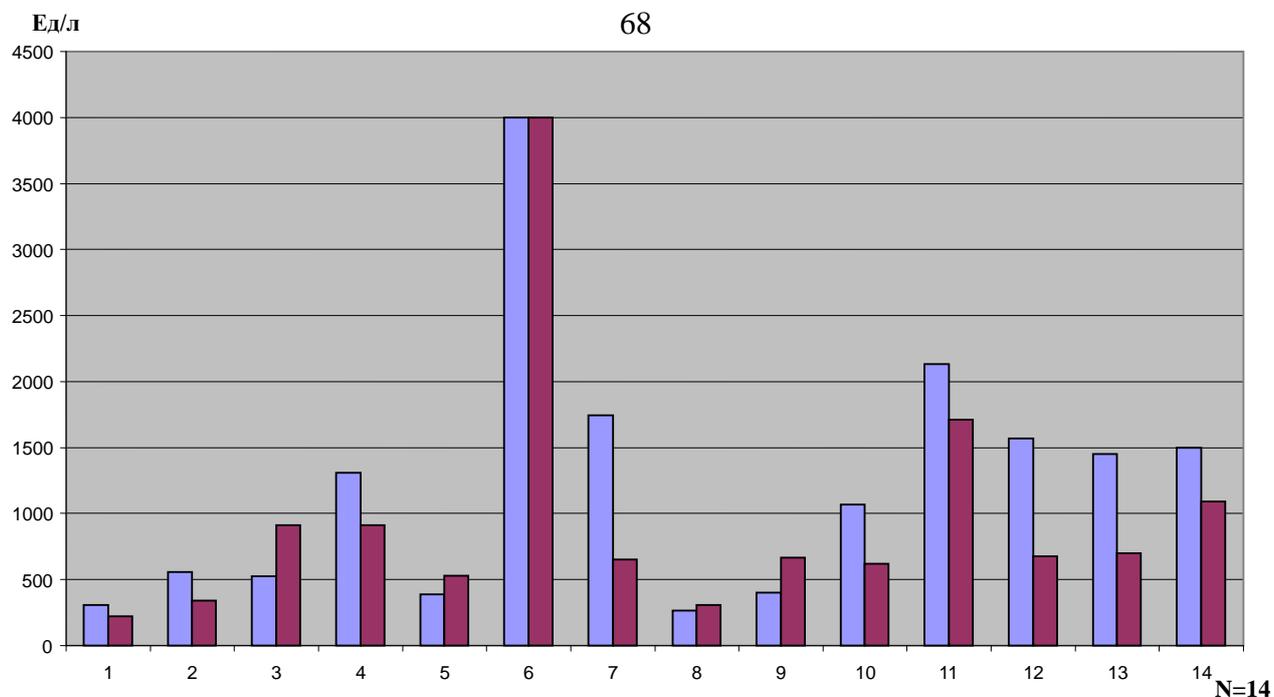
**Рисунок 20** – Изменение содержания АЛТ в сыворотке крови собак со злокачественными новообразованиями в результате процедуры ГП с применением Стиросорб-514



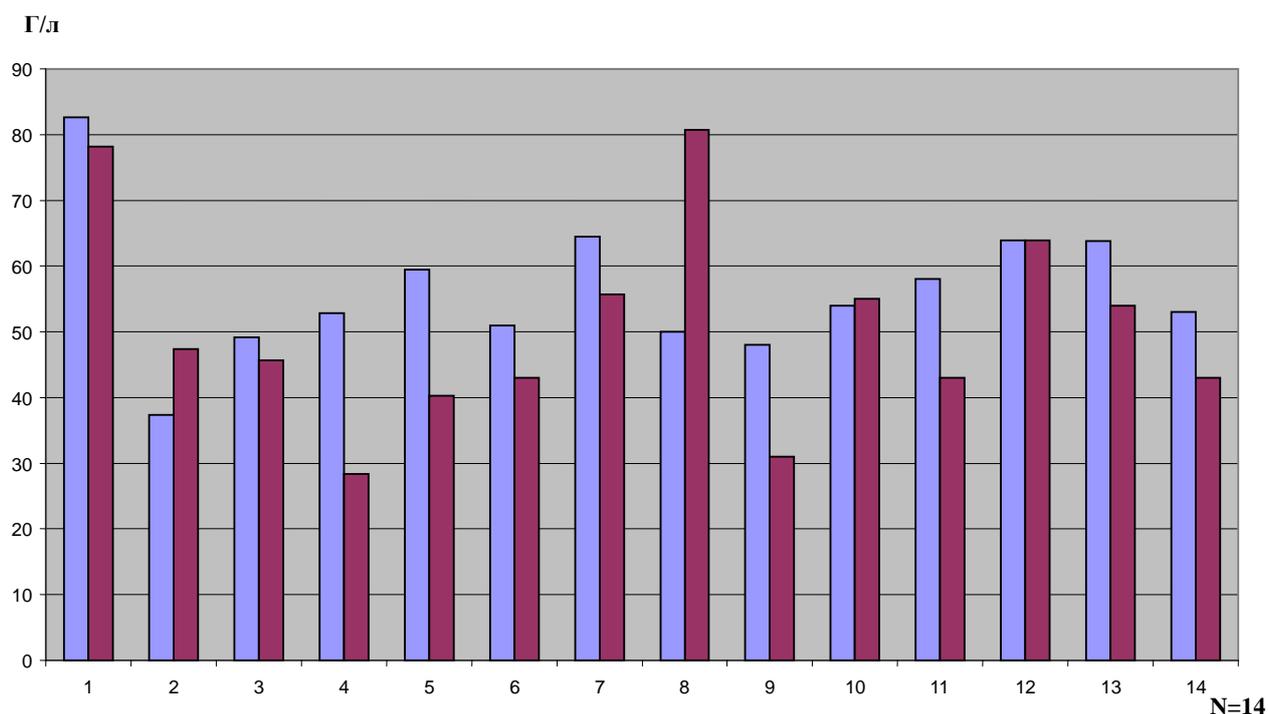
**Рисунок 21** – Изменение содержания мочевины в сыворотке крови собак со злокачественными новообразованиями в результате процедуры ГП с применением Стиросорб-514



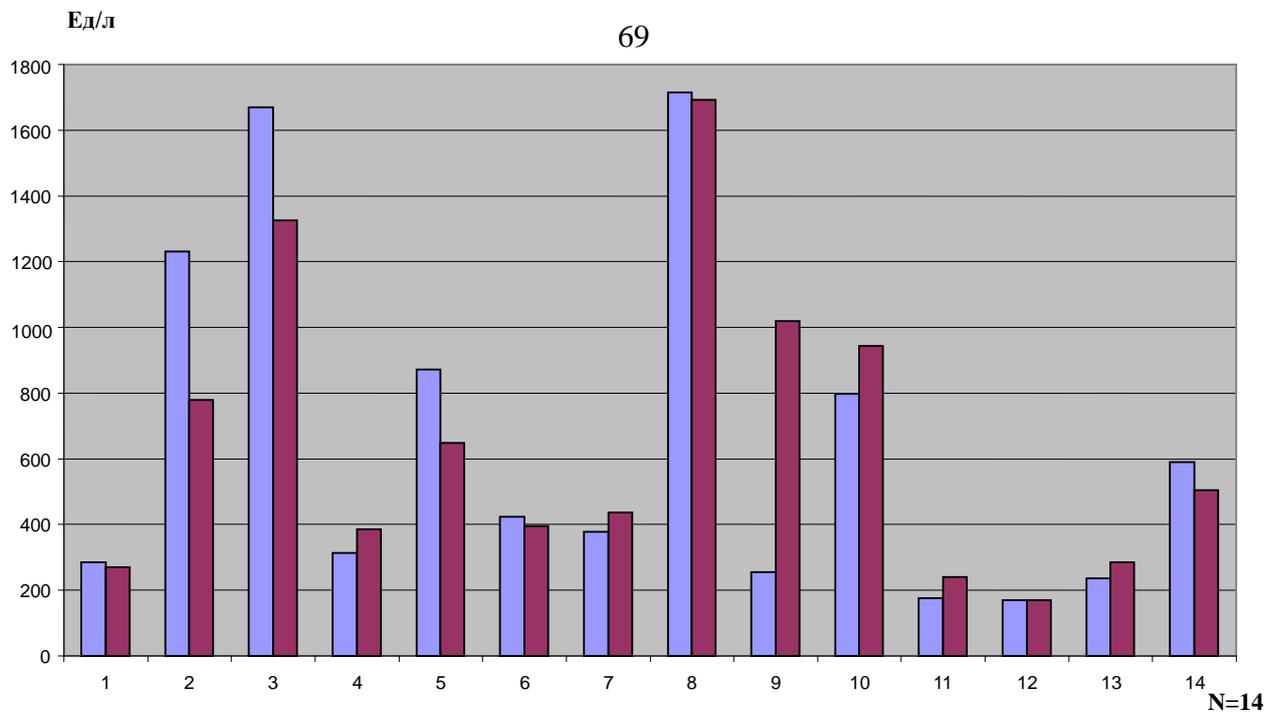
**Рисунок 22** – Изменение содержания креатинина в сыворотке крови собак со злокачественными новообразованиями в результате процедуры ГП с применением Стиросорб-514



**Рисунок 23** – Изменение содержания панкреатической амилазы в сыворотке крови собак со злокачественными новообразованиями в результате процедуры ГП с применением Стиросорб-514



**Рисунок 24** – Изменение содержания общего белка в сыворотке крови собак со злокачественными новообразованиями в результате процедуры ГП с применением Стиросорб-514



**Рисунок 25** –Изменение содержания щелочной фосфатазы в сыворотке крови собак со злокачественными новообразованиями в результате процедуры ГП с применением Стиросорб-514

**Таблица 16** – Влияние ЭКД с использованием колонок для ГП на основе Стиросорб-514 на газово-электролитный состав крови собак на фоне злокачественных новообразований \*

	pH		pCO <sub>2</sub> , мм.рт.ст.		pO <sub>2</sub> , мм.рт.ст.		BE, ммоль/л		tCO <sub>2</sub> , ммоль/л		HCO <sub>3</sub> , ммоль/л		Na, ммоль/л		K, ммоль/л		Ca, ммоль/л	
	До	после	До	после	До	после	До	после	До	после	До	после	До	после	До	после	До	После
Среднее	7,27	7,25 (0%)	42,7	40,5 (-5%)	42	52,4 (+25%)	-8,6	-8,7 (-1%)	21,2	18,2 (-34%)	20,1	17,5 (-13%)	147,6	148,7 (+1%)	4,2	4,2 (0%)	1,18	1,17 (-1%)
Медиана	7,25	7,29 (+1%)	42	40 (-5%)	40	48,5 (+21%)	-9,1	-8,7 (+4%)	19,6	17,9 (-9%)	18,6	17,7 (-5%)	147	149 (+1%)	4,3	4 (-7%)	1,22	1,25 (+2%)
25	7,22	7,17 (-1%)	34	33,5 (-1%)	37,3	47 (+26%)	-11,3	-13,3 (-18%)	18	16 (-11%)	16,9	14,9 (-12%)	144,5	146 (+1%)	3,8	3,8 (0%)	1,15	1,12 (-3%)
75	7,32	7,35 (0%)	46,5	45,5 (-2%)	46,5	57,8 (+24%)	-6,1	-3,8 (+38%)	21,6	19,2 (-11%)	21,2	19,6 (-8%)	150,5	152,5 (+1%)	4,4	4,8 (+9%)	1,31	1,29 (-2%)

**Таблица 17** – Влияние ЭКД с использованием колонок для ГП на основе Стиросорб-514 на показатели свертывающей системы крови собак на фоне злокачественных новообразований \*

	Протромбиновое время, с		АЧТВ, с		Фибриноген, с		Тромбиновое время, с	
	До	После	До	После	До	После	До	После
среднее	8,9	9 (+1%)	26,9	32,4 (+20%)	4,7	4,1 (-13%)	14,2	21,4 (+51%)
медиана	7,6	7,6 (0%)	22,3	21,1 (-5%)	5	4,4 (-12%)	16	10,4 (-35%)
25	7	6,9 (-1%)	16,8	17,2 (+2%)	3,6	2,5 (-31%)	10,3	10 (-3%)
75	10,7	12 (+12%)	39,5	31,3 (-21%)	5,8	5 (-14%)	17	16 (-6%)

\*приведены медианные значения и изменение показателей после ГП относительно исходного уровня

**Таблица 18** - Влияние ЭКД с использованием колонок для ГП на основе Стиросорб-514 на уровень липополисахарида и провоспалительных цитокинов в крови собак на фоне злокачественных новообразований \*

Параметр	До ГП	После ГП	Через сутки	норма
ЛПС, МЕ/л	0,114 (0,097-0,241)	0(0-0,003)** -100%	0,055(0-0,064)** -52%	0-0,0001
ИЛ-6, нг/мл	100 (55-188)	31 (20-52)** -69%	34 (12-43)** -66%	5,0
ИЛ-8, нг/мл	343 (200-1000)	92 (11-102)** -73%	44 (25-67)** -87%	5,0

\*приведены медианные значения и изменение показателей после ГП относительно исходного уровня, \*\* p<0,05

**Таблица 19** - Воздействие ГП на функциональную активность нейтрофилов<sup>1</sup>

Параметр		Стирсорб-514			Здоровые собаки
Стимулятор		До ГП (1т.)	После ГП (2 т.)	Через 1 сут после ГП (3т.)	
Латекс	ФИ	22 (21-24)	26,3* (23,1-27,7)	36,8* (31-43)	39 (33-43)
	ФЧ	2,9 (2,5-7,5)	5,9* (4,5-10,2)	1,9 (1,8-1,9)	2 (1-3)
Бактерии	ФИ	1 (3,5-20)	21* (11-23)	8,1 (7,1-21)	7 (6-8)
	ФЧ	1 (0,5-2)	2,7* (1,4-3,0)	2,8* (2-2,9)	2 (1-3)
Дрожжи	ФИ	8 (4-8,9)	8,9 (6-12)	1 (1-5)	7 (4-7)
	ФЧ	1 (1-1)	1 (1-1)	1 (1-1)	1 (1-1)
НСТ спонт		0,7 (4-11)	1,5 (1,3-1,8)	0,7 (0,6-0,8)	0,6 (0,5-0,7)
НСТ стим		1,9 (1,3-2,0)	2,0 (1,4-1,9)	2,3 (1,4-1,8)	1,5 (1,3-1,9)

<sup>1</sup>Данные получены совместно с д.б.н. Н.Ю.Анисимовой, \*p<0,05

### 3.3 Оценка эффективности гемосорбента «ОВОСОРБ»

В данной группе животным проводили гемоперфузию с использованием колонки «Овосорб». В группу вошли 6 собак со злокачественными новообразованиями осложненными полиорганной недостаточностью. У всех животных состояние оценивалось как тяжелое.

Как видно из таблицы 20, отмечается повышение двигательной активности животных. Отмечается нормализация показателей гемодинамики, можно отметить снижение частоты сердечных сокращений, хотя изначально повышения были не значительны. Показатели АД не претерпевали изменений.

Со стороны гематологических показателей можно отметить рост медианного показателя числа лейкоцитов на 23%.

Однако, при индивидуальной оценке снижение количества лейкоцитов отмечалось у 2 (33%) собак. А повышение уровня данного показателя наблюдалось у 4 (67%) собак. У всех животных исходный уровень лейкоцитов превышал физиологическую норму (Рисунок 26).

Влияние на остальные показатели значительным не было (Рисунок 27,28,29).

**Таблица 20** –Влияние ЭКД с использованием сорбента «Овосорб» на физиологическое состояние собак на фоне злокачественных новообразований \*

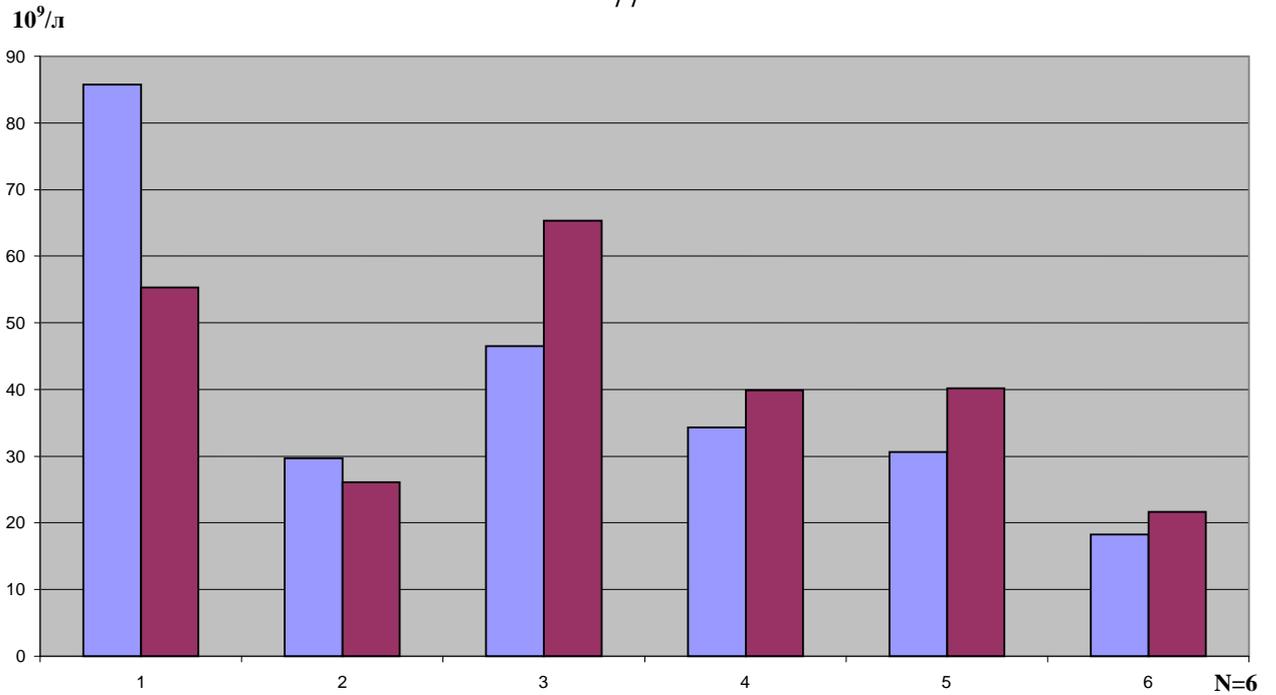
Параметр	До ГП	После ГП	Через сутки	Норма
Двигательная активность, баллы	1	2 (+100%)	2 (+100%)	5
Реактивность на внешние раздражители, баллы	3	3 (0%)	3 (0%)	5
ЧСС, уд/сек	140	118 (-16%)	112 (-20%)	70-120
АД сист., мм.рт.ст.	145	130 (-10%)	140 (-3%)	100-160
АД диастол., мм.рт.ст.	105	100 (-5%)	116 (+10%)	80-120
АД среднее, мм.рт.ст.	97	81 (-16%)	102 (+5%)	60-100

\*приведены медианные значения и изменение показателей после ГП относительно исходного уровня

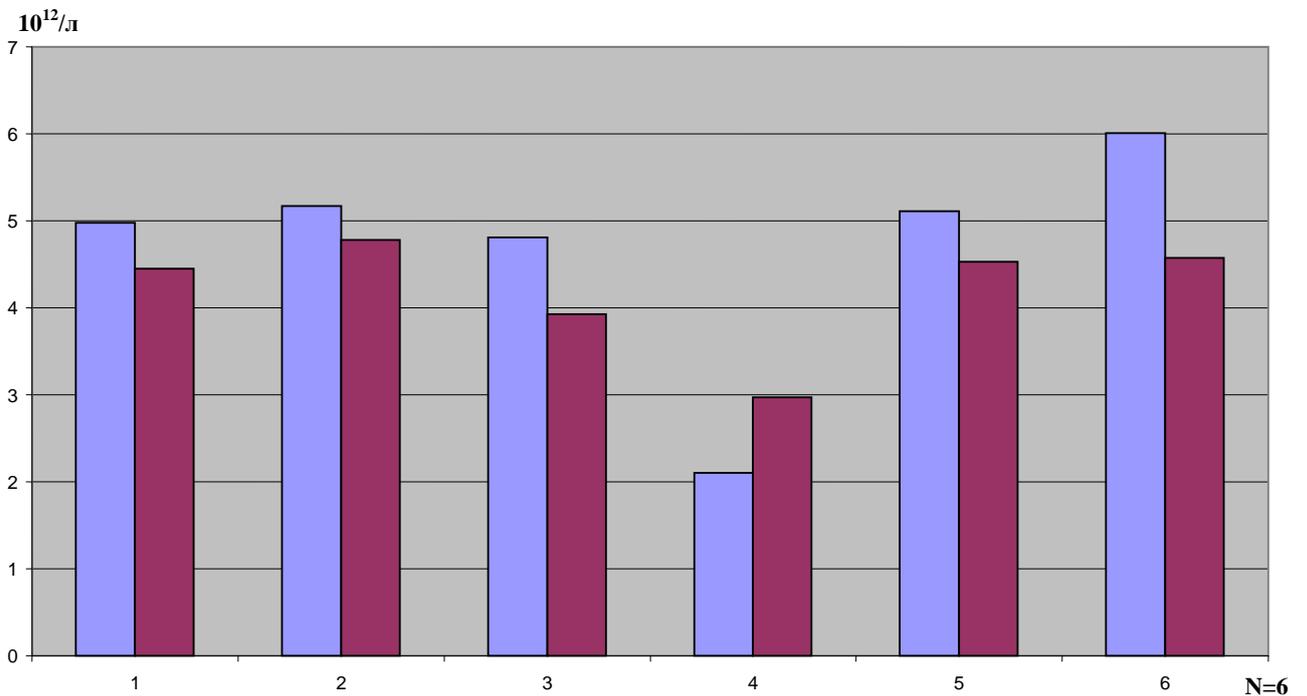
**Таблица 21** – Влияние ЭКД с использованием колонок для ГП «Овосорб» на гематологические показатели собак на фоне злокачественных новообразований \*

	Лейкоциты, 10 <sup>9</sup> /л		Эритроциты, 10 <sup>12</sup> /л		Гематокрит, %		Гемоглобин, г/дл		Тромбоциты, К/мкл	
	До	После	До	После	До	После	До	После	До	После
Среднее	40,8	41,4 (+1%)	4,7	4,2 (-11%)	29,9	27,3 (-9%)	11,8	9,8 (-17%)	176,5	163,5 (-7%)
Медиана	32,5	40 (+23%)	5	4,5 (-10%)	31,1	27,6 (-11%)	11,4	9,7 (-15%)	109,5	125,5 (+15%)
25	29,9	29,5 (-1%)	4,9	4,1 (-16%)	28,7	25,9 (-10%)	11	8,9 (-19%)	74	72,5 (-2%)
75	43,5	51,5 (+18%)	5,2	4,6 (-12%)	32,4	28,4 (-12%)	12,1	10,4 (-14%)	215,5	189,8 (-12%)

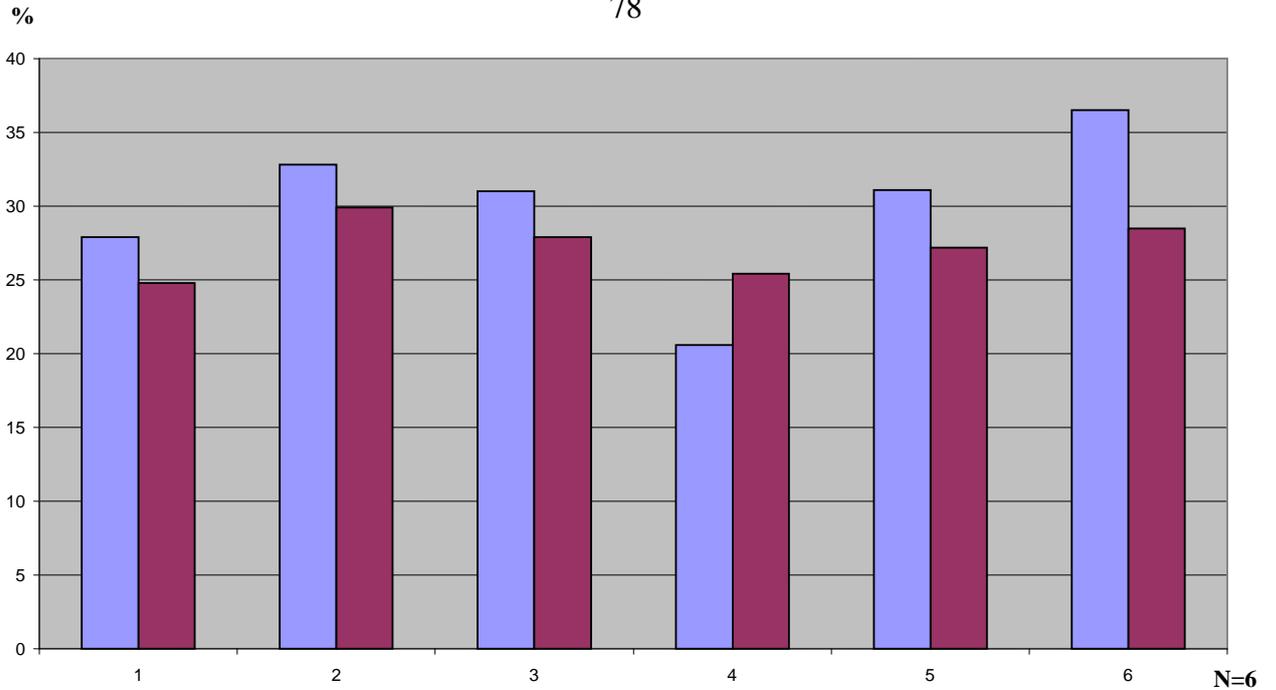
\*приведены медианные значения и изменение показателей после ГП относительно исходного



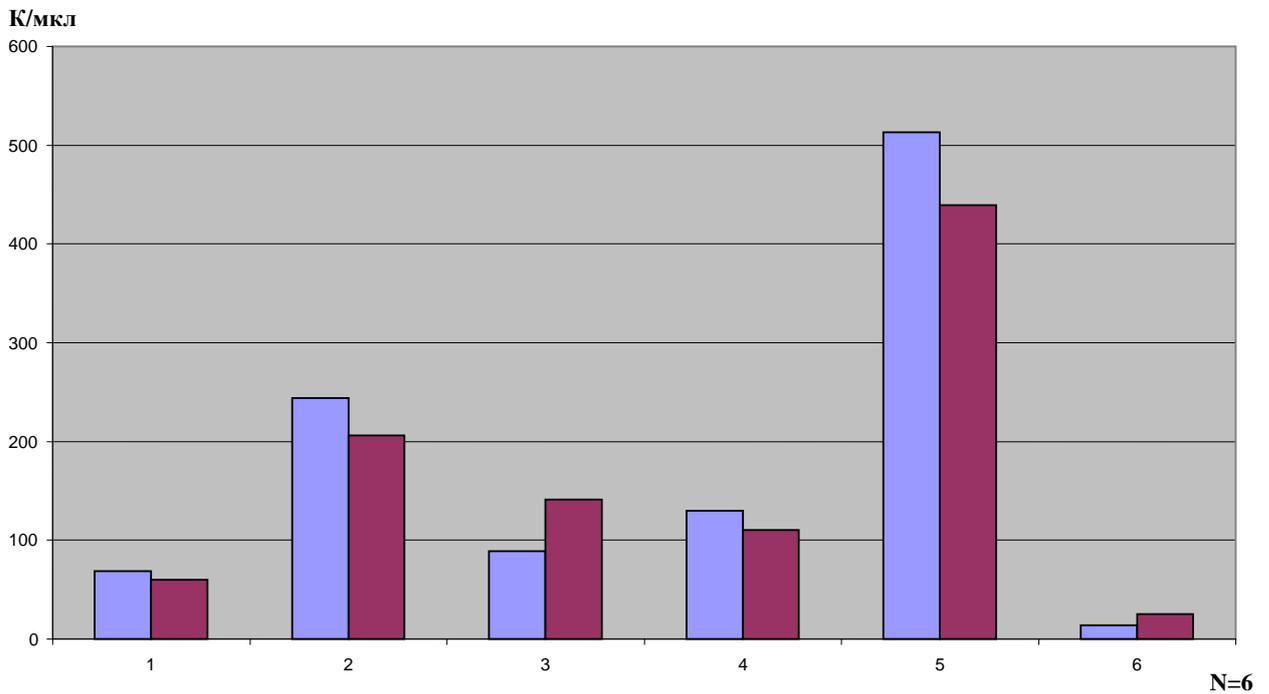
**Рисунок 26** – Изменение содержания лейкоцитов в крови собак со злокачественными новообразованиями в результате процедуры ГП с применением «Овосорб»



**Рисунок 27** – Изменение содержания эритроцитов в крови собак со злокачественными новообразованиями в результате процедуры ГП с применением «Овосорб»



**Рисунок 28** – Изменение уровня гематокрита в крови собак со злокачественными новообразованиями в результате процедуры ГП с применением «Овосорб»



**Рисунок 29** – Изменение содержания тромбоцитов в крови собак со злокачественными новообразованиями в результате процедуры ГП с применением «Овосорб»

Согласно данным таблицы 22 у животных после ГП с использованием колонки «Овосорб» происходит снижение медианного показателя глюкозы на 39 % и щелочной фосфатазы на 36 %. Отмечено так же повышение уровней панкреатической амилазы и АЛТ на 51 % и 38 % соответственно. У собак со злокачественными новообразованиями после ГП с колонкой «Овосорб» отмечено влияние на белковую фракцию, что выражается в снижении уровня альбумина на 20 % и общего белка на 16%.

При индивидуальном рассмотрении животных повышенный уровень глюкозы отмечался у 3 (50%) собак. Снижение данного показателя наблюдалось у 2 (33,3%) животных, а повышение у 1 (16,7 %) собаки (Рисунок 35).

Из всех животных снижение уровня билирубина отмечено только у 1 (16,7%) собаки (Рисунок 30).

Показатель уровня щелочной фосфатазы регистрировался выше нормы у 4 (66,7%) собак. Снижение данного показателя отмечалось у 1 (16,7%) собаки более чем на 90 %. Так же повышение щелочной фосфатазы было отмечено у 3 (50%) собак (Рисунок 37).

Влияния гемосорбента «Овосорб» на остальные биохимические показатели не был выявлен (Рисунок 31,32,33,34,36).

### ***Клинический пример 3.***

*Бернская горная пастушья собака, 9 лет, не стерилизованная.*

*Поступила в клинику в тяжелом состоянии, АД 100/40, ЧСС 160, Т 41, тахипноэ. При пальпации отмечалась выраженная болезненность брюшной полости. При проведении УЗИ брюшной полости выявлено подозрение на новообразование яичника и перфорацию матки со свободной жидкостью в брюшной полости.*

*Входящие анализы крови: WBC 13, RBC 7,9, PLT 34.*

*Общий билирубин 22, мочевины 12,9, креатинин 106, АЛТ 38, щелочная фосфатаза 454.*

*После стабилизации состояния проведена операция по удалению матки с яичниками и промыванию брюшной полости. По цитологии карцинома яичников.*

*Через 2 дня состояние животного оставалось крайне тяжелым, АД 110/70, ЧСС 120. Проводимая инфузионная терапия с антибактериальными препаратами и с применением вазопрессоров не улучшила состояние. Было принято решение проводить гемоперфузию. Процедуру проводили на аппарате АМП-ТТ с использованием гемосорбционной колонки «Овосорб». Гепариновая нагрузка составила 100 Ед на килограмм.*

*Анализы до ГП: WBC 46,5, RBC 3,93, PLT 89.*

*Общий билирубин 33,3, мочевины 8,6, креатинин 118,7, АЛТ 34,5, щелочная фосфатаза 2377.*

*Проводилось три сеанса гемоперфузии.*

*Анализы после трех ГП: WBC 46,5, RBC 4,81, PLT 141.*

*Общий билирубин 35,4, мочевины 3,5, креатинин 63,5, АЛТ 86,6, щелочная фосфатаза 270,6.*

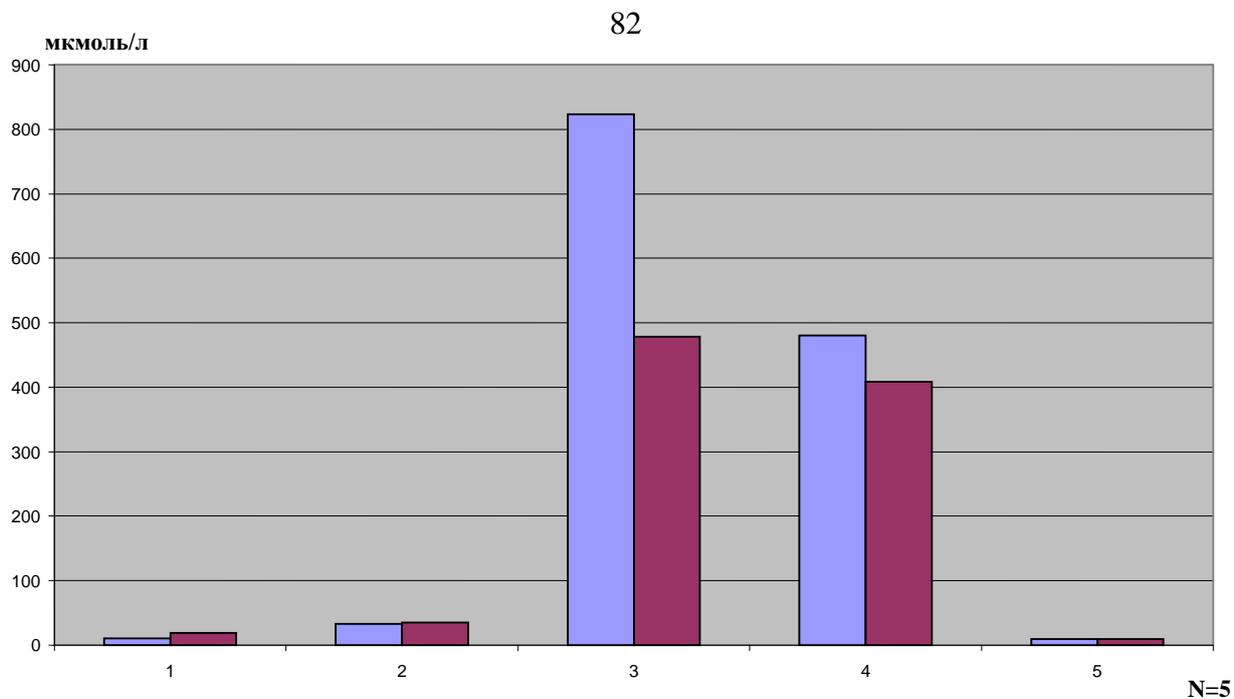
*По причине финансовых трудностей владельцев животного проведение очередных сеансов ГП было невозможным. Через два дня животное погибло.*

*Исследование, проведенное с использованием гемосорбента «Овосорб», свидетельствует о том, что он существенно не влияет на элиминацию метаболитов, а также способствует снижению белков крови. Процедура ГП с применением «Овосорб» существенно не снижает уровень лейкоцитоза, а в некоторых случаях приводит даже к росту этого показателя.*

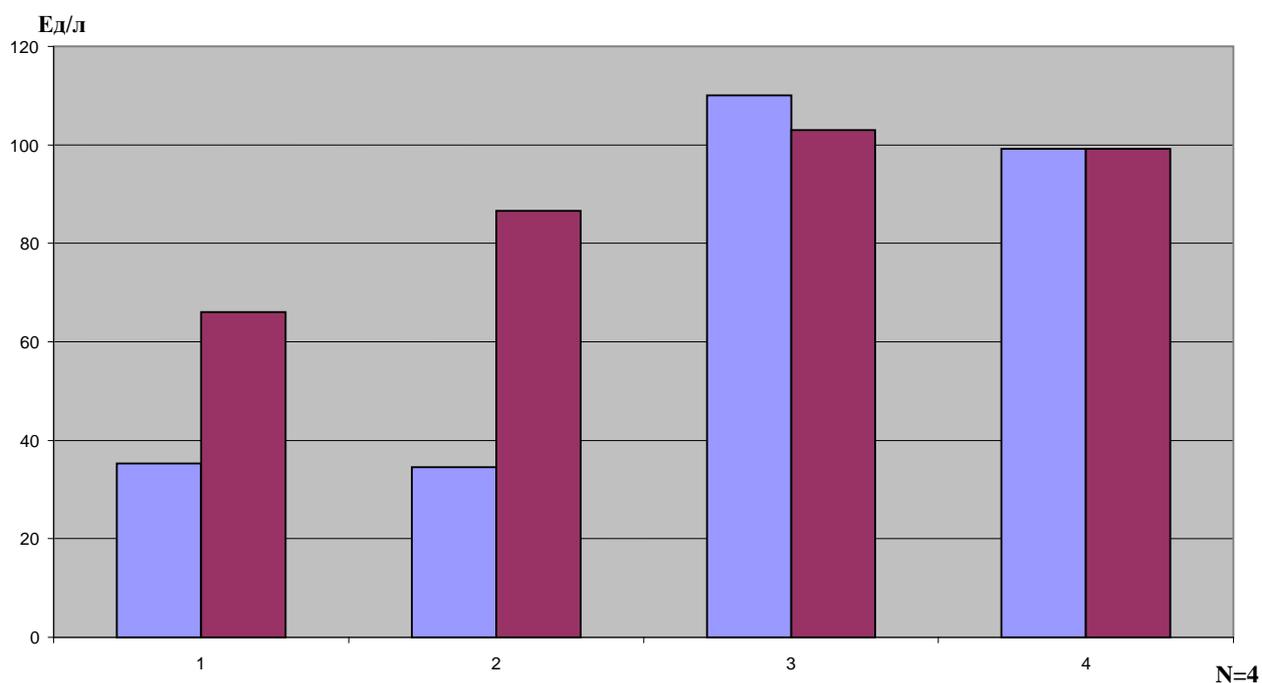
**Таблица 22** – Влияние ЭКД с использованием колонок для ГП «Овосорб» на биохимические показатели в сыворотке крови собак на фоне злокачественных новообразований \*

	Глюкоза, ммоль/л		Билирубин, мкмоль/л		Креатинин, мкмоль/л		Мочевина, ммоль/л		АЛТ, Ед/л		Панкреатическая амилаза, Ед/л		Общий белок, г/л		Альбумин, г/л		Щелочная фосфатаза, Ед/л	
	До	После	До	После	До	После	До	После	До	После	До	После	До	После	До	После	До	После
среднее	9,8	10,1 (+3%)	271, 4	189,9 (-30%)	156, 4	146,1 (-7%)	10,3	8,4 (-18%)	69,8	88,7 (+27%)	766,5	1170,4 (+53%)	53,7	54 (+1%)	20,9	15,7 (-25%)	945,6	468 (-51%)
медиан а	9,6	5,9 (-39%)	33,3	35,4 (+6%)	118, 7	111,2 (-6%)	7,5	8,1 (+8%)	67,3	92,9 (+38%)	778	1178 (+51%)	60,4	51 (-16%)	21,1	16,9 (-20%)	585,1	430,6 (-36%)
25	6,6	5,4 (-18%)	10,6	18,7 (+76% )	99,6	83,9 (-16%)	6,2	5,7 (-8%)	35,1	81,5 (+132%)	592	431 (-27%)	47,5	48,9 (+3%)	20,3	12,5 (-38%)	450,4	261,7 (-42%)
75	12, 8	10,7 (-16%)	480	408 (-15%)	188	154 (-18%)	11,6	10,8 (-7%)	101,9	100,2 (-2%)	872,8	1464 (+68%)	63,2	57,6 (-9%)	21,7	20,2 (-7%)	1080,3	636,9 (-41%)

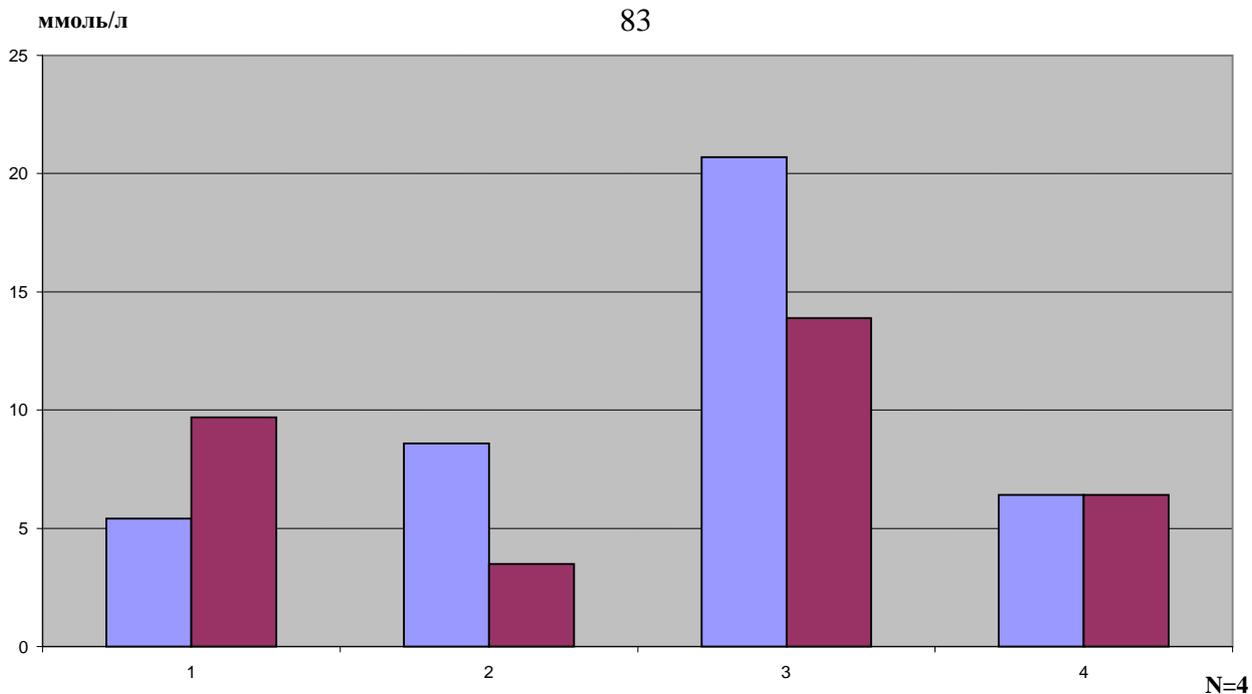
\*приведены медианные значения и изменение показателей после ГП относительно исходного уровня



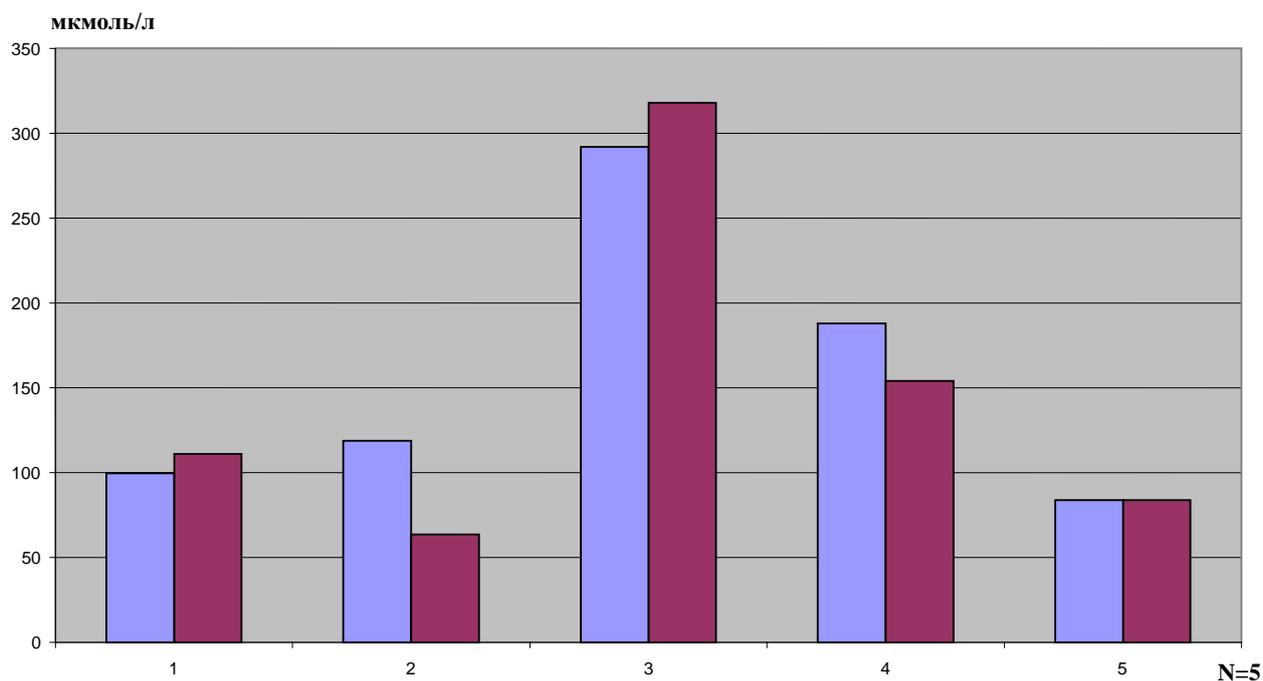
**Рисунок 30** – Изменение содержания билирубина в сыворотке крови собак со злокачественными новообразованиями в результате процедуры ГП с применением «Овосорб»



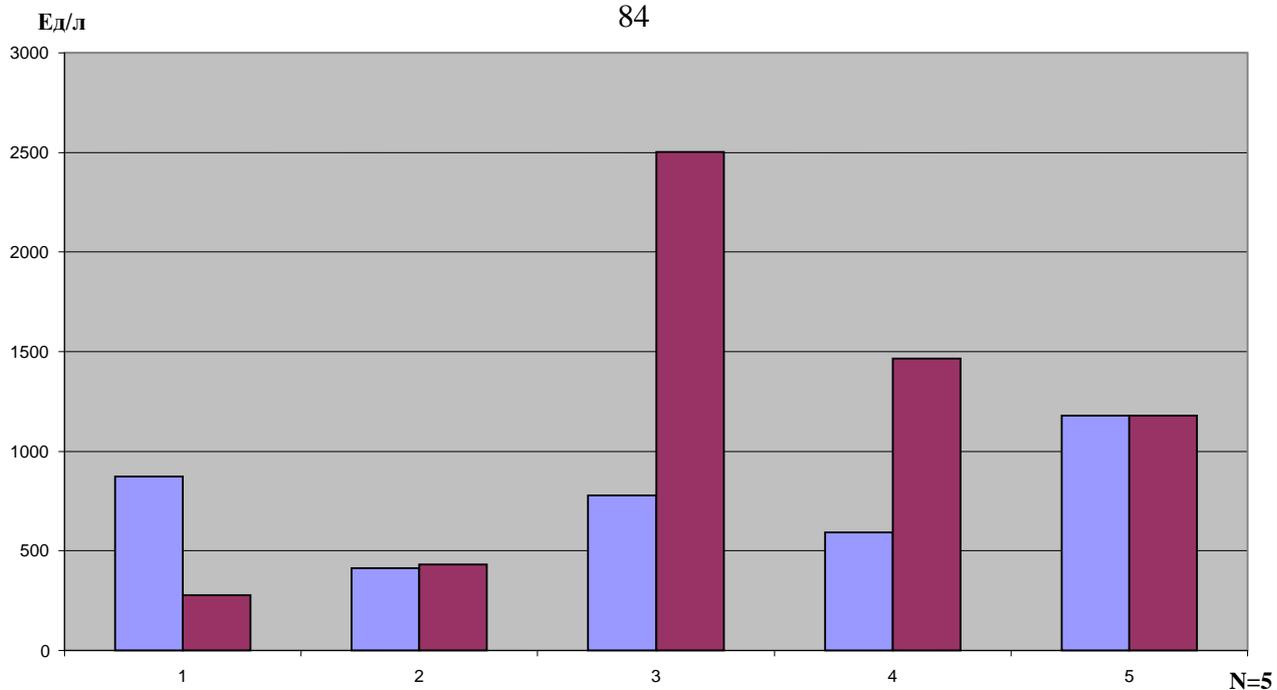
**Рисунок 31** –Изменение содержания АЛТ в сыворотке крови собак со злокачественными новообразованиями в результате процедуры ГП с применением «Овосорб»



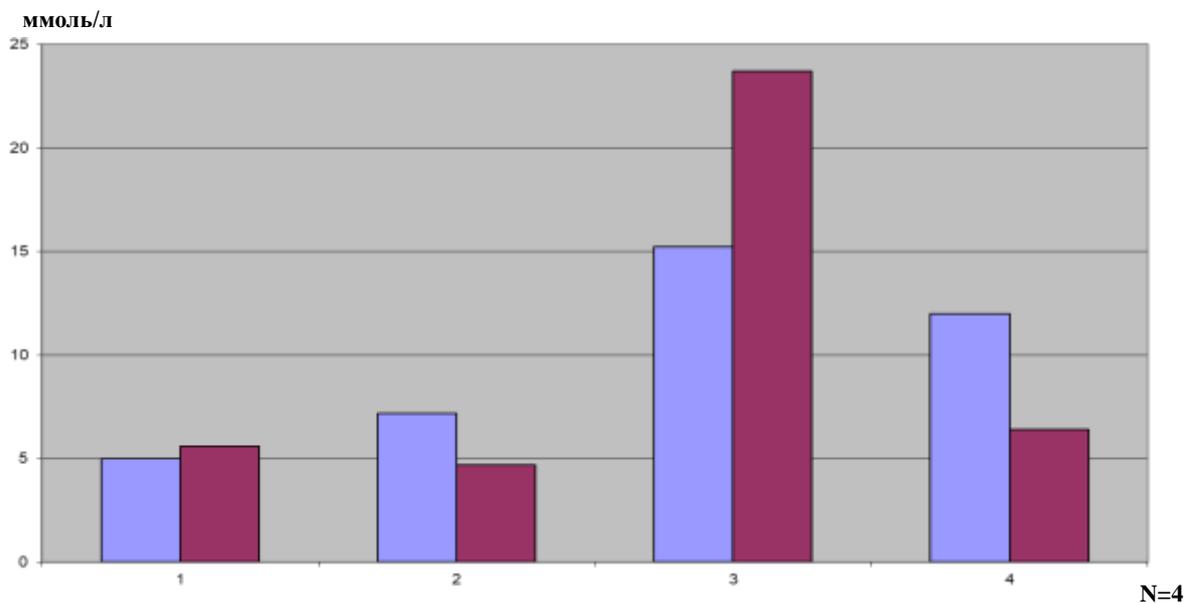
**Рисунок 32** – Изменение содержания мочевины в сыворотке крови собак со злокачественными новообразованиями в результате процедуры ГП с применением «Овосорб»



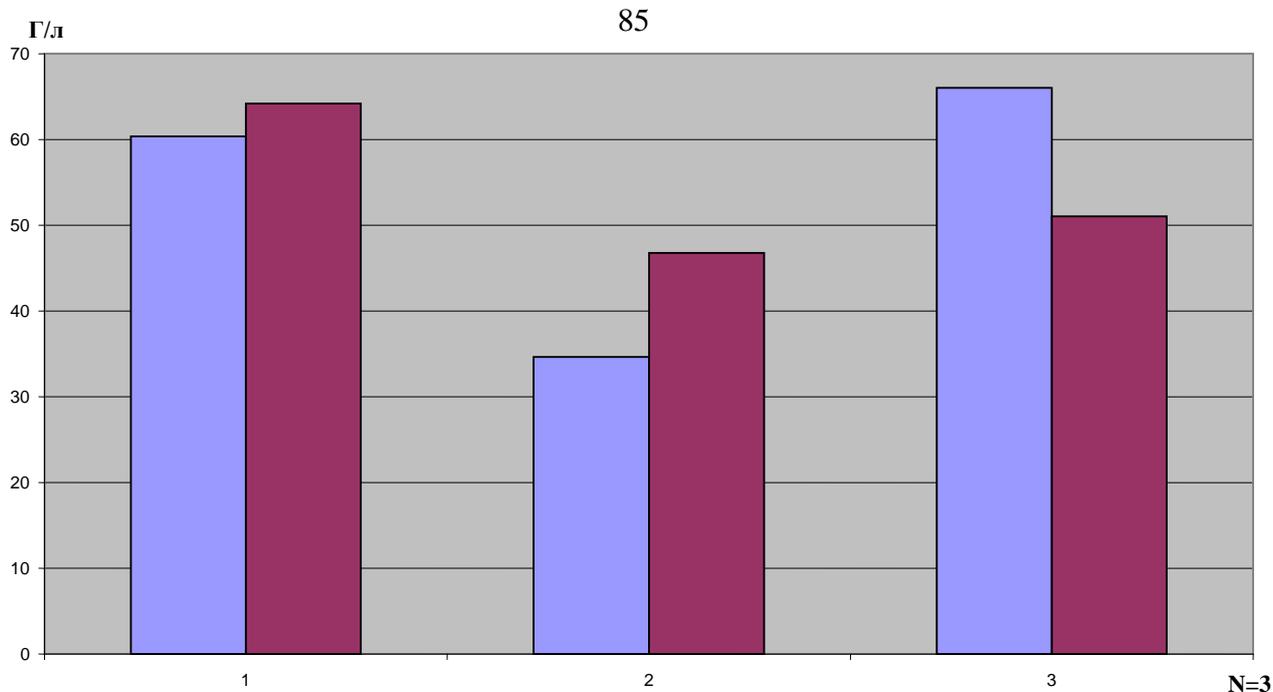
**Рисунок 33** – Изменение содержания креатинина в сыворотке крови собак со злокачественными новообразованиями в результате процедуры ГП с применением «Овосорб»



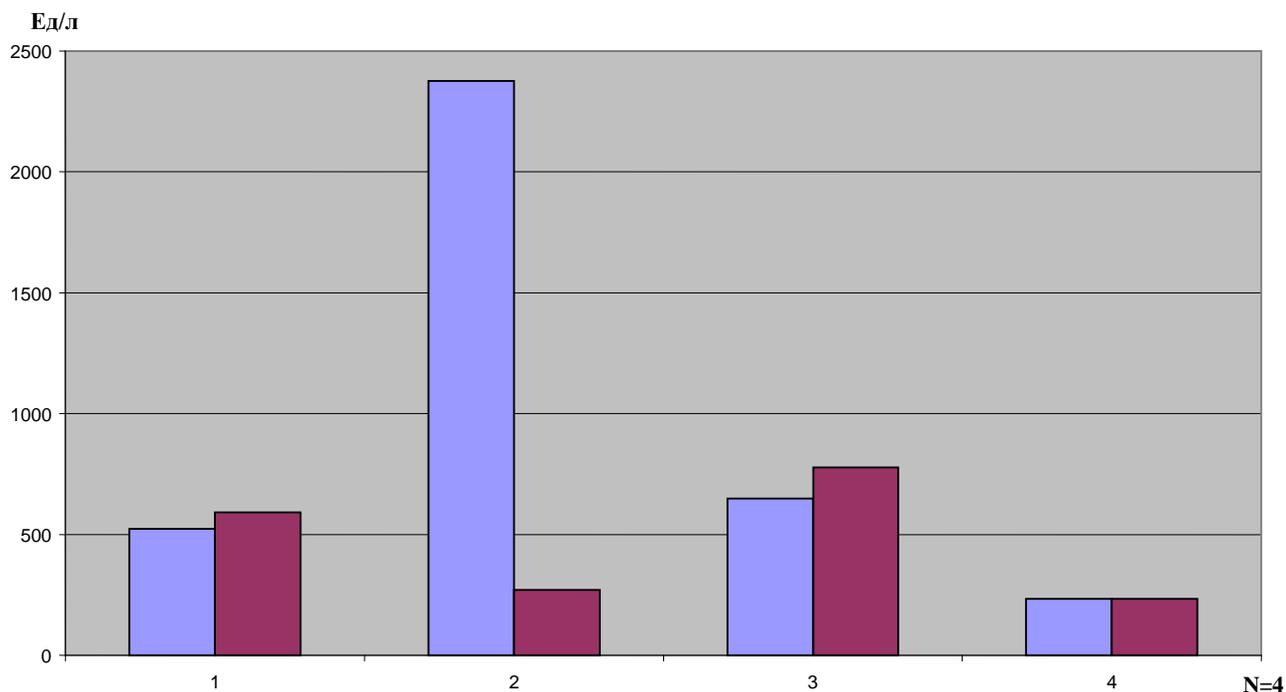
**Рисунок 34** – Изменение содержания панкреатической амилазы в сыворотке крови собак со злокачественными новообразованиями в результате процедуры ГП с применением «Овосорб»



**Рисунок 35** – Изменение содержания глюкозы в сыворотке крови собак со злокачественными новообразованиями в результате процедуры ГП с применением «Овосорб»



**Рисунок 36** – Изменение содержания общего белка в сыворотке крови собак со злокачественными новообразованиями в результате процедуры ГП с применением «Овосорб»



**Рисунок 37** – Изменение содержания щелочной фосфатазы в сыворотке крови собак со злокачественными новообразованиями в результате процедуры ГП с применением «Овосорб»

**Таблица 23** - Влияние ЭКД с использованием колонок для ГП «Овосорб» на газово-электролитный состав сыворотки крови собак на фоне злокачественных новообразований \*

	pH		pCO <sub>2</sub> , мм.рт.ст.		pO <sub>2</sub> , мм.рт.ст.		BE, ммоль/л		tCO <sub>2</sub> , ммоль/л		HCO <sub>3</sub> , ммоль/л		Na, ммоль/л		K, ммоль/л		Ca, ммоль/л	
	До	После	До	После	До	После	До	После	До	После	До	После	До	После	До	После	До	После
Среднее	7,41	7,44 (0%)	37	34 (-8%)	42	56 (+33%)	-1,3	-1,25 (+4%)	23,9	23,3 (-3%)	22,8	22,4 (-2%)	151,3	153,3 (+1%)	3,8	3,6 (-5%)	1,32	1,29 (-2%)
медиана	7,44	7,45 (0%)	34,5	35,5 (+3%)	42,5	43,5 (+2%)	-0,3	0,1 (+67%)	24,3	24,9 (+2%)	23,2	23,8 (+3%)	150,5	152 (+1%)	3,9	3,6 (-8%)	1,33	1,3 (-2%)
25	7,41	7,43 (0%)	31,5	31,3 (-1%)	38,8	41,3 (+6%)	-1,8	-1,5 (+17%)	22,5	22,5 (0%)	21,5	21,5 (0%)	146,5	148,5 (+1%)	3,7	3,2 (-14%)	1,28	1,27 (-1%)
75	7,44	7,46 (0%)	40	38,3 (-4%)	45,8	58,3 (+27%)	0,2	0,3 (+50%)	25,8	25,7 (0%)	24,5	24,7 (+1%)	155,3	156,8 (+1%)	4	4 (0%)	1,37	1,32 (-4%)

\*приведены медианные значения и изменение показателей после ГП относительно исходного уровня

**Таблица 24** – Влияние ЭКД с использованием колонок для ГП «Овосорб» на показатели свертывающей системы крови собак на фоне злокачественных новообразований \*

	Протромбиновое время, с		АЧТВ, с		Фибриноген, с		Тромбиновое время, с	
	До	После	До	После	До	После	До	После
среднее	8,3	8,3 (0%)	22	18,3 (-17%)	4	3,6 (-10%)	12,7	10,3 (-19%)
медиана	8	8 (0%)	20	13 (-35%)	3,5	3,5 (0%)	15	8 (-47%)
25	7,5	7,5 (0%)	16,5	11 (-33%)	3,5	2,9 (-17%)	11,5	8 (-30%)
75	9	9 (0%)	26,5	23 (-13%)	4,3	4,3 (0%)	15	11,5 (-23%)

\*приведены медианные значения и изменение показателей после ГП относительно исходного уровня

### **3.4 Ретроспективный анализ группы без проведения гемоперфузии**

В контрольную группу были включены животные с полиорганной недостаточностью на фоне злокачественного новообразования. Всем животным проводилась консервативная терапия, в нее входило: инфузионная терапия, антибактериальная терапия, нутритивная терапия и в ряде случаев катехоламиновая поддержка. В данной группе животных не проводились методы экстракорпоральной детоксикации. В группу включено 16 собак с полиорганной недостаточностью из них 10 с диагностированным сепсисом. У 9 собак отмечено состояние крайней степени тяжести, у 7 – тяжелое.

Через сутки консервативной терапии отмечалось незначительное улучшение клинического состояния больных животных. Наблюдалось улучшение двигательной активности, а также регистрировалась тенденция к нормализации средних показателей артериального давления через сутки и двое после начала терапии. (Таблица 25)

Однако у 6 (37,5%) собак артериальное давление через сутки после начала терапии снизилось ниже средне нормальных уровней, что потребовало применения вазопрессоров.

Исходя из таблицы 26 у животных на консервативной терапии не отмечается серьезных изменений медианных показателей уровня гематологических показателей. Но наблюдается тенденция к снижению показателей количества эритроцитов и уровня гематокрита у животных контрольной группы. Снижение уровня гематокрита и эритроцитов более чем на 10 % через сутки терапии происходило у 5 (31,3%) собак (Рисунок 40,41). У одного животного произошло повышения уровня лейкоцитов почти в два раза (Рисунок 38). Остальные изменения гематологических показателей были отмечены как незначительные у всех животных данной группы (Рисунок 39,42).

**Таблица 25** – Влияние консервативной терапии на физиологическое состояние собак на фоне сепсиса и ПОН\*

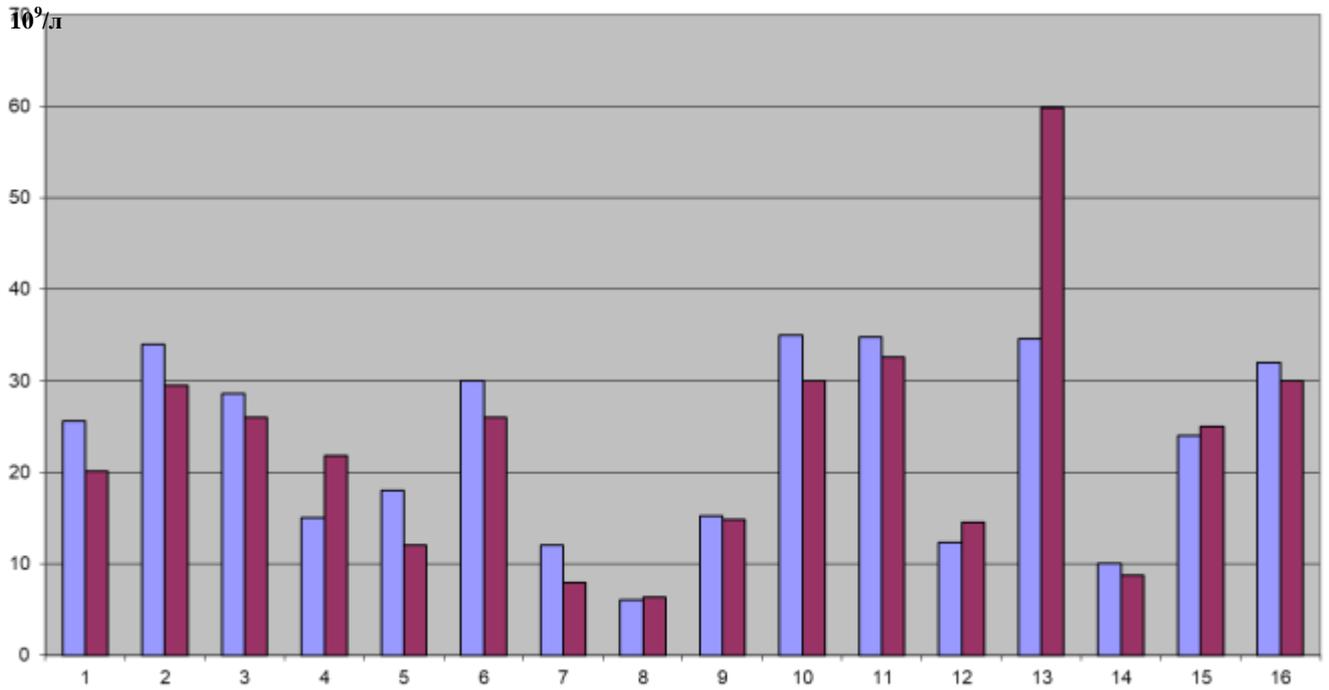
Параметр	До терапии	Через сутки	Через двое суток	Норма
Двигательная активность, Баллы	2	2,5 (+25%)	2,5 (+25%)	5
Реактивность на внешние раздражители, баллы	3	3 (0%)	3 (0%)	5
ЧСС, уд/сек	128	125 (-2%)	116 (-10%)	70-120
АД сист., мм.рт.ст.	167	125 (-35%)	120 (-28%)	100-160
АД диастол., мм.рт.ст.	101	104 (+3%)	95 (-6%)	80-120
АД среднее, мм.рт.ст.	112,5	106 (-6%)	98 (-13%)	60-100

\*приведены медианные значения и изменение показателей до лечения через сутки относительно исходного уровня

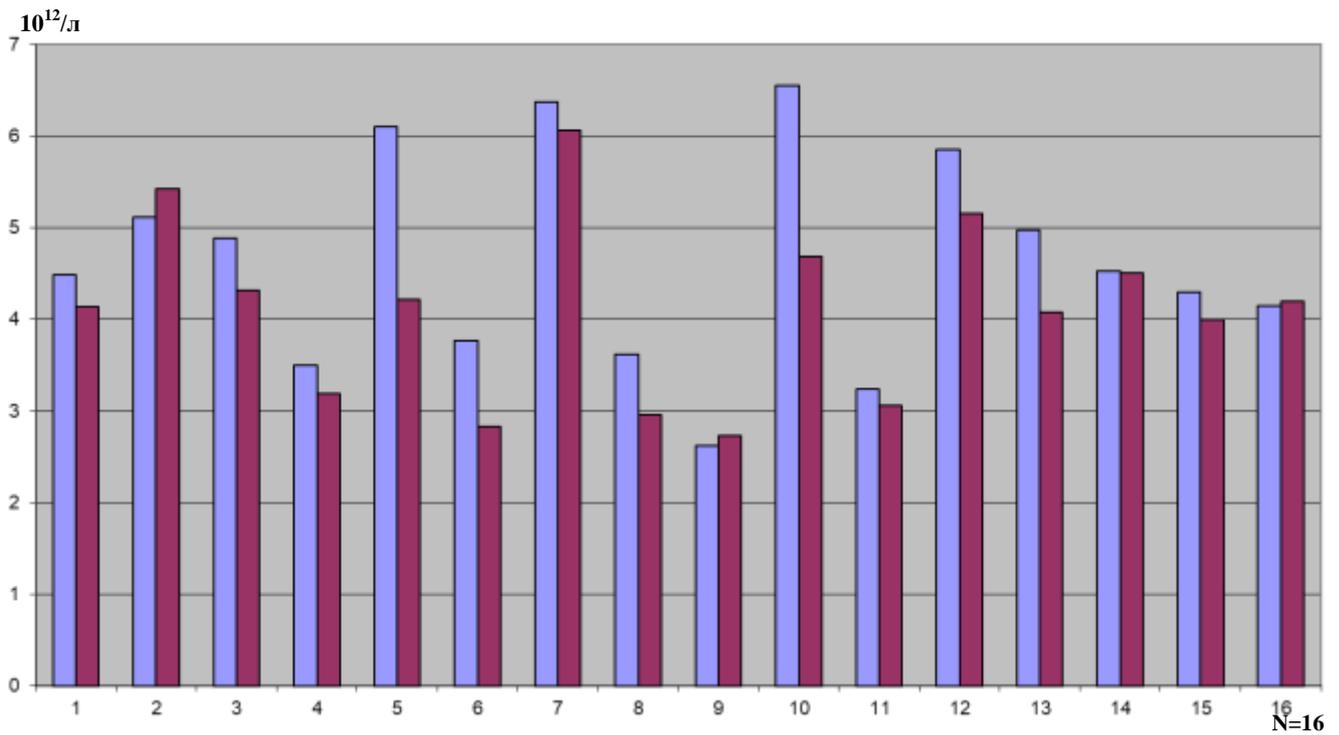
**Таблица 26** – Влияние консервативной терапии на гематологические показатели собак на фоне сепсиса и ПОН\*

	Лейкоциты, 10 <sup>9</sup> /л		Эритроциты, 10 <sup>12</sup> /л		Гематокрит, %		Гемоглобин, г/дл		Тромбоциты, К/мкл	
	До	Через сутки	До	Через сутки	До	Через сутки	До	Через сутки	До	Через сутки
Среднее	22,9	22,8 (-1%)	4,6	4,1 (-11%)	32,3	28,1 (-14%)	10,8	9,6 (-12%)	174	185 (+6%)
Медиана	24,8	23,4 (-6%)	4,5	4,2 (-7%)	31,3	28,3 (-10%)	10,7	9,6 (-11%)	152	173 (+13%)
25	14,3	13,9 (-3%)	3,7	3,2 (-14%)	25,9	21,7 (-17%)	8,5	7,2 (-16%)	49	29 (-41%)
75	32,5	29,6 (-9%)	5,3	4,5 (-16%)	39,3	32 (-19%)	12,9	10,6 (-18%)	230	244 (+6%)

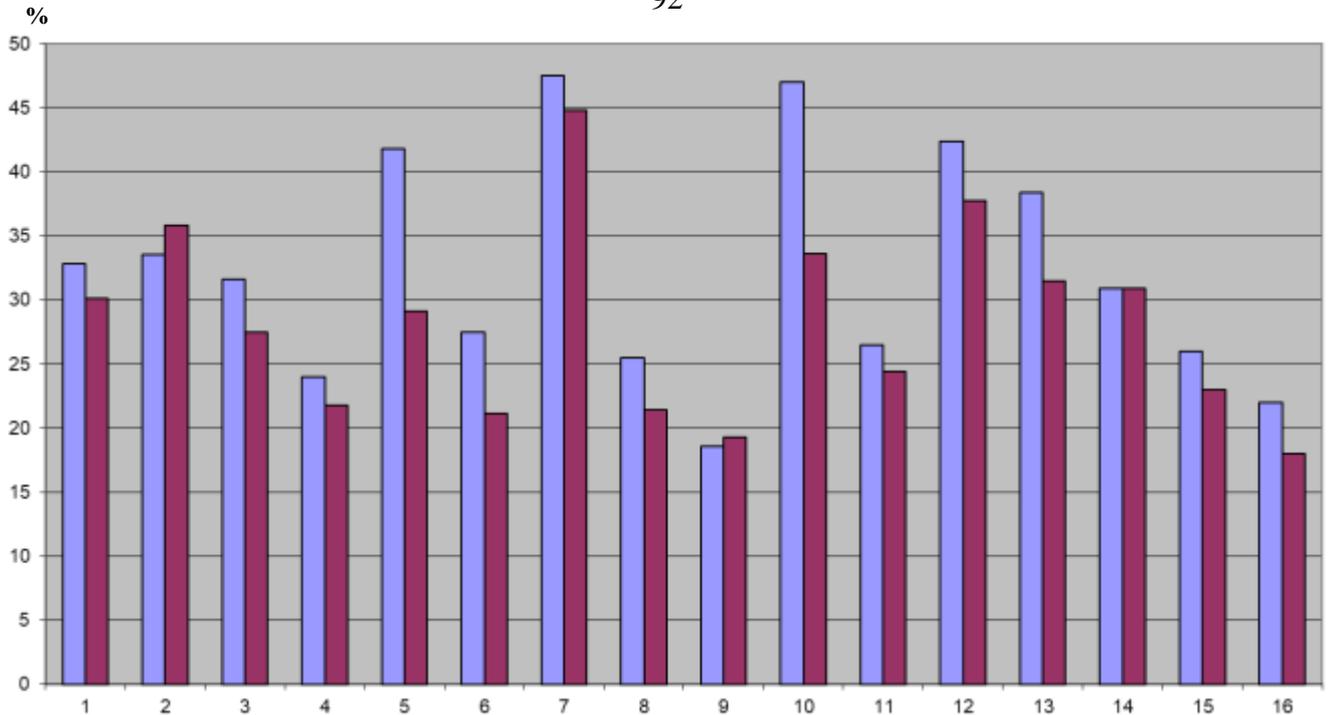
\*(приведены медианные значения и изменение показателей до лечения и через сутки относительно исходного)



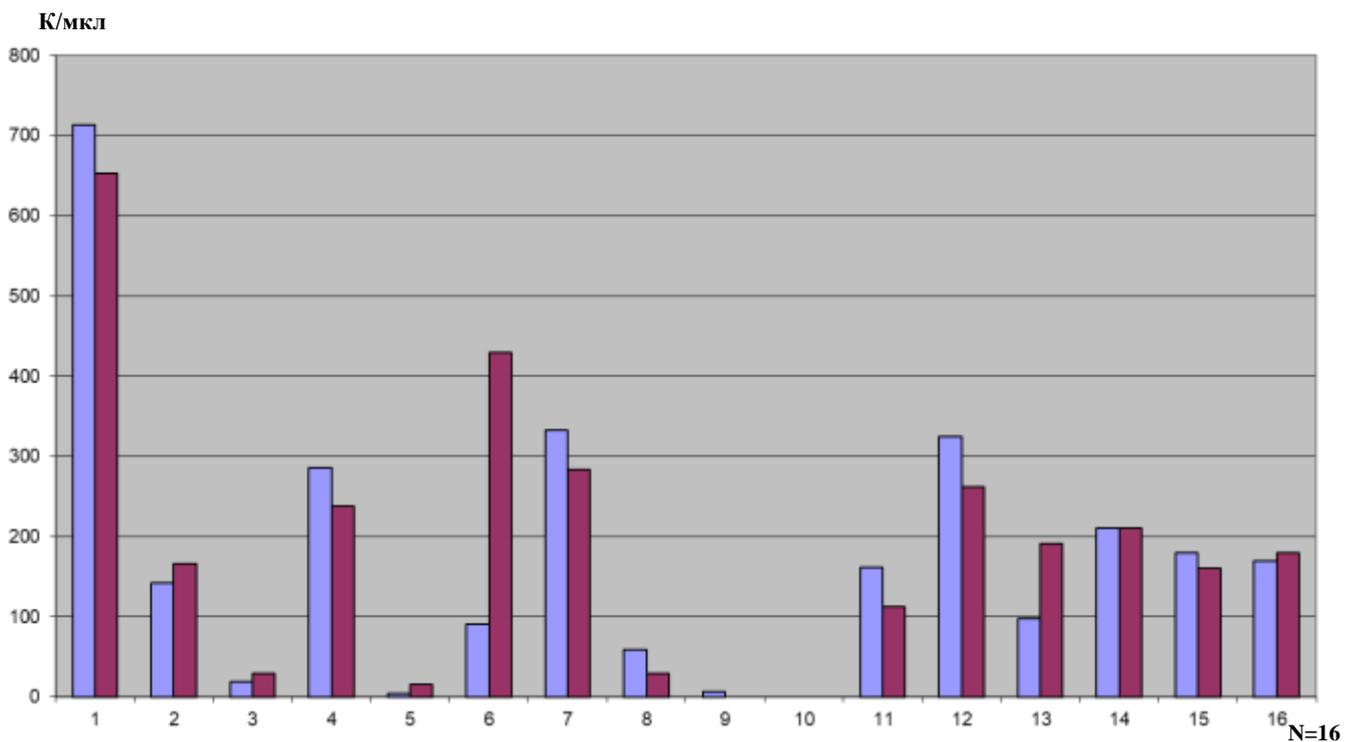
**Рисунок 38** – Изменение содержания лейкоцитов в крови собак с сепсисом и ПОН при консервативной терапии <sup>N=16</sup>



**Рисунок 39** – Изменение содержания эритроцитов в крови собак с сепсисом и ПОН при консервативной терапии <sup>N=16</sup>



**Рисунок 40** –Изменение уровня гематокрита в крови собак с сепсисом и ПОН при консервативной терапии N=16



**Рисунок 41** – Изменение содержания тромбоцитов в крови собак с сепсисом и ПОН при консервативной терапии N=16

Согласно данным таблицы 27 регистрируется тенденция к снижению уровня биохимических показателей, о чем свидетельствует снижение медианного

показателя билирубина на 8%, мочевины на 13%, креатинина на 10%, щелочной фосфатазы на 20%.

При индивидуальной оценке собак данной группы (Рисунок 42) снижение уровня билирубина зарегистрировано у 9 (56%) животных, из них у 3 (19%) концентрации билирубина снижались более чем на 20%. У двух (33%) животных было отмечено повышение данного показателя более 25%.

У собак из контрольной группы через сутки терапии отмечалось снижение уровня креатинина у 10 (62,5%) животных, из них у 5 (31%) собак показатель превышал уровень физиологической нормы (Рисунок 45). У двух собак выявлено значительное снижение уровня АЛТ, у одного животного произошло повышение данного показателя в 4,5 раза (Рисунок 43). Снижение щелочной фосфатазы на 40% было у одной собаки (Рисунок 48). Значимых изменений в остальных биохимических показателях выявлено не было (Рисунок 44,46,47).

При анализе пациентов, которым проводили консервативную терапию, не было отмечено значимого влияния показатель рН крови, а также на содержание газового состава крови и показатели основных электролитов крови собак (Таблица 28).

Исходя из таблицы 29 можно отметить увеличение активированного парциального тромбопластинового времени, однако эти изменения не приводили к клиническим проявлениям коагулопатии.

В контрольной группе животных выживаемость животных составила 50%.

#### ***Клинический пример 4.***

*Собака немецкая овчарка, 10 лет, самка, стерилизованная. Поступила в клинику «Биоконтроль» с подозрением на заворот желудка, в крайне тяжелом состоянии.*

*На предоперационном обследовании было выявлено новообразование грудной полости (н/о легкого?).*

*Принято решение разделить план лечения на 2 этапа, первый лапоротомия, далее после стабилизации проведение торакотомии. Была выполнена лапоротомия, с гастропексией и спленэктомией. После стабилизации состояния,*

через 3 дня, выполнена торакотомия с лобэктомией правой каудальной доли легкого. По гистологическому заключению аденокарцинома легкого.

Состояние животного на следующий день после операции тяжелое, сопор, апатия, гипотензия (100/60 мм.рт.ст.), отказ от самостоятельного приема корма и воды.

Анализы на следующий день после лобэктомии: WBC 28,6, RBC 4,88, PLT 19.

Общий билирубин 5, мочевины 40, креатинин 300, щелочная фосфатаза 442, панкреатическая амилаза 2474.

Животному проводилось лечение в условиях интенсивной терапии (инфузионная терапия, антибактериальная терапия, нутритивная поддержка)

Анализы через сутки: WBC 26, RBC 4,3, PLT 29.

Общий билирубин 5, мочевины 45, креатинин 280, щелочная фосфатаза 244, панкреатическая амилаза 2000.

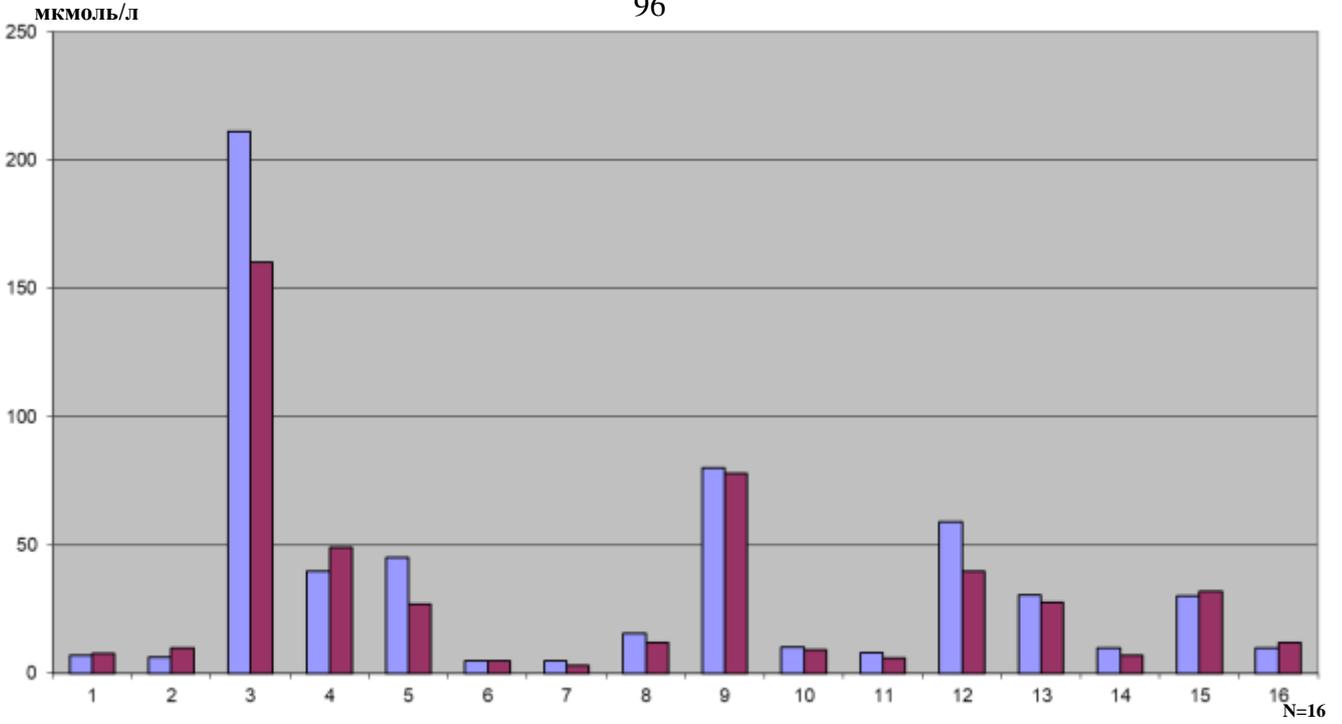
Наблюдалось незначительное улучшение общего состояния, так же отмечалась нормализация гемодинамики, что выражалось в повышении артериального давления (130/84 мм.рт.ст.). Возобновился самостоятельный прием воды.

Проведенный ретроспективный анализ свидетельствует о том, что консервативная терапия сепсиса и ПОН у собак недостаточно эффективна и требуются новые подходы для повышения выживаемости этой группы пациентов. Одним из перспективных подходов позволяющих элиминировать из кровотока медиаторы воспаления и метаболиты, являются методы гемоперфузии.

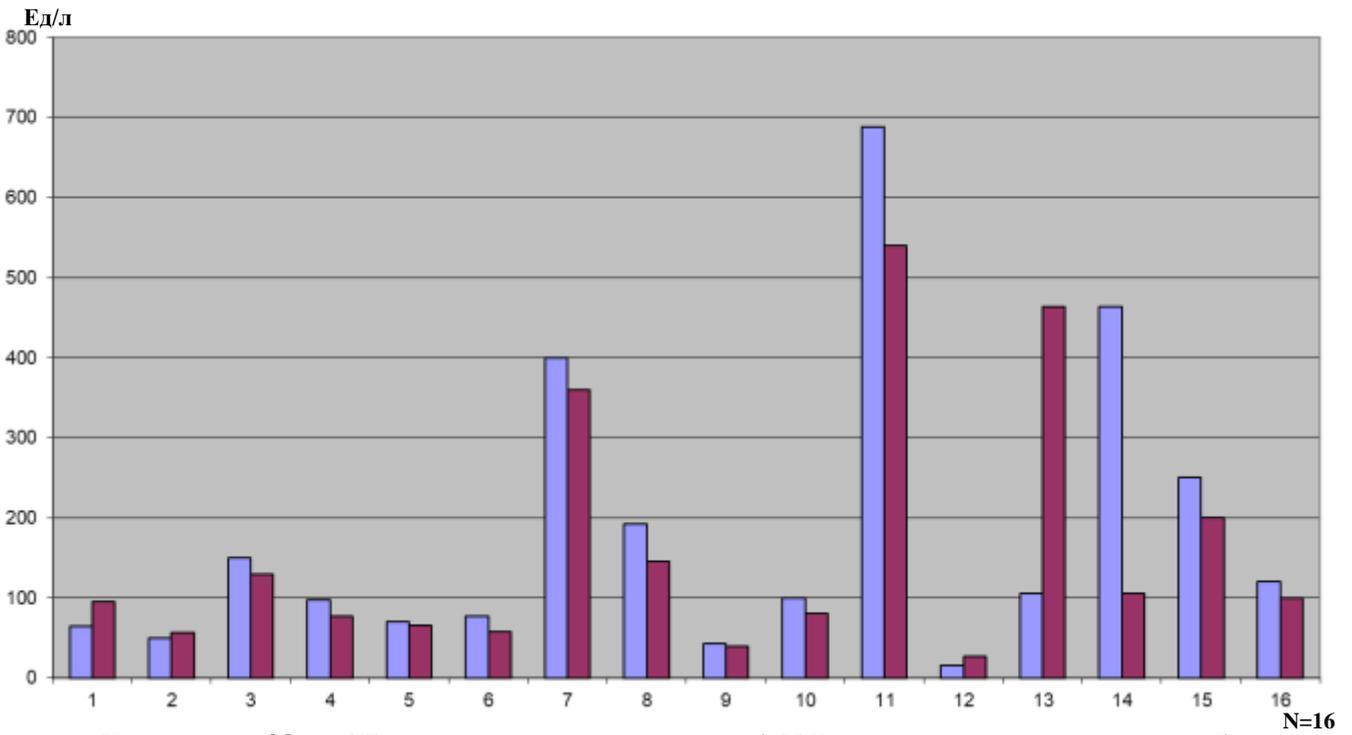
**Таблица 27** – Влияние консервативной терапии на биохимические показатели сыворотки крови собак на фоне сепсиса и ПОН\*

	Глюкоза, ммоль/л		Билирубин, мкмоль/л		Креатинин, мкмоль/л		Мочевина, ммоль/л		АЛТ, Ед/л		Панкреатическая амилаза, Ед/л		Общий белок, г/л		Альбумин, г/л		Щелочная фосфатаза, Ед/л	
	До	После	До	После	До	После	До	После	До	После	До	После	До	После	До	После	До	После
среднее	5	5,6 (+12%)	35,8	30,3 (-16%)	250,9	217,3 (-24%)	19,3	17,7 (-9%)	180,5	158,9 (-12%)	983,2	1016,3 (+3%)	46,5	44,1 (-6%)	20,2	18,1 (-11%)	916,9	791,6 (-14%)
медиана	4,5	5,3 (+17%)	13	12 (-8%)	137	120,5 (-13%)	14	12,6 (-10%)	102,7	97,6 (-5%)	501,1	638,8 (+27%)	44,8	43,3 (-4%)	19,9	18,5 (-8%)	531,2	425,8 (-20%)
25	3,9	4,7 (+20%)	7,9	7,6 (-4%)	88,8	66,7 (-25%)	6,6	4,2 (-37%)	68,7	63,7 (-8%)	387,5	493,2 (+27%)	38,7	37,6 (-3%)	18,6	15,2 (-19%)	422,2	249,8 (-41%)
75	6,4	6,1 (-5%)	40,9	33,9 (-18%)	300	282,9 (-6%)	28,5	27,5 (-4%)	206,5	159,5 (-23%)	1659	1303,3 (-22%)	51,6	46,8 (-10%)	22	21,5 (-3%)	1069,8	975 (-9%)

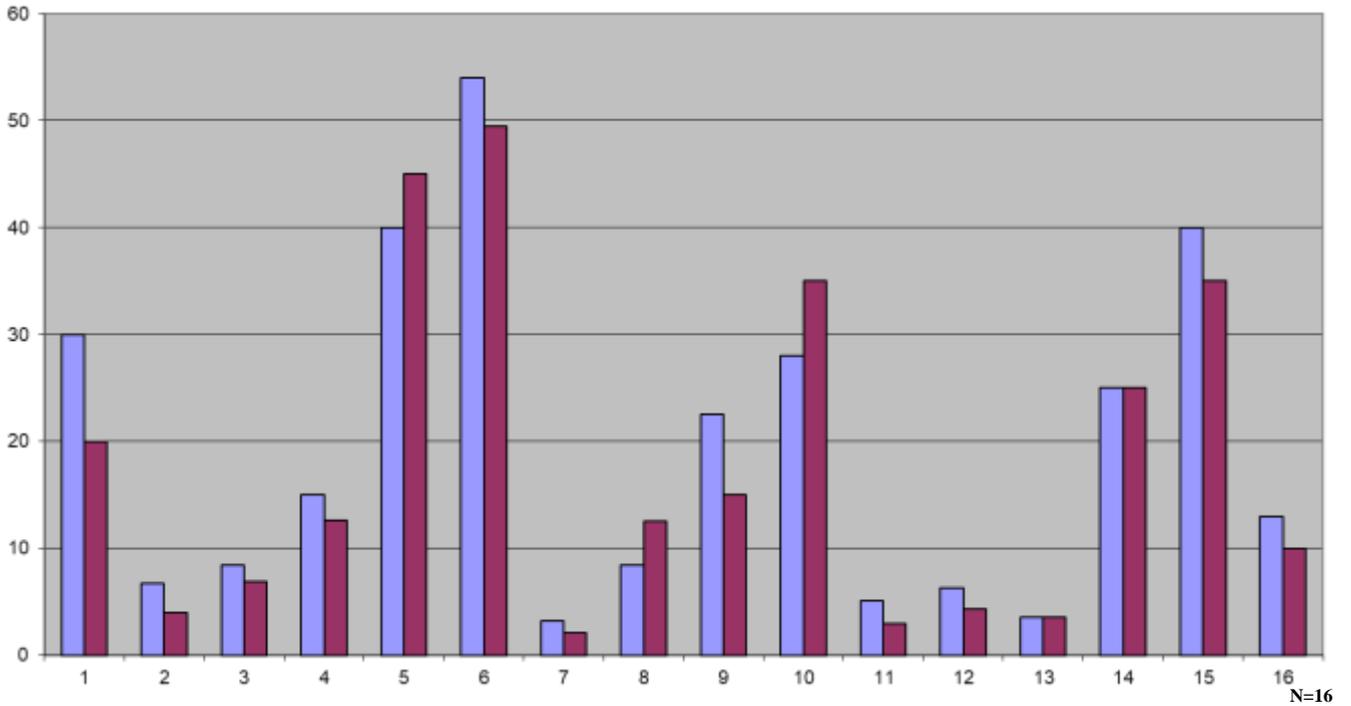
\*приведены медианные значения и изменение показателей после ГС относительно исходного уровня



**Рисунок 42** –Изменение содержания билирубина в сыворотке крови собак с сепсисом и ПОН при консервативной терапии

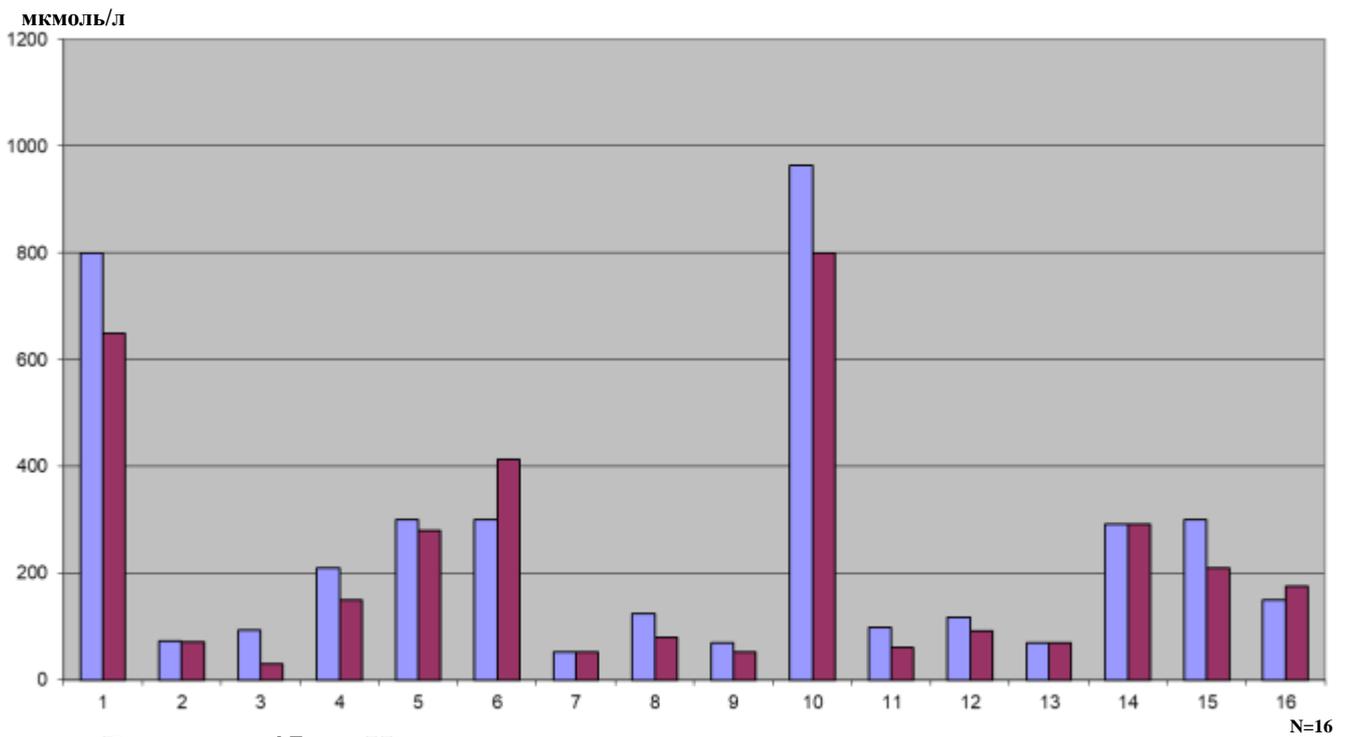


**Рисунок 43** – Изменение содержания АЛТ в сыворотке крови собак с сепсисом и ПОН при консервативной терапии



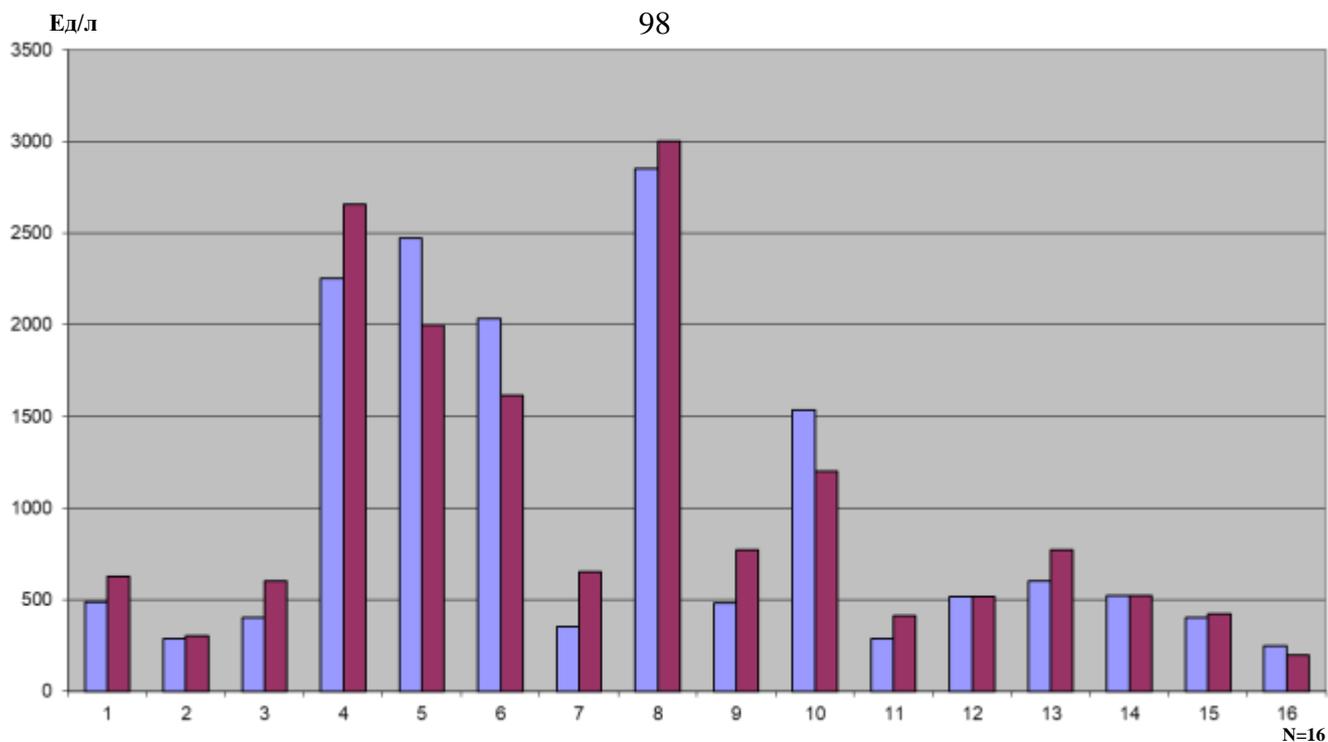
N=16

**Рисунок 44** – Изменение содержания мочевины в сыворотке крови собак с сепсисом и ПОН при консервативной терапии

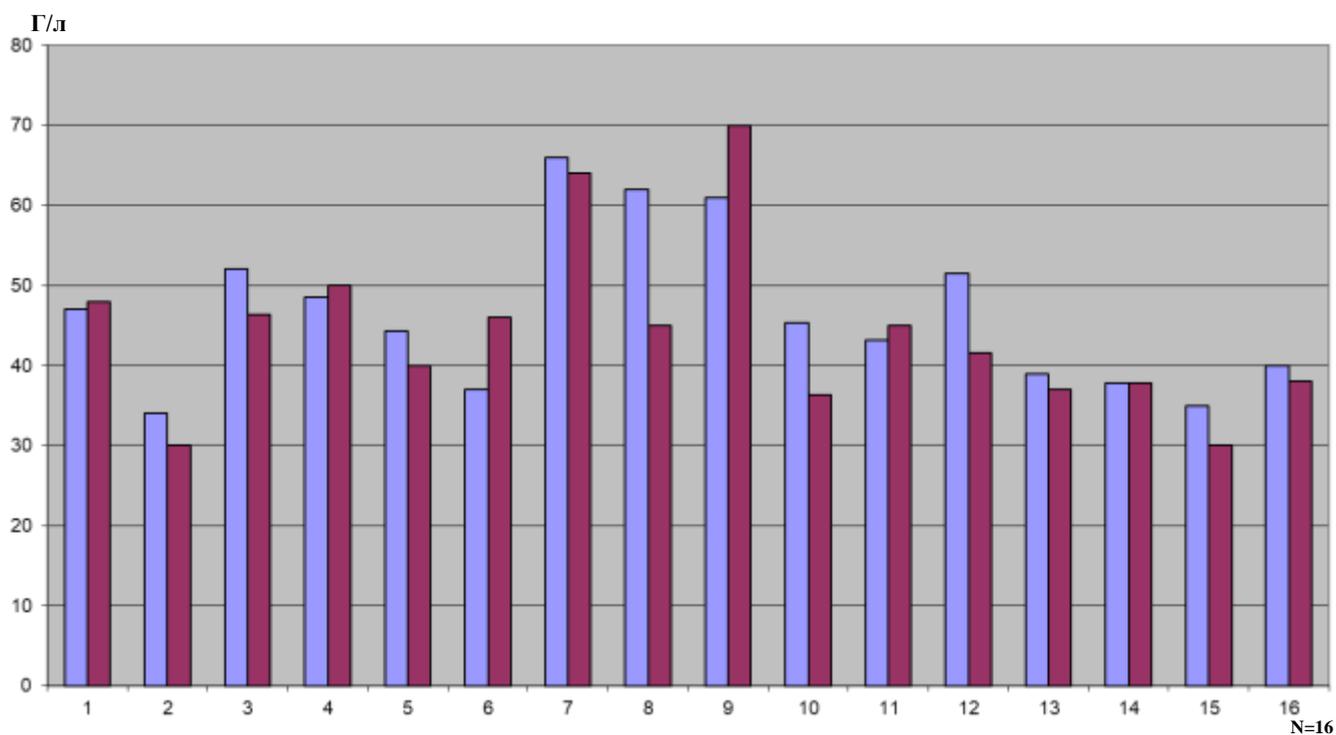


N=16

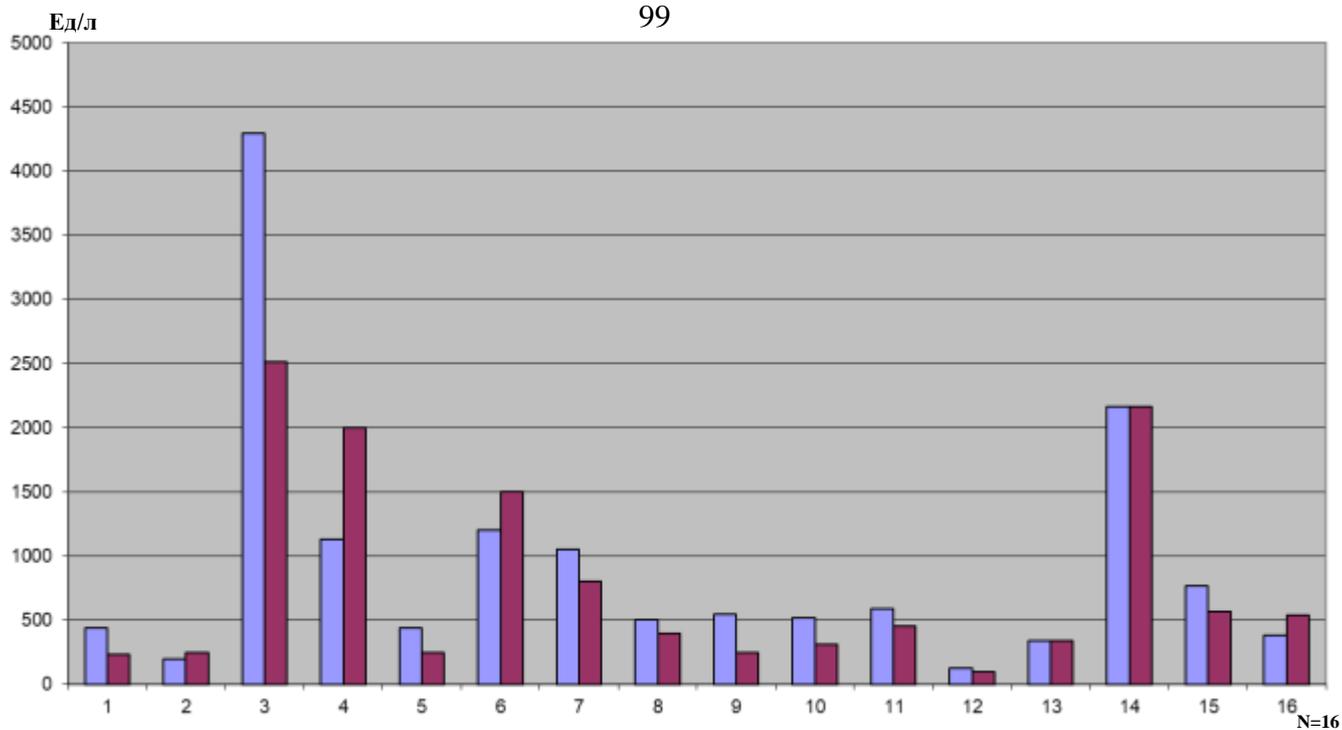
**Рисунок 45** – Изменение содержания креатинина в сыворотке крови собак с сепсисом и ПОН при консервативной терапии



**Рисунок 46** – Изменение содержания панкреатической амилазы в сыворотке крови собак с сепсисом и ПОН при консервативной терапии



**Рисунок 47** – Изменение содержания общего белка в сыворотке крови собак с сепсисом и ПОН при консервативной терапии



**Рисунок 48** – Изменение содержания щелочной фосфатазы в сыворотке крови собак с сепсисом и ПОН при консервативной терапии

**Таблица 28** – Влияние консервативной терапии на газово-электролитный состав крови собак на фоне сепсиса и ПОН\*

	pH		pCO <sub>2</sub> , мм.рт.ст.		pO <sub>2</sub> , мм.рт.ст.		BE, ммоль/л		tCO <sub>2</sub> , ммоль/л		HCO <sub>3</sub> , ммоль/л		Na, ммоль/л		K, ммоль/л		Ca, ммоль/л	
	До	после	До	после	До	после	До	после	До	после	До	после	До	после	До	после	До	После
Среднее	7,29	7,26 (-1%)	31,5	32,2 (+2%)	44,3	44,4 (0%)	-0,9	-1,2 (-33%)	19,4	19 (-3%)	17,8	18 (+1%)	147,7	148 (0%)	4,1	4,3 (+4%)	1,21	1,20 (-1%)
Медиана	7,31	7,27 (-1%)	30	31 (+3%)	43	45 (+4%)	-2,8	-2,2 (+22%)	20,5	19,5 (-5%)	19,2	17 (-22%)	146,5	147,5 (0%)	4	4,1 (+2%)	1,21	1,21 (0%)
25	7,2	7,08 (-2%)	28	28,8 (+2%)	40,8	39,8 (-3%)	-5	-5,3 (-6%)	15	16,2 (+8%)	15,6	16 (+2%)	144,8	144 (0%)	3,3	3,9 (+18%)	1,12	1,14 (+1%)
75	7,39	7,42 (0%)	35	34,3 (-2%)	50	48,8 (-3%)	1,4	1,3 (-8%)	22,8	21,7 (+5%)	20,1	20 (0%)	152,3	150 (-2%)	4,4	4,4 (0%)	1,29	1,26 (-3%)

**Таблица 29** – Влияние консервативной терапии на показатели свертывающей системы крови собак на фоне сепсиса и ПОН\*

	Протромбиновое время, с		АЧТВ, с		Фибриноген, с		Тромбиновое время, с	
	До	После	До	После	До	После	До	После
среднее	10,3	10,7 (+3%)	45,2	54 (+19%)	7,4	5,5 (-36%)	38,6	37,9 (-2%)
медиана	10	8 (-20%)	37	40 (+8%)	6,6	4,9 (-26%)	27	23 (-15%)
25	7	7,5 (+7%)	20	23 (+15%)	5,7	4,2 (-26%)	16	20 (+25%)
75	12	13 (+8%)	55	100 (+82%)	8,8	6,7 (-24%)	35	27 (-23%)

\*приведены медианные значения и изменение показателей после ГС относительно исходного уровня

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Одним из грозных осложнений злокачественных новообразований у собак являются полиорганный недостаточность и сепсис, развивающиеся как вследствие прогрессирования опухолевого процесса, так и в результате проводимого противоопухолевого лечения. Данные осложнения могут быть следствием консервативного лечения и развиваться на фоне химиолучевой терапии, за счет индуцированной цитостатиками иммуносупрессии и присоединения условно-патогенной микрофлоры. Причиной инфекционных осложнений у собак с онкологией могут быть также расширенные полосные хирургические вмешательства, которые в последние годы активно внедряются в практику ветеринарной онкологии. Развитие антибиотикоустойчивости бактерий, а также участие в патогенезе ПОН и сепсиса наряду с микроорганизмами бактериальных токсинов и каскада медиаторов воспаления требует новых подходов в лечении ПОН и сепсиса у животных со злокачественными новообразованиями. Опыт гуманитарной медицины свидетельствует о том, что применение различных методов ЭКД, в частности гемоперфузии, позволяют эффективно элиминировать из кровотока пациентов с гнойно-септическими осложнениями бактериальные токсины и провоспалительные цитокины, что позволяет снизить выраженность симптомов ССВР. Для этих целей обычно используют дорогостоящие, в том числе селективные, гемосорбенты. В ветеринарной клинической практике применяют также отечественные угольные сорбенты, однако из-за низкой гемосовместимости они не находят широкого применения. В последние годы появились новые перспективные гемосорбенты, клиническая эффективность которых до настоящего времени не была охарактеризована. В частности, в ИНЭОС РАН им. Несмеянова был разработан инновационный неионогенный макропористый сорбент Стиросорб-514, представляющий собой полистирольные сетки, которые по своей химической природе близки к сополимерам стирола и дивинилбензола, но обладают принципиально иной структурой и поэтому называются сверхсшитыми. Сверхсшитый полистирол имеет высокую сорбционную емкость,

намного превышающую емкость известных гемосорбентов. Спектр адсорбции сверхсшитых полистирольных сорбентов включает вещества с ММ 100 - 20000 Да. Наиболее эффективно сорбируются молекулы массой 300-1500 Да, клинически идентифицируемые как «средние молекулы», к которым относятся и цитокины. Есть данные, что сорбенты на основе сверхсшитых полистиролов типа Стиросорб благодаря пористости основы и поверхности гранул (диапазон размера пор 0,6-600 нм) способны связывать в растворе значительные количества биологически активных молекул широкого спектра (токсины, цитокины, гормоны) [8, 33].

Известно, что угольные сорбенты имеют хорошие сорбционные характеристики, однако применению их для гемоперфузии серьезно препятствует относительно низкая биосовместимость и нестабильность гранул в токе жидкости. Сорбенты на основе сверхсшитых полистиролов обладают значительно лучшей гемосовместимостью, они имеют большую удельную сорбционную площадь поверхности за счет наличия открытых микропор диаметром 1,5-3 нм и макропор до 100 нм. Таким образом, поскольку эти сорбенты, способны связывать не только избыточные количества эндогенных медиаторов, способствующих развитию патофизиологических нарушений, приводящих к развитию органной и полиорганной недостаточности, но и экзогенные триггерные и медиаторные факторы воспаления (микроорганизмы и их токсины), проведенные исследования, дают основания считать, что сорбент Стиросорб-514 имеет ряд серьезных преимуществ перед сорбентами «ВНИИТУ-1» и «Овосорб» и может быть эффективно использован как основа устройств для гемоперфузии в комплексной терапии септических осложнений.

Полученные нами данные свидетельствуют о нормализации ряда клинических показателей онкологических больных животных в результате применения процедуры ГП (снижение ЧСС, модулирование диастолического АД, снижение систолического и среднего АД). Указанный положительный эффект у большинства собак со злокачественными новообразованиями после ГП сохранялся и на следующие сутки после проведения процедуры, что, в частности,

проявилось в значительном снижении исходно повышенных параметров систолического и среднего АД. Кроме того, через 1 сутки у животных после ГП с полистирольным сорбентом было отмечено значительное улучшение показателей реактивности животных на внешние раздражители. После ГП во всех группах наблюдали изменение биохимических параметров сыворотки крови: снижалась концентрация креатинина на 38%, 11% и 6% соответственно очевидно за счет восстановления экскреторной функции почек. Снижение концентрации в крови общего билирубина в среднем на 53% ( $p < 0,05$ ) и очевидная тенденция к снижению панкреатической амилазы (на 44%) было отмечено только при использовании колонки «Стиросорб-514». Так же было отмечено, что использование колонки «Стиросорб-514» воздействовало на организм животных более эффективно в сравнении с углеродной колонкой и колонкой «Овосорб»: снижение панкреатической амилазы в сыворотке крови было эффективнее на 81% и 95%, общего билирубина - на 51% и 39% соответственно. Эти факты свидетельствуют о снижении интенсивности воспалительного процесса в поджелудочной железе и печени собак, что можно расценивать как позитивный системный ответ организма на терапевтическое воздействие процедуры ГП в том числе и удаление циркулирующих триггеров воспаления. В частности, было отмечено, что колонки («ВНИИТУ-1» и «Стиросорб-514») эффективно удаляли бактериальный ЛПС из сыворотки крови (от 81% до 100% соответственно), однако, применение полистирольной колонки имело более продолжительный эффект детоксикации.

Поскольку известно, что одним из основных отрицательных эффектов применения углеродных сорбентов для ЭКД является стимуляция свертывания крови, то при проведении исследования мы уделяли особое внимание изучению этого аспекта. На основании данных полученных Н.Ю. Анисимовой при испытании *in vitro* и на лабораторных собаках породы бигль при проведении экспериментальной процедуры ГП было установлено, что гемосорбент Стиросорб-514 обладает лучшей гемосовместимостью, по сравнению с угольными сорбентами, что позволяет существенно уменьшить дозу гепарина при

проведении процедуры ГП[1]. В наших исследованиях при использовании гемосорбента Стиросорб-514 доза гепарина была редуцирована на 50%. Учитывая имеющиеся данные о высокой гемосовместимости Стиросорба-514 в 2 случаях у собак после расширенных хирургических операций с высоким риском кровотечения на фоне развившейся ССРВ были успешно проведены по 2 процедуры гемосорбции с использованием сорбента Стиросорб-514 без применения гепарина. Согласно полученным результатам, отмечено, что при использовании колонки «Стиросорб-514» доза гепарина необходимая для проведения ГП существенно ниже, по сравнению с угольным сорбентом, а в некоторых случаях и вообще отсутствует необходимость в использовании антикоагулянтов, что, несомненно, является положительным фактором для собак с онкологическими заболеваниями с нарушенной функцией гемостаза и собак после расширенных хирургических вмешательств с риском кровотечения.

Для того чтобы выяснить воздействие процедуры гемоперфузии на иммунологические параметры животных была изучена динамика функциональных характеристик нейтрофилов. Для этого нами исследовались различные аспекты фагоцитоза: как захват аллогенных объектов (ФИ и ФЧ), так и способность клеток к их деструкции (в спонтанном и стимулированном латексом НСТ-тесте). Для всестороннего анализа указанного аспекта функциональной клеточной активности мы использовали стимуляторы фагоцитоза различного происхождения: гранулированный латекс, бактерии *L. acidophilus* и дрожжи. Поскольку имеются сведения о том, что иммунные клетки могут осуществлять киллинг таких крупных частиц как одноклеточные грибы как внутри-, так и внеклеточно, в специальной серии экспериментов было оценено изменение относительного количества погибших грибов, неинтернализированных клетками. Согласно полученным нами данным, после гемоперфузии через колонку, заполненную Стиросорб-514, наблюдалась некоторая стимуляция поглотительной активности фагоцитов, циркулирующих в крови, сопровождающаяся усилением бактери- и фунгицидной активности иммунокомпетентных клеток. Таким образом, применение гемосорбента Стиросорб-514 для ГП собак с

онкологическими новообразованиями с признаками развития органной недостаточности на фоне ССВР, способствовало более эффективному снижению в сыворотке крови бактериального ЛПС, медиаторов воспаления (ИЛ-6, ИЛ-8), панкреатической амилазы и общего билирубина в сравнении с углеродным сорбентом и сорбентом «Овосорб». Гемоперфузия через этот сорбент не сопровождалась признаками усиления свертывания крови и повреждений эритроцитов, ведущих к их гемолизу.

**Таблица 30** – Изменения показателей крови по сорбентам

Группа	ВНИИТУ-1		ОВОСОРБ		Стиросорб-514		Контроль	
	до	после	до	после	до	после	до	после
ЛПС, МЕ/л	0,100	0,0052 (-95%)			0,114	0 (-100%)		
ИЛ-6, нг/мл	123	48 (-61%)			100	31 (-69%)		
ИЛ-8, нг/мл	305	88 (-71%)			343	92 (-73%)		
Билирубин, мкмоль/л	23,1	27,2 (+17%)	33,3	35,4 (+6%)	17,8	11,9 (-33%)	13	12 (-8%)
Креатинин, мкмоль/л	120,8	74,4 (-38%)	118,7	111,2 (-6%)	301,7	269 (-11%)	137	120,5 (-13%)
Альбумин, г/л	19,8	20,8 (+5%)	21,1	16,9 (-20%)	22,9	21,3 (-7%)	19,9	18,5 (-8%)
Щелочная фосфатаза, Ед/л	597,4	466,8 (-22%)	585,1	430,6 (-36%)	400,9	542,7 (+35%)	531,2	425,8 (-20%)
Панкреатическая амилаза, Ед/л	519,7	711,8 (+37%)	778	1178 (+51%)	1187	669,9 (-44%)	501,1	638,8 (+27%)
Лейкоциты, $10^9$ /л	23,7	17 (-28%)	32,5	40 (+23%)	30,6	22,1 (-28%)	24,8	23,4 (-6%)
Эритроциты, $10^{12}$ /л	4,7	4,2 (-11%)	5	4,5 (-10%)	4,7	3,8 (-19%)	4,5	4,2 (-7%)
Тромбоциты, К/мкл	120	178,5 (+49%)	109,5	125,5 (+15%)	176	117,5 (-33%)	152	173 (+13%)

Таким образом, проведенные исследования позволяют сделать вывод о преимущественной эффективности применения колонки с сорбентом Стиросорб-514 в сравнении с колонкой «ВНИИТУ-1» и сорбентом «Овосорб» как средства поддерживающей терапии и коррекции при изолированной органной недостаточности (почек, печени, поджелудочной железы) и ПОН (в том числе развившимся на фоне ССВР), а также в качестве средства детоксикации при сепсисе, опосредованном ЛПС (таб. 30).

Полученные данные на собаках, свидетельствуют о перспективности применения гемосорбента типа Стиросорб в клинической гуманитарной практике у больных собак с онкологическими заболеваниями на фоне ССВР, ПОН и сепсиса, развившегося на фоне проводимого консервативного и хирургического лечения, в том числе при неэффективности антибактериальной терапии.

## ВЫВОДЫ

1. Проведение гемоперфузии с использованием гемосорбентов на основе активированного угля и сверхсшитого полистирола позволяет эффективно элиминировать липополисахарид (ВНИИТУ-1 с 0,100 МЕ/л до 0,0052 МЕ/л (-95%); Стиросорб-514 с 0,114 МЕ/л до 0 МЕ/л (-100%)) и провоспалительные цитокины: интерлейкин-6 (ВНИИТУ-1 с 123 нг/мл до 48 нг/мл (-61%); Стиросорб-514 с 100 нг/мл до 31 нг/мл (-69%)) и интерлейкин-8 (ВНИИТУ-1 с 305 нг/мл до 88 нг/мл (-71%); Стиросорб-514 с 343 нг/мл до 92 нг/мл (-73%)) из кровотока собак с сепсисом на фоне проводимого противоопухолевого лечения.

2. Гемоперфузия с использованием гемосорбента Стиросорб-514 позволяет существенно снизить повышенный уровень билирубина с 17,8 мкмоль/л до 11,9 (-33%) мкмоль/л и панкреатической амилазы с 1187 Ед/л до 669,9 Ед/л (-44%), а также оказывает незначительное влияние на содержание креатинина и мочевины у собак со злокачественными новообразованиями осложненных полиорганной недостаточностью.

3. Наибольшей гемосовместимостью обладает сорбент на основе сверхсшитого стирсорба, требующий наименьшей дозировки гепарина для предупреждения образования тромбов.

4. Гемоперфузия может использоваться как дополнительный метод лечения у собак со злокачественными новообразованиями при сепсисе и полиорганной недостаточности. Критерии эффективности гемоперфузии является снижение уровня бактериального эндотоксина, провоспалительных цитокинов и метаболитов.

5. Наибольшей эффективностью из изученных гемосорбентов обладал сорбент Стиросорб-514, который так же, как и «ВНИИТУ-1» способен элиминировать из кровотока бактериальный эндотоксин и провоспалительные цитокины, а также показал способность элиминировать из организма билирубин и панкреатическую амилазу. Полученные данные об эффективности и гемосовместимости гемосорбентов свидетельствуют о перспективности

применения гемосорбента Стиросорб-514 для ЭКД у собак с онкологическими заболеваниями с полиорганной недостаточностью и сепсисом. Из изученных гемосорбентов наименьшей эффективностью обладал «Овосорб».

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Показанием к применению в качестве дополнительного метода детоксикации гемоперфузии с использованием сорбционных колонок в ветеринарии является наличие:

- сепсиса, сопровождаемого органной или полиорганной недостаточностью,
- печеночной недостаточности,
- острого панкреатита,
- пироплазмоза.

Для гемоперфузии рекомендуется использовать колонки «ВНИИТУ-1». Перспективным сорбентом является Стиросорб-514, который обладает большей активностью, чем угольный сорбент и может быть использован без применения антикоагулянтов у животных с высоким риском кровотечения.

Для достижения клинического эффекта рекомендуется проведение не менее 2-х последовательных процедур ГП, третью процедуру ГП следует проводить по показаниям и при наличии клинического эффекта (улучшение лабораторных показателей, снижение катехоламиновой поддержки).

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АД	Артериальное давление
АЛТ	Аланинаминотрансфераза
АПК	Антиген представляющие клетки
АЧТВ	Активированное частичное тромбопластиновое время
ГАУ	Гранулированный активированный уголь
ГДФ	Гемодиафильтрация
ГКГП	Главный комплекс гистосовместимости
ГС	Гемосорбция
ГП	Гемоперфузия
ГФ	Гемофильтрация
ДНК	Дезоксирибонуклеиновая кислота
ИАН	Индекс активации нейтрофилов
ЛПС	Липополисахарид
НСТ	Нитросиний тетразол
ОПП	Острое повреждение почек
ПОН	Полиорганная недостаточность
РНК	Рибонуклеиновая кислота
СВР	Системная воспалительная реакция
ССВР	Синдром системной воспалительной реакции
ФИ	Фагоцитарный индекс
ФЧ	Фагоцитарное число
ЦНС	Центральная нервная система
ЧСС	Частота сердечных сокращений
ЭКД	Экстракорпоральная детоксикация
APACHE	Acute Physiology And Chronic Health Evaluation (шкала, для расчёта риска смерти больных с тяжелыми соматическими заболеваниями и травмами)
BE	Base excess (избыток оснований)

CD	cluster of differentiation (кластер дифференцировки)
CHDF	continuous hemodiafiltration (продолжительная гемодильтрация)
CRRT	Continuous Renal Replacement Therapy (непрерывную заместительную почечную терапию)
CVVH	Continuous Veno-Venous Hemofiltration (продолжительная вено-венозная гемольтрация)
HV-HF	High volume hemofiltration (высокопоточная гемольтрация)
Ig	Immunoglobulin (иммуноглобулин)
IHD	Intermittent hemodialysis (интермиттирующий гемодиализ)
IL	interleukin (интерлейкин)
INF	interferon (интерферон)
LBP	lipopolysaccharide binding protein (липополисахарид связывающий белок)
LV-HF	Low volume hemofiltration (низкопоточная гемольтрация)
NK	natural killers (натуральные киллеры)
NO	nitrogen oxide (оксид азота)
PLT	platelets (тромбоциты)
PMMA	polymethylmethacrylate
PMX	polymyxin
RBC	red blood cells (эритроциты)
sCD	растворимая форма CD
TLR	toll-like receptors (толл-подобные рецепторы)
TNF	tumor necrosis factor (фактор некроза опухолей)
WBC	white blood cells (лейкоциты)

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Анисимова, Н.Ю. Патогенетическое обоснование применения экстракорпоральной детоксикации у онкологических больных с сепсисом : дис.... д-ра биол. наук: 14.01.12, 14.03.09 / Анисимова Наталья Юрьевна. – М., 2012. – 322 с.
2. Виксман, М.Е. Способ оценки функциональной активности нейтрофилов человека по реакции восстановления нитросинего тетразолия: Метод, рекомендации / М.Е. Виксман, А.Н. Маянский – Казань: Казанский НИИЭМ, 1979. – 11 с.
3. Гельфанд, Б.Р. Антибактериальная терапия абдоминальной хирургической инфекции / Б.Р. Гельфанд, В.А. Гологорский, С.З. Бурневич и др – Москва: Практика, – 2000. – 144 с.
4. Гельфанд, Б.Р., Филимонов М.И., Бражник Т.Б., Сергеева Н.А., Бурневич С.З. Прокальцитонин: Новый лабораторный диагностический маркер сепсиса и гнойно-септических осложнений в хирургии / Б.Р. Гельфанд, М.И. Филимонов, Т.Б. Бражник, Н.А. Сергеева, С.З. Бурневич // Вестник интенсивной терапии – 2003. – №1. – С. 2.
5. Герасимов, И.Г. Кинетика реакции восстановления нитросинего тетразолия нейтрофилами крови человека / И.Г. Герасимов, О.А. Калущая // Цитология – 2000. – Т 42. – №2. – С. 160-165.
6. Гордиенко, Г.И. Способ исследования поглотительной и метаболической активности нейтрофилов периферической крови методом фагоцитоза и НСТ-теста: методичка / Г.И. Гордиенко, Г.А. Самсыгина, Т.А. Дудина, Т.М. Бородина. – Москва: Российский государственный медицинский университет. – 2003. – 45 с.
7. Давыдовский, И.В. Патологическая анатомия и патогенез болезней человека / И.В. Давыдовский. – 3-е издание, 1 т. – Москва: Медгиз. – 1956. – 541 – 593 с.
8. Елизаров, Д.П. Изучение сорбционной активности адсорбентов в

эксперименте / Д.П. Елизаров, А.И. Елькин, В.А. Даванков и др. // Токсикологический вестник –2003. – №2. – С. 18-21.

9. Елизаров, Д.П. Экспериментальное изучение сорбционной активности распространенных адсорбентов / Д.П. Елизаров, А.И. Елькин, В.А. Даванков. и др. // Эфферентная терапия – 2003. – Т. 3. – № 9. – С. 58-61.

10. Ковальчук, Л.В. Врожденные компоненты иммунитета: Toll-подобные рецепторы в норме и при иммунопатологии / Л.В. Ковальчук, М.В. Хорева, А.С. Варивода // Журн.микробиол., иммунол., и иммунобиол. – 2005. – № 4. – С. 96 – 104.

11. Пастухов, А. В. Магнитные нанокompозиты на основе сверхсшитых полистиролов / А. В. Пастухов, В. А. Даванков, В. В. Волков, К. А. Дембо и др. // Известия РАН. Серия физическая. – 2009. – Т. 73. – № 4. – С. 496-498.

12. Патютко, Ю.И. Пути улучшения переносимости гастропанкреатодуоденальной резекции / Ю.И. Патютко, А.Г. Котельников, В.Ю. Косырев, И.В. Сагайдак // Хирургия. – 2002. – №10. – С. 29–32.

13. Романовского-Гимзы окраска / Малая медицинская энциклопедия. — М.: Медицинская энциклопедия. – 1991 – 96 гг. – 27 – 29 с.

14. Руднов, В.А. Сепсис: современный взгляд на проблему / В.А. Руднов // Клиническая антимикробная химиотерапия. – 2000. – № 1. – С.2 – 7.

15. Руднов, В.А. Септический шок: современное состояние проблемы / А.В. Руднов // Инфекции и антимикробная терапия. – 2003. – Том 5. – № 3 – С.10 – 15.

16. Ярилин, А.А. Иммунология / А.А. Ярилин – М.: ГЭОТАР-Медиа. – 2010. – 752 с.

17. Abraham, E.R. Efficacy and safety of monoclonal antibody to human tumor necrosis factor alpha in patients with sepsis syndrome. A randomized, controlled, double-blind, multicenter clinical trial. TNF-alpha Mab / E.R. Abraham, H. Wunderink, T.M. Silverman, S. Perl, Nasraway and H. Levy et al. // Sepsis Study Group. – Jama. – 1995. – № 273. – P. 934–941.

18. Adib-Conquy, M. Toll-like receptor-mediated tumor necrosis factor and

interleukin-10 production differ during systemic inflammation / M. Adib-Conquy, P. Moine, K. Asehnoune, A. Edouard et al. // *Am. J. Resp. Crit. Care Med.* – 2003. – V.168. – P. 158–164.

19. Adrie, C. Successful cardiopulmonary resuscitation after cardiac arrest as a “sepsis-like” syndrome / C. Adrie, M. Adib-Conquy, I. Laurent et al. // *Circulation* 106. – 2002. – P. 562–568

20. Ala-Kokko, T. Lipopolysaccharide adsorber in abdominal septic shock / T. Ala-Kokko, J. Koskenkari, J. Laurila // *Crit. Care.* – 2009. – V. 13 (1). – P. 280.

21. Angus, D.C. Epidemiology of sepsis: an update / D.C. Angus, R.S. Wax // *Crit. Care Med.* – 2001. – V. 29. – P. 109-116.

22. Annane, D. Septic shock / D. Annane, E. Bellissant, J-M. Cavillon // *Lancet.* – 2005. – V.365. – P. 63 – 78.

23. Barber, M.D. Relationship of serum levels of interleukin-6, soluble interleukin-6 receptor and tumor necrosis factor receptors to the acute-phase protein response in advanced pancreatic cancer / M.D. Barber, K.C. Fearon, J.A. Ross // *Clin. Sci. (London).* – 1999. – V. 96(1) – P. 83-87.

24. Bellomo, R. The effect of intensive plasma water exchange by hemofiltration on hemodynamics and soluble mediators in canine endotoxemia / R. Bellomo, J.A. Kellum, C.R. Gandhi et al. // *Am J Respir Crit Care Med.* – 2000. – № 161. – P. 1429–1436.

25. Bellomo, R.P. Continuous veno-venous hemofiltration with dialysis removes cytokines from the circulation of septic patients / R. Bellomo, P. Tipping, N. Boyce // *Crit Care Med.* – 1993. – № 21. – P. 522–526.

26. Bhaumika, M. Removal of fluoride from aqueous solution by polypyrrole/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> magnetic nanocomposite / M. Bhaumika, T. Y. Leswifia, A. Maityb, V.V. Srinivasuc, M. S. Onyango // *J. Hazardous Mat.* – 2011. – № 186 (1). – P. 150-159.

27. Bouman, C.S. Cytokine filtration and adsorption during pre- and postdilution hemofiltration in four different membranes / C.S. Bouman, R.W. van Olden, C.P. Stoutenbeek // *Blood Purif.* – 1998. – №16. – P. 261–268.

28. Braquet, P. The bioregulatory role of platelet-activating factor in

intracellular processes and cell—cell interactions / P. Braquet, M. Paubert-Braquet, R.H. Bourgain, F. Bussolino, D. Hosford // *J. Lipid Mediators*. – 1989. – V. 1. – P. 75 - 112.

29. Burke, F. *Immunol. Today* / F. Burke, Nay lor M., B. Davies // – 1993. – V. 4. – P. 165.

30. Choi, J.-W. Sorption kinetics of aqueous benzene for attached bacteria on sorbents / J.-W. Choi, N.-C. Choi, B. Mahendran, D.-J. Kim, C.E. Lee // *Current Applied Physics*. – 2007. – V. 7 (1). – P.13-17.

31. Cole, L. High-volume haemofiltration in human septic shock / L. Cole, R. Bellomo, D. Journois et al. // *Intensive Care Med*. – 2001. – V. 27. – P. 978–986.

32. Danai, P.A. Seasonal variation in the epidemiology of sepsis / P. A Danai, S. Sinha, M. Moss, M. J. Haber, G.S. Martin // *Crit.Care Med*. – 2007. – V. 35(2). – P. 410-415.

33. Davankov, V. Polymeric adsorbent for removing toxic proteins from blood of patients with kidney failure / V. Davankov, L. Pavlova, M. Tsyurupa, J. Brady, M. Balsamo, E. Yousha // *J. Chromatogr*. – 2000. – V. 739. – P. 73-80.

34. De Pont, A.C. Hemofiltration in the early phase of sepsis: friend or foe? / A.C. De Pont // *Crit Care Med*. – 2009. – V. 37(3). – P. 1125-1126.

35. Deitch, E.A. Animal models of sepsis and shock: A review and lessons learned / E.A. Deitch // *Shock*. – V. 9 – 1998. – P. 1.

36. Durum, S. *Annual Rev.* / S. Durum, J. Oppenheim, K. Mutsushima // *Immunol*. – 1985. – V. 3. – P. 263.

37. Foell, D. S100 proteins expressed in phagocytes: a novel group of damage-associated molecular pattern molecules / D. Foell, H. Wittkowski, T. Vogl, J. Roth // *J. Leukocyte Biol*. – 2007. – V.8. – P. 28 – 37.

38. Freeman, B.D. Continuous arteriovenous hemofiltration does not improve survival in a canine model of septic shock / B.D. Freeman., I. Yatsiv, C. Natanson et al. // *J Am Coll Surg*. – 1995. – V. 180. – P. 286–292.

39. Grootendorst, A.F. High volume hemofiltration improves right ventricular function in endotoxin-induced shock in the pig / A.F. Grootendorst, E.F. van Bommel, B. van der Hoven et al. // *Intensive Care Med*. – 1992. – V. 18. – P. 235–240.

40. Grootendorst, A.F. High volume hemofiltration improves hemodynamics and survival of pigs exposed to gut ischemia and reperfusion / A.F. Grootendorst, E.F. van Bommel, L.A. van Leengoed et al. // *Shock*. – 1994. – V. 2. – P. 72–78.
41. Hagiwara, H., Huang H., Aral N., Herzenberg L. J. *Immunol.* – 1987. – V. 138. – P. 2514.
42. Hildebrand, F. The importance of cytokines in the posttraumatic inflammatory reaction / F. Hildebrand, H.C. Pape, C. Krettek // *Unfallchirurg*. – 2005. – V. 108(10). P. 793-794. P. 796-803.
43. Hoffmann, J.N. Hemofiltration in human sepsis: evidence for elimination of immunomodulatory substances / J.N. Hoffmann, W.H. Hartl, R. Deppisch, E. Faist, M. Jochum, D. Inthorn // *Kidney Int.* – 1995. – V. 48. – P. 1563–1570.
44. Hotchkiss, R.S. Overexpression of Bcl-2 in transgenic mice decreases apoptosis and improves survival in sepsis / R.S. Hotchkiss, P.E. Swanson, C.M. Knudson et al. // *J. Immunol.* – 1999. – V. 162. – P. 4148 – 4156.
45. Hotchkiss, R.S. The pathophysiology and treatment of sepsis / R.S. Hotchkiss, I.E. Karl // *N Engl J Med.* – 2003. – V. 348. – P. 138.
46. Jean-Baptiste, E. Cellular Mechanisms in Sepsis. / E. Jean-Baptiste // *J Intensive Care Med.* – 2007. – V. 22(2). – V. 63-72.
47. Jiang, H.L. Influence of continuous veno-venous hemofiltration on the course of acute pancreatitis / H.L. Jiang, W.J. Xue, D.Q. Li et al. // *World J Gastroenterol.* – 2005. – V. 22. – P. 4815–4821.
48. Joannes-Boyau, O. Impact of high volume hemofiltration on hemodynamic disturbance and outcome during septic shock / O. Joannes-Boyau, S. Rapaport, R. Bazin et al. // *ASAIO J.* – 2004. – V. 50. – P. 102–109.
49. Johnson, G.B. Activation of mammalian Toll-like receptors by endogenous agonists / G.B. Johnson, G.J. Brunn, J.L. Platt // *Crit Rev Immunol.* – 2003. – V. 23. – P. 15-44.
50. Keel, M. Pathophysiology of polytrauma /M. Keel, O. Trentz // *Injury.* – 2005. – V. 36(6). – P. 691-709.
51. Kellum, J.A. Effect of hemofiltration filter adsorption on circulating IL-6

levels in septic rats / J.A. Kellum, M.K. Dishart // *Crit Care*. – 2002. – V. 6. – P. 429–433.

52. Kellum, J.A. Continuous versus intermittent renal replacement therapy: a meta-analysis / J.A. Kellum, D.C. Angus, J.P. Johnson, M. Leblanc, M. Griffin, N. Ramakrishnan et al. // *Intensive Care Med*. – 2002. – V. 28. – P. 29–37.

53. Kita, M. Induction of cytokines in human peripheral blood mononuclear cells by mycoplasmas / M. Kita et al. // *Microbiol. Immunol*. – 1992. – V. 36. –P.507–516.

54. Kramer, P. Arteriovenous haemofiltration: a new and simple method for treatment of over-hydrated patients resistant to diuretics / P. Kramer, W. Wigger, J. Rieger, D. Matthaei, F. Scheler // *Klin Wochenschr*. – 1977. – V. 55. – P. 1121–1122.

55. Laurent, I. High-volume hemofiltration after out-of-hospital cardiac arrest: a randomized study / I. Laurent, C. Adrie, C. Vinsonneau et al. // *J Am Coll Cardiol*. – 2005. – V. 46. – P. 432–437.

56. Lee, P.A. Continuous arteriovenous hemofiltration therapy for–induced septicemia in immature swine / P.A. Lee, J.R. Matson, R.W. Pryor et al. // *Crit Care Med*/ – 1993. – V. 21. – P. 914–924.

57. Lee, P.A. Effects of filter pore size on efficacy of continuous arteriovenous hemofiltration therapy for *Staphylococcus aureus*–induced septicemia in immature swine / P.A. Lee, G.W. Weger, R.W. Pryor et al. // *Crit Care Med*. – 1998. – V. 26. – P. 730–737.

58. Lenz, A. Systemic inflammation after trauma / A. Lenz, G.A. Franklin, W.G. Cheadle // *Injury*. – 2007. – V. 38(12). – P. 1336-1345.

59. Li, L. Development of sorbent therapy for multiple organ dysfunction syndrome (MODS) /L. Li, J. Pan, Y. Yu // *Biomed Mater*. – 2007. – V. 2(2). – P. 12-16.

60. Lin, W. A cytokine-mediated link between innate immunity, inflammation, and cancer / W. Lin, M. Karin // *A J. Clin. Invest*. – 2007. – V. 117. – P. 1175-1183.

61. Martin, G.S. The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000 / G.S. Martin, D.M. Mannino, S. Eaton, M. Moss // *N Engl J Med*. – 2003. – V. 348 (16). P. 1546–1554.

62. Martin, T.R. Cytokines and lung injury: searching for useful biomarkers / T.R. Martin // *Crit. Care Med.* – 2005. – V. 33. – P.230–232.
63. Matsuda, K. Current topics on cytokine removal technologies / K. Matsuda, H. Hirasawa, S. Oda, H. Shiga, K. Nakanishi // *Ther Apher* – 2001. – V. 5. – P. 306–314.
64. Mehta, R.L. A randomized clinical trial of continuous versus intermittent dialysis for acute renal failure / R.L. Mehta, B. McDonald, F.B. Gabbai, M. Pahl, M.T. Pascual, A. Farkas et al. // *Kidney Int.* – 2001. – V. 60. – P. 1154–1163.
65. Mikhalovsky, S.V. Emerging technologies in extracorporeal treatment: focus on adsorption / S.V. Mikhalovsky // *Perfusion.* – 2003. – V. 18 (1). – P. 47-54.
66. Mink, S.N. Early but not delayed continuous arteriovenous hemofiltration improves cardiovascular function in sepsis in dogs / S.N. Mink, X. Li, D. Bose et al. // *Intensive Care Med.* – 1999. – V. 25. – P. 733–743.
67. Mokart, D. Procalcitonin, interleukin 6 and systemic inflammatory response syndrome (SIRS): early markers of postoperative sepsis after major surgery / D. Mokart, M. Merlin, A. Sannini, J. P. Brun et al. // *Br. J. Anaesth.* – 2005. – V. 94. – P. 767-773.
68. Morgera, S. High permeability haemofiltration improves peripheral blood mononuclear cell proliferation in septic patients with acute renal failure / S. Morgera, M. Haase, J. Rocktaschel et al. // *Nephrol Dial Transplant.* – 2003. – V. 18. – P. 2570–2576.
69. Morgera, S. TNF-alpha elimination with high cut-off haemofilters: a feasible clinical modality for septic patients? / S. Morgera, D. Klonower, J. Rocktaschel et al. // *Nephrol Dial Transplant.* – 2003. – V. 18. – P. 1361–1369.
70. Myc, A. The level of lipopolysaccharide-binding protein is significantly increased in plasma in patients with the systemic inflammatory response syndrome. / A. Myc, J. Buck, J. Gonin, B. Reynolds, U. Hammerling // *Emanuel Clin Diagn Lab Immunol.* – 1997. – V. 4. – P. 113–116.
71. Murphey, E.D. Effects of continuous venovenous hemofiltration on cardiopulmonary function in a porcine model of endotoxin-induced shock. / E.D.

Murphey, J.F. Fessler, G.D. Bottoms et al. // *Am J Vet Res.* – 1997. – V. 58. – P. 408–413.

72. Nijhuis, C. S. Lipopolysaccharide-binding protein: a possible diagnostic marker for Gram-negative bacteremia in neutropenic cancer patients / C. S. Nijhuis, E. Vellenga, S.J. Daenen // *Intensive Care Medicine.* – 2003. – V. 29(12). – P. 2157-2161.

73. Oberholzer, C. Apoptosis in sepsis: a new target for therapeutic exploration. C. Oberholzer, A. Oberholzer, M. Clare-Salzler, L.L. Moldawer // *FASEB J.* – 2001. – V. 15. – P. 879 – 892.

74. Oda, S. Cellular injury score for multiple organ failure severity scoring system / S. Oda, H. Hirasawa, T. Sugai, H. Shiga, K. Matsuda, H. Ueno // *J Trauma.* – 1998. – V. 45. – P. 304–310. – Discussion 310-311.

75. Oda, S. Continuous hemofiltration/hemodiafiltration in critical care / S. Oda, H. Hirasawa, H. Shiga, K. Nakanishi, K. Matsuda, M. Nakamura // *Ther Apher.* – 2002. – V. 6. – P. 193–198.

76. Ono, S. Modulation of human leukocyte antigen-DR on monocytes and CD16 on granulocytes in patients with septic shock using hemoperfusion with polymyxin B-immobilized fiber /S. Ono, H. Tsujimoto, A. Matsumoto, S. Ikuta, M. Kinoshita, H. Mochizuki // *Am J Surg.* – 2004. – V. 188. – P. 150–156.

77. Oppenheim, J.J. Alarmins: chemotactic activators of immune responses / J.J. Oppenheim, D. Yang // *Curr. Opin. Immunol.* – 2005 – V. 17. – P. 359–365.

78. O'Reilly, M. Endotoxin, sepsis, and the primrose path /M. O'Reilly, D.E. Newcomb, D. Remick // *Shock.* – 1999. – V. 12. – P. 411.

79. Oudemans-van Straaten, H.M. Outcome of critically ill patients treated with intermittent high-volume haemofiltration: a prospective cohort analysis / H.M. Oudemans-van Straaten, R.J. Bosman, J.I. van der Spoel et al. // *Intensive Care Med.* – 1999. – V. 25. – P. 814–821.

80. Park, W.Y. Cytokine balance in the lungs of patients with acute respiratory distress syndrome / W.Y. Park, R.B. Goodman, K.P. Steinberg et al. // *Am J Respir Crit Care Med.* – 2001. – V. 164. – P. 1896.

81. Peng, Z.Y. Hemoadsorption improves long-term survival after sepsis in the

rat / Z.Y Peng., H. Wang, M.J. Carter, M. DiLeo, J.A. Kellum // *Crit. Care Med.* – 2008. – V. 36 (12suppl.). – P. 1.

82. Reeves, J.H. Continuous plasmafiltration in sepsis syndrome. Plasmafiltration in Sepsis Study Group / J.H. Reeves, W.W. Butt, F. Shann, J.E. Layton, A. Stewart, P.M. Waring et al. // *Crit Care Med.* – 1999. – V. 27. – P. 2096–2104.

83. Rogiers, P. Continuous venovenous hemofiltration improves cardiac performance by mechanisms other than tumor necrosis factor-alpha attenuation during endotoxic shock / P. Rogiers, H. Zhang, N. Smail et al. // *Crit Care Med.* – 1999. – V. 27. – P. 1848–1855.

84. Rogiers, P. Comparison of polyacrylonitrile (AN69) and polysulphone membrane during hemofiltration in canine endotoxic shock / P. Rogiers, H. Zhang, D. Pauwels et al. // *Crit Care Med.* – 2003. – V. 31. – P. 1219–1225.

85. Ronco, C. Extracorporeal therapies in non-renal disease: treatment of sepsis and the peak concentration hypothesis / C. Ronco, M. Bonello, V. Bordoni et al. // *Blood Purif.* – 2004. – V. 22. – P. 164–174.

86. Ronco, C. Adsorption in sepsis / C. Ronco, B. Alessandra, D. Maurizio, P. Pasquale, B. Rinaldo et al. // *Kidney International.* – 2000. – V. 58. – P. 148–155.

87. Ronco, C. Adsorption in sepsis / C. Ronco, B. Alessandra, D. Maurizio, P. Pasquale, B. Rinaldo et al. // *Kidney International.* – 2000. – V. 58. – P. 148–155.

88. Saha, B. Removal of 17 $\beta$ -oestradiol and 17 $\alpha$ -ethinyl oestradiol from water by activated carbons and hypercrosslinked polymeric phases / B. Saha, E. Karounou, M. Strea // *Reactive and Functional Polymers.* – 2010. – V. – 70 (8). – P. 531-544.

89. Sakata, H. Blood purification therapy for sepsis / H. Sakata, M. Yonekawa, A. Kawamura // *Transfus Apher Sci.* – 2006. – V. 35(3). – P. 245-251.

90. Shoji, H. Extracorporeal endotoxin removal for the treatment of sepsis: endotoxin adsorption cartridge (Toraymyxin) / H. Shoji // *Ther Apher Dial.* – 2003. – V. 7. – P. 108–114.

91. Song, M. Cytokine removal with a novel adsorbent polymer / M. Song, J. Winchester, R.L. Albright, V.J. Capponi, M.D. Choquette, J.A. Kellum // *Blood Purif.* – 2004. – V. 22. – P. 428-434.

92. Stucker, F. Procalcitonin and infection in elderly patients /F. Stucker, F. Herrmann, J.D. Graf et al. // *J Am Geriatr Soc.* – 2005. – V. 53. – P. 1392–1395.
93. Takeshita, S. Increased Levels of lipopolysaccharide binding protein in plasma in children with kawasaki disease / S. Takeshita, H. Tsujimoto, H. Kawase, Y. Kawamura, I. Sekine // *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* – 2002. – V. 9(1). – P. 205–206.
94. Tetta, C. Artificial organ treatment for multiple organ failure, acute renal failure, and sepsis: recent new trends / C. Tetta, R. Bellomo. C. Ronco // *Artif. Organs.* – 2003. – V. 27 (3). – P. 202-213.
95. Ullrich, R. Continuous venovenous hemofiltration improves arterial oxygenation in endotoxin-induced lung injury in pigs / R. Ullrich, G. Roeder, C. Lorber et al. // *Anesthesiology.* – 2001. – V. 95. – P. 428–436.
96. Villa, G. Nomenclature for renal replacement therapy and blood purification techniques in critically ill patients: practical applications / G. Villa M. Neri, R. Bellomo, J. Cerda, A.R. De Gaudio, S. De Rosa, F. Garzotto, P.M. Honore, J. Kellum, A. Lorenzin, D. Payen, Z. Ricci, S. Samoni, J.L. Vincent, J. Wendon, M. Zaccaria, C. Ronco. // *Crit Care.* – 2016. – V. 20(1). – P. 283.
97. Vincent, J. L. The last 100 years of sepsis / J. L. Vincent, E. Abraham // *Am J Respir Crit Care Med.* – 2006. – V. 173(3). – P. 256-263.
98. Veenman, J.N. High volume continuous venovenous haemofiltration (HV-CVVH) in an equine endotoxaemic shock model / J. N. Veenman, C. L. Dujardint, A. Hoek et al. // *Equine Vet J.* – 2002. – V. 34. – P. 516–522.
99. Wang, H. Amelioration of hemodynamics and oxygen metabolism by continuous venovenous hemofiltration in experimental porcine pancreatitis / H. Wang, Z.H. Zhang, X.W. Yan et al. // *World J Gastroenterol.* – 2005. – V. 11. – P. 127–131.
100. Wei, T. Early use of endotoxin absorption by oXiris in abdominal septic shock: A case report / T. Wei, Z. Chen, P. Li, X. Tang, M.R. Marshall, L. Zhang, P. Fu. // *Medicine (Baltimore).* – 2020. – V. 99. – P. 28.
101. Wu, J. Effects of Changes in the Levels of Damage-Associated Molecular Patterns Following Continuous Veno-Venous Hemofiltration Therapy on Outcomes in Acute Kidney Injury Patients With Sepsis / J. Wu, J. Ren, Q. Liu, Q. Hu, X. Wu, G.

Wang, Z. Hong, H. Ren, J. Li. // *Front Immunol.* – 2019. – V. 7 – P. 9–12.

102. Yang, H. Reversing established sepsis with antagonists of endogenous high-mobility group box 1 / H. Yang, M. Ochani, J. Li, X. Qiang et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2004. – V. 101. – P. 296–301.

103. Yaroustovsky, M. Selective LPS Adsorption Using Polymyxin B-Immobilized Fiber Cartridges in Sepsis Patients Following Cardiac Surgery / M. Yaroustovsky, M. Abramyan, E. Komardina, H. Nazarova, D. Popov, M. Plyushch, A. Soldatkina, E. Rogalskaya. // *Shock.* – 2018. – V. 49. – P. 658-666.

104. Yin, F. The therapeutic effect of high-volume hemofiltration on sepsis: a systematic review and meta-analysis / F. Yin, F. Zhang, S. Liu, B. Ning. // *Ann Transl Med.* – 2020. – V. 8. – P. 488-504.

105. You, B. Early application of continuous high-volume haemofiltration can reduce sepsis and improve the prognosis of patients with severe burns / B. You, Y.L. Zhang, G.X. Luo, Y.M. Dang, B. Jiang, G.T. Huang, X.Z. Liu, Z.C. Yang, Y. Chen, J. Chen, Z.Q. Yuan, S.P. Yin, Y.Z. Peng. // *Crit Care.* – 2018. – V. 22. – P. 173-175.

106. Yekebas, E.F. Attenuation of sepsis-related immunoparalysis by continuous veno-venous hemofiltration in experimental porcine pancreatitis / E. F. Yekebas, C.F. Eisenberger, H. Ohnesorge et al. // *Crit Care Med.* – 2001. – V. 29. – P. 1423–1430.

107. Yekebas, E.F. Influence of zero-balanced hemofiltration on the course of severe experimental pancreatitis in pigs / E. F. Yekebas, H. Treede, W.T. Knoefel et al. // *Ann Surg.* – 1999. – V. 229. – P. 514–522.

108. Yusufu, M. I. Production and characterization of activated carbon from selected local raw materials / M. I. Yusufu, C. C. Ariahu, B. D. Igbabul // *African Journal of Pure and Applied Chemistry.* – 2012. – V. 6(9). – P. 123-131

109. Zheng, J. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of linezolid in patients with sepsis receiving continuous venovenous hemofiltration and extended daily hemofiltration / J. Zheng, Z. Sun, L. Sun, X. Zhang, G. Hou, Q. Han, X. Li, G. Liu, Y. Gao, M. Ye, H. Wang, K. Yu // *J Infect Dis.* – 2020. – V. 221 (Supplement 2). – P279–287.

110 Zha, J. The efficacy of renal replacement therapy strategies for septic-acute

kidney injury: A PRISMA-compliant network meta-analysis / J. Zha, C. Li, G. Cheng, L. Huang, Z. Bai, C. Fang. // *Medicine (Baltimore)*. – 2019. – V. 98. P. 152–157.