

На правах рукописи

ЗАХАРОВ ЕГОР ВЛАДИМИРОВИЧ

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

14.01.12 – Онкология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата биологических наук

Москва – 2020

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н.Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации (директор – академик РАН, доктор медицинских наук, профессор Стилиди Иван Сократович)

Научные руководители:

доктор медицинских наук, профессор
кандидат биологических наук

Киселевский Михаил Валентинович

Корнюшенков Евгений Александрович

Официальные оппоненты:

Арзумян Вера Георгиевна, доктор биологических наук, профессор, заведующая лабораторией физиологии грибов и бактерий федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова»

Фомин Александр Михайлович, доктор медицинских наук, профессор, руководитель отделения токсикологии государственного бюджетного учреждения здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский клинический институт имени М.Ф. Владимирского»

Ведущая организация: Государственное бюджетное учреждение здравоохранения города Москвы «Московский клинический научно-практический центр имени А.С. Логинова Департамента здравоохранения города Москвы»

Защита состоится «4» февраля 2021 года в 13-00 часов на заседании диссертационного совета Д001.017.01 на базе ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России по адресу: 115478, г. Москва, Каширское шоссе, д. 23.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России по адресу: 115478, г. Москва, Каширское шоссе, д. 24 и на сайте www.ronc.ru.

Автореферат разослан «.....» 2020 года.

Ученый секретарь

диссертационного совета

доктор медицинских наук, профессор

Кадагидзе Заира Григорьевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования и степень ее разработанности

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 противoinфекционного 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 (простагландин 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 (Keel M., 2005). 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 (Veenman J.N., 2002). 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) (Li L., 2007).

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 (Deitch E.A., 1998). 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.

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 С., 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.

Методы и методология 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.

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 сверхсшитых полистиролов. Впервые проведено сравнительное исследование эффективности гемосорбентов и нового сорбента на основе наномезопористого сверхсшитого полистирола.

Впервые проведены пилотные исследования, подтвердившие целесообразность проведения экстракорпоральной детоксикации с применением гемосорбентов у собак с полиорганной недостаточностью. Впервые установлена способность нового современного гемосорбента на основе сверхсшитого 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 сверхсшитого полистирола обладает высокой гемосовместимостью и позволяет элиминировать из кровотока собак с ПОН и сепсисом триггеры (бактериальный липополисахарид) и медиаторы воспаления, а

также существенно снизить повышенный уровень билирубина у собак со злокачественными новообразованиями осложненных 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.

Личный вклад

Автор разработал дизайн диссертационной работы, освоил и эффективно применил экспериментальные методы исследования для решения поставленных задач; выполнил статистическую обработку и описал полученные результаты; сформулировал выводы и положения, выносимые на защиту. В получении и публикации части данных, помимо научных руководителей д.м.н., проф. М.В. Киселевского и к.б.н. Е.А. Корнюшенкова, вместе с автором участвовала д.б.н. Н.Ю. Анисмова (ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России). При этом вклад автора в подготовку диссертации, автореферата и научных публикаций по теме диссертационного исследования является определяющим.

Соответствие паспорту специальности

Диссертация соответствует паспорту специальности 14.01.12 – Онкология («Биологические науки») и области исследования п.4 «Дальнейшее развитие оперативных приемов с использованием всех достижений анестезиологии, реаниматологии и хирургии» и п.6. «Внедрение в клиническую практику достижений фармакологии в области создания и использования цитостатиков, гормонов, биологически активных препаратов».

Положения, выносимые на защиту

1. Сорбенты на основе нано-мезопористого сверхсшитого 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.

Внедрение результатов исследования

Полученные в ходе работы результаты и предложенные рекомендации внедрены в клиническую практику ветеринарной клиники ООО «Биоконтроль».

Апробация

Апробация диссертационной работы состоялась 26 ноября 2019 года на совместной научной конференции лабораторий и отделений ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России.

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).

Публикации

Материалы диссертационных исследований изложены в 11 научных работах, из них 3 статьи в журналах, которые внесены в перечень рецензируемых изданий, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России.

Объём и структура работы

Диссертация изложена на 124 страницах компьютерного текста, состоит из введения, 3 глав, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы, содержащего 110 источников (16 отечественных и 94 зарубежных). Работа иллюстрирована 48 рисунками и 30 таблицами.

СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОЙ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Исследования проводили на базе ветеринарной клиники ООО «Биоконтроль» совместно с лабораторией клеточного иммунитета НИИ ЭДиТО ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России.

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.

Животные были разделены на четыре 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). 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 (Таблица 1).

Таблица 1 – 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 %)

Гемоперфузию проводили на аппаратах АМП-ТТ («Гемофеникс», Россия) и «Гемос-ГС» (Биотех-М, Россия) с использованием неселективных гемосорбентов:

1. «Стиросорб-514». Образцы были произведены и предоставлены для исследования лабораторией стереохимии сорбционных процессов ИНЭОС им. А.Н. Несмеянова РАН, 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'-метиленабисакриламидом, с иммобилизованным в нем биоспецифическим лигандом – овомукоидом. НПО «Фармавит». Республика Беларусь.

Для исследования у животных отбирали пробы венозной крови до и в первые 30 минуты после ГП. 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.

Для оценки изменений иммунологических показателей проводилось измерение поглотительной активности фагоцитов. В качестве объектов фагоцитоза использовали суспензии гранул латекса (ПанЭко, РФ), *S.cerevisiae* и *L. acidophilus* (Наринэ, РФ). Вычисляли фагоцитарный индекс (ФИ) - процент клеток, содержащих фагоцитированные объекты, а также фагоцитарное число (ФЧ) - количество гранул латекса в одном фагоците. Так же оценивали метаболическую активность фагоцитов. Для изучения респираторного взрыва нейтрофилов *in vitro* использовали реакцию восстановления клетками нитросинего тетразолия (НСТ-тест), измерялся уровень сывороточного бактериального липополисахарида (ЛПС) определяли с использованием коммерческих наборов на основе LAL теста фирмы Hycult biotechnology, The Netherlands или HyClon. Определение фагоцитарной активности и НСТ-теста осуществляли по методике Гордиенко Г.И. с некоторыми изменениями (Гордиенко Г.И., 2003).

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 $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

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 ($n=4$).

Полученные 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, отмечена тенденция к снижению (28%) количества лейкоцитов.

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 1). Изменение остальных гематологических показателей не значимые.

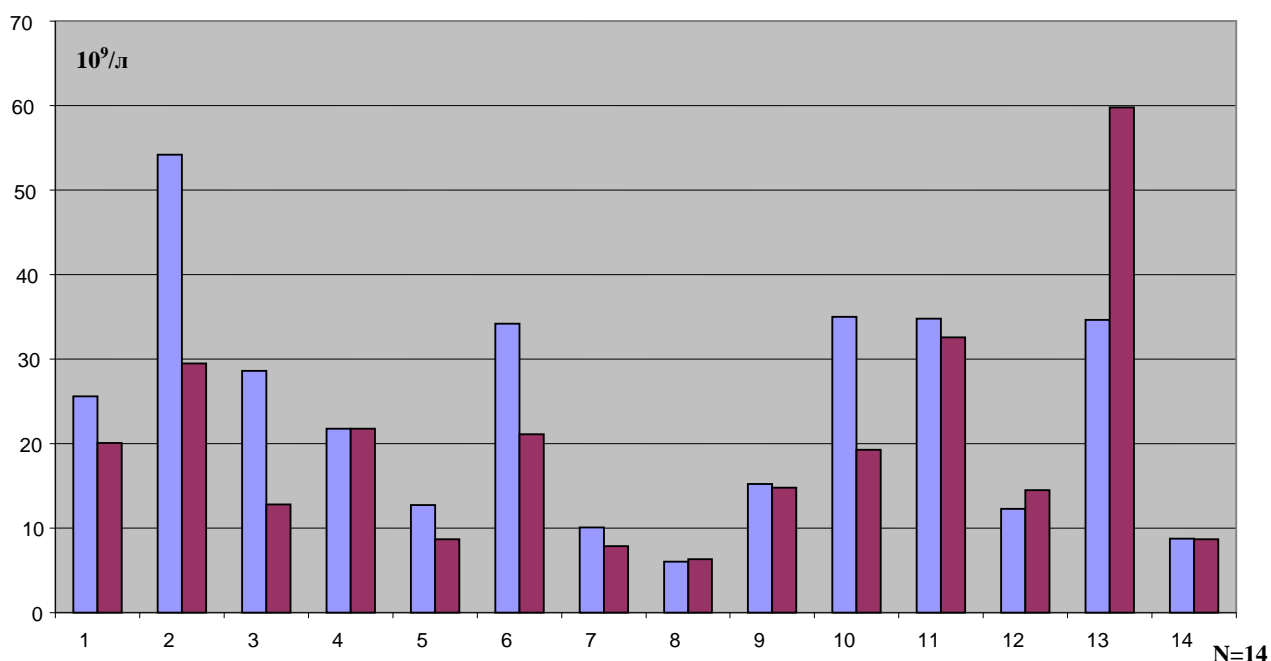


Рисунок 1 – Изменение содержания лейкоцитов в крови собак со злокачественными новообразованиями в результате процедуры ГП с применением «ВНИИТУ-1»

Применение углеродного сорбента достоверно не влияет на изменения биохимических показателей. Однако следует отметить тенденцию к снижению некоторых показателей, таких как креатинин (-38%), мочевины (-18%), а также щелочная фосфатаза (-22%). Снижение рассматриваемых показателей отмечается 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 (Рисунок 2). 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. Так же не было зафиксировано значимого влияния на остальные биохимические показатели.

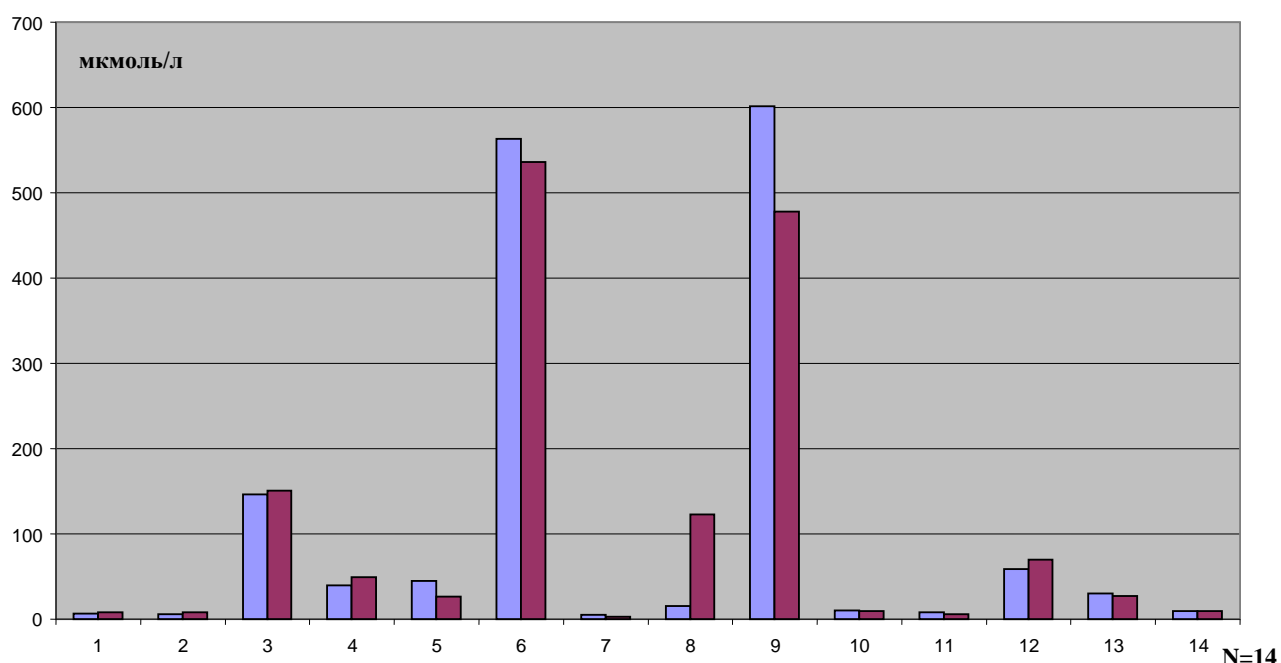


Рисунок 2 – Изменение содержания билирубина в сыворотке крови собак со злокачественными новообразованиями в результате процедуры ГП с применением «ВНИИТУ-1»

Необходимо отметить практически полную элиминацию липополисахарида (95%) (Таблица 2).

На ряду с элиминацией бактериального эндотоксина, отмечалось достоверное снижение провоспалительных цитокинов ИЛ-6 и ИЛ-8 после проведения ГП с использованием «ВНИИТУ-1» (Таблица 2).

Таблица 2 – 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 ¹
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

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

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

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

Оценка эффективности гемосорбента Стиросорб-514

В данную группу исследования 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.

Полученные данные 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. На этом фоне имело место значительное снижение исходно повышенных параметров систолического и среднего АД.

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 (Рисунок 4).

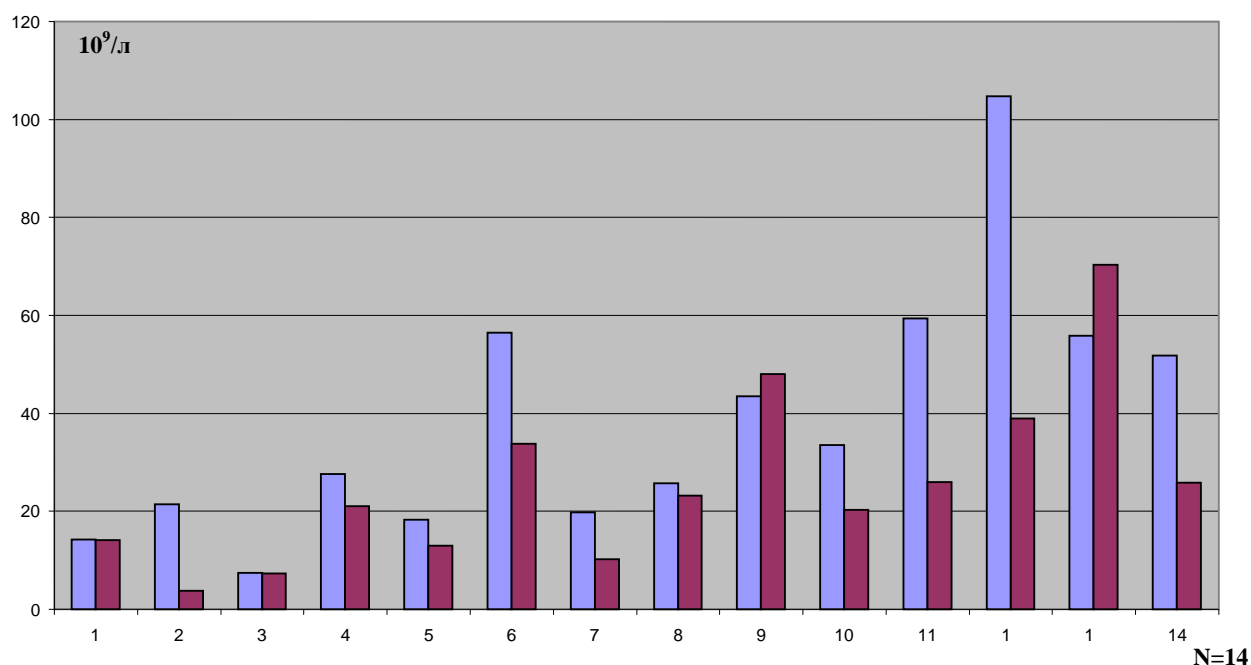


Рисунок 4 – Изменение содержания лейкоцитов в крови собак со злокачественными новообразованиями в результате процедуры ГП с применением Стиросорб-514

При анализе полученных данных 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 зарегистрировано снижение уровня билирубина 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 (Рисунок 5). 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.

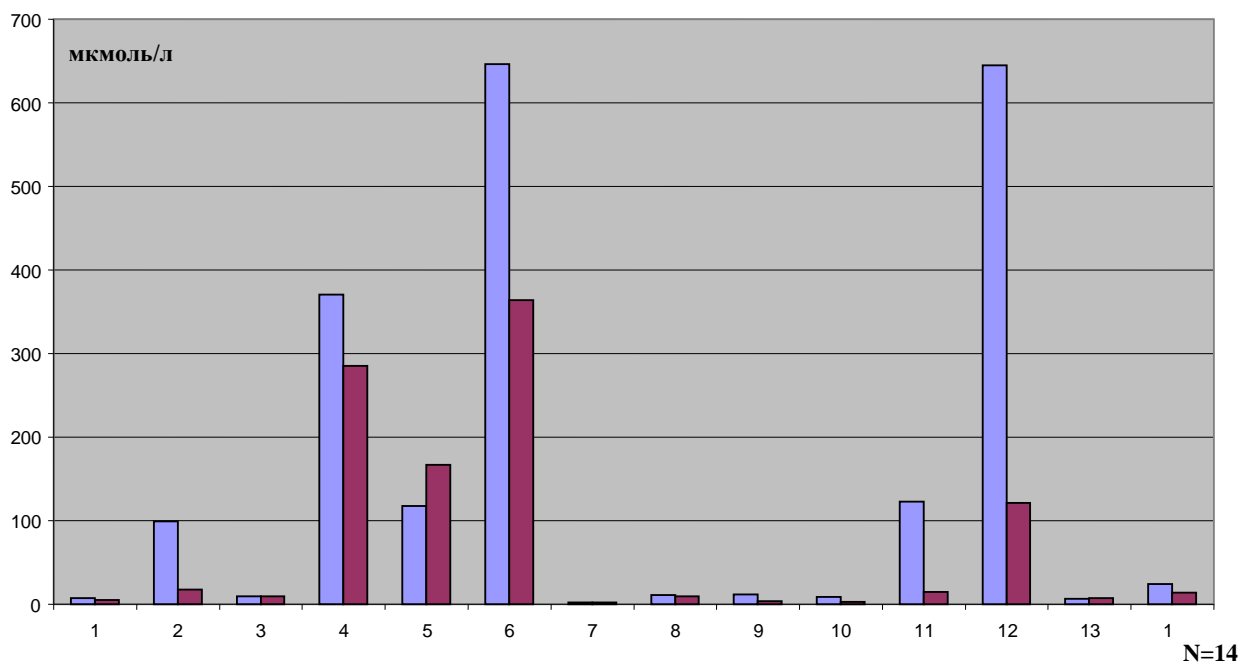


Рисунок 5 – Изменение содержания билирубина в сыворотке крови собак со злокачественными новообразованиями в результате процедуры ГП с применением Стиросорб-514

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

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 3).

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 3).

Таблица 3 - 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, ** $p < 0,05$

Было отмечено 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.

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%.

Оценка эффективности гемосорбента «ОВОСОРБ»

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

У животных данной группы отмечалось повышение двигательной активности животных, нормализация показателей гемодинамики, также зарегистрировано снижение частоты сердечных сокращений, хотя изначально повышения были не значительны. Показатели АД не претерпевали изменений.

Со стороны гематологических показателей был отмечен 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 6).

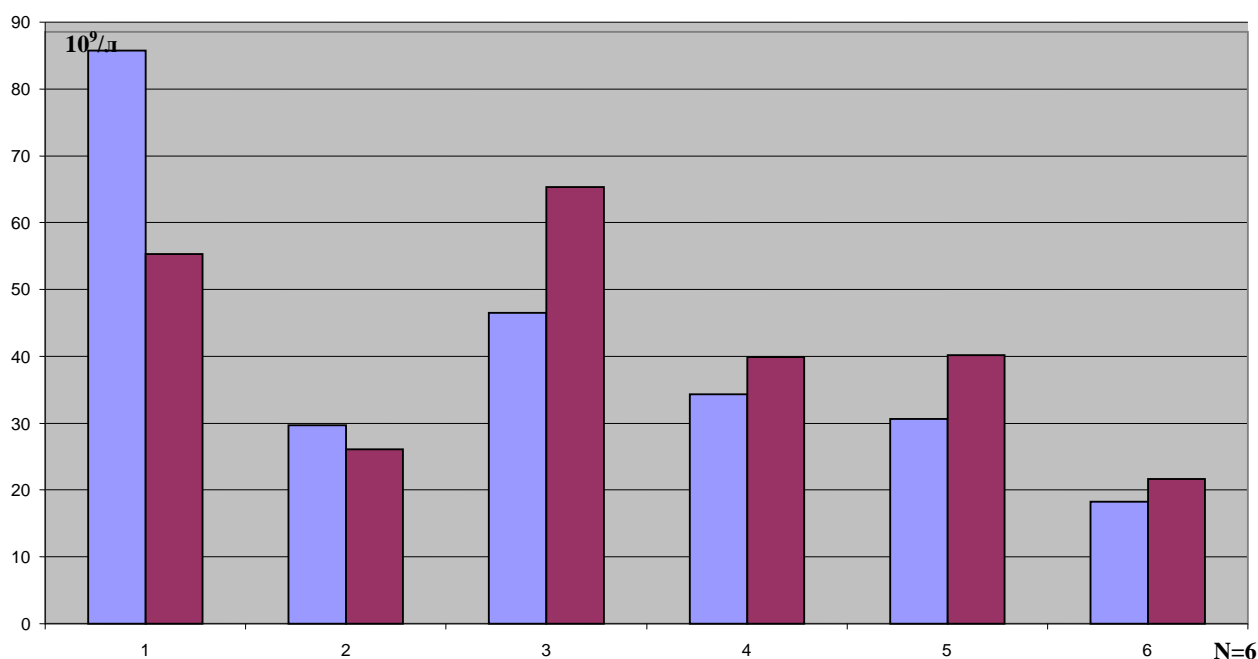


Рисунок 6 – Изменение содержания лейкоцитов в крови собак со злокачественными новообразованиями в результате процедуры ГП с применением «Овосорб»

Согласно полученным данным 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. Из всех животных снижение уровня билирубина отмечено только у 1 (16,7%) собаки. 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.

Влияния гемосорбента «Овосорб» на остальные биохимические показатели не был выявлен.

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. Однако у 6 (37,5%) собак артериальное давление через сутки после начала терапии

снизились ниже средне нормальных уровней, что потребовало применения вазопрессоров.

Исходя из полученных данных 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. У одного животного произошло повышения уровня лейкоцитов почти в два раза (Рисунок 7). Остальные изменения гематологических показателей были отмечены как незначительные у всех животных данной группы.

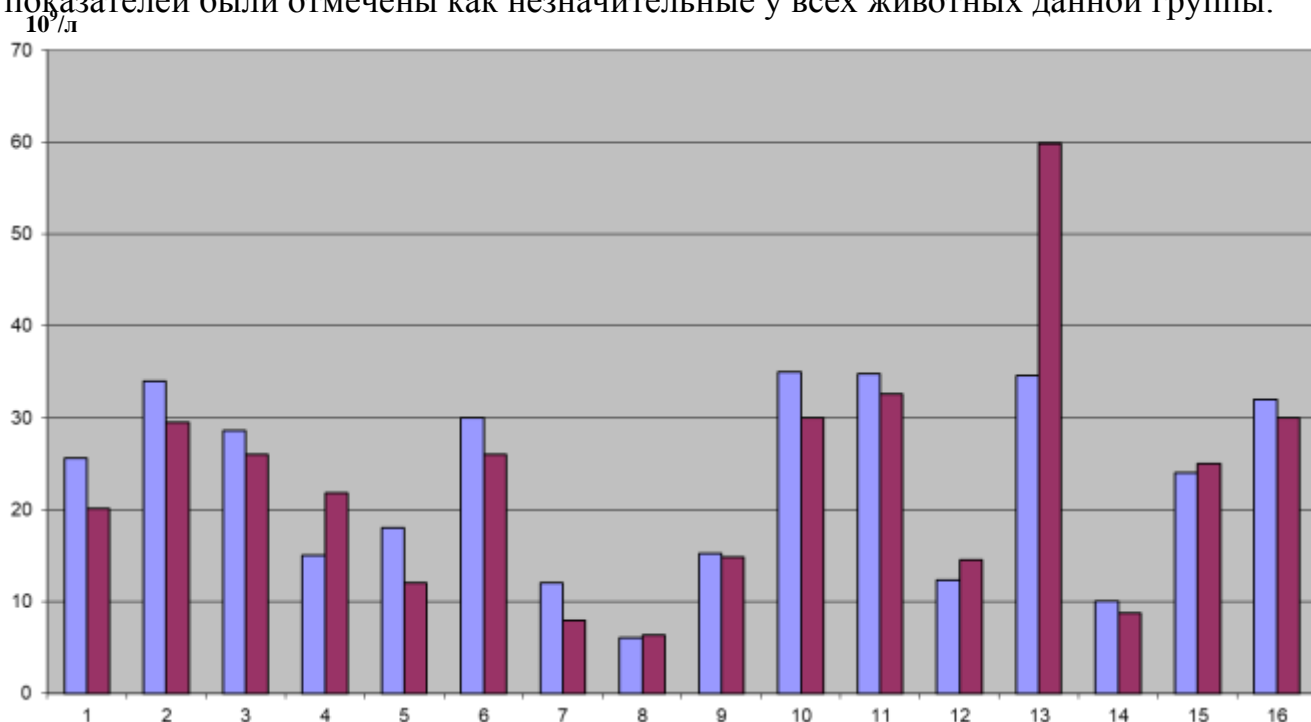


Рисунок 7 – Изменение содержания лейкоцитов в крови собак с сепсисом и ПОН при консервативной терапии

Согласно полученным данным, 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 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% (Рисунок 8).

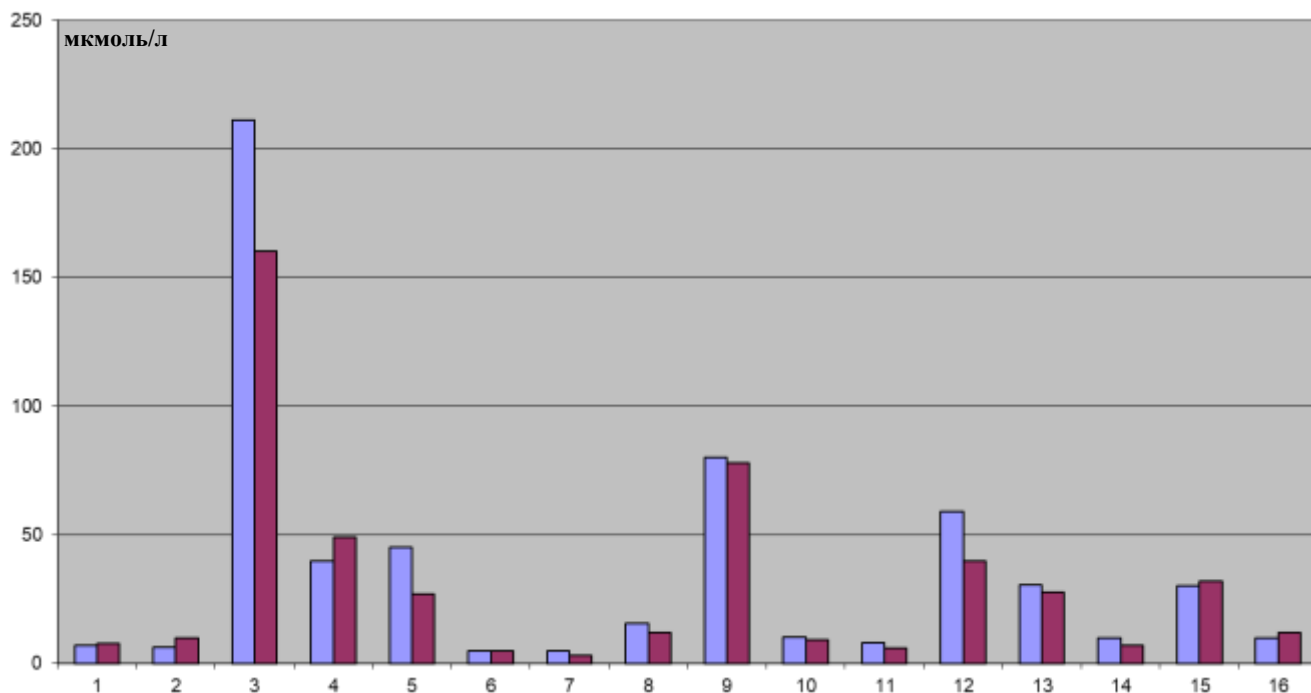


Рисунок 8 – Изменение содержания билирубина в сыворотке крови собак с сепсисом и ПОН при консервативной терапии

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. У двух собак выявлено значительное снижение уровня АЛТ, у одного животного произошло повышение данного показателя в 4,5 раза. Снижение щелочной фосфатазы на 40% было у одной собаки. Значимых изменений в остальных биохимических показателях выявлено не было.

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.

При анализе коагуляционного статуса было отмечено увеличение активированного частичного тромбопластинового времени, однако эти изменения не приводили к клиническим проявлениям коагулопатии.

В контрольной группе животных выживаемость животных составила 50%.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

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. Полученные данные на собаках, свидетельствуют о перспективности применения гемосорбента Стиросорб-514 в клинической гуманитарной практике у больных 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 стиросорба, 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. Критериями эффективности гемоперфузии являются 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 РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Захаров, Е.В. Экстракорпоральная гемокоррекция / Е.В. Захаров, Е.А. Корнюшенков, М.В. Киселевский, Н.Ю. Анисимова // Российский ветеринарный журнал. – 2015. – №1. – С. 40-42.

2. Захаров, Е.В. Эффективность неселективных гемосорбентов при полиорганной недостаточности у собак / Е.В. Захаров // Вестник новых медицинских технологий. – 2016. – Т. 23. – № 4 – С. 251-256.

3. Корнюшенков, Е.А. Применение неселективных гемосорбентов у собак при полиорганной недостаточности / Е.А. Корнюшенков, Е.В. Захаров, М.В. Киселевский, А.Л. Кузнецова, Е.А. Чубарова // Российский ветеринарный журнал. – 2016. – №4. – С. 34-37.

4. Anisimova, N.Y. An experience of the device based in the hemosorbent styrosorb 514 in treatment of dogs with sepsis (pilot study) / N.Y. Anisimova, Davankov V.A., Tsyurupa M.P., Pavlova L.A., Kornjushenkov E.A., Zakharov E.V., Ustyuzhanina N.V., Kiselevskiy M.V. // Immunological pathogenesis of sepsis and use hemosorbition for treatment patients with sepsis. Nova Biomedica. – 2014. – P. 115-120.

5. Захаров, Е.В. Респираторная поддержка в интенсивной терапии / Материалы XV Всероссийской конференции по анестезиологии, реанимации и интенсивной терапии и Мастер-классы. – Москва. – 2019. – С. 15.

6. Захаров, Е.В. Применение гемосорбции при сепсисе / Материалы национальной ветеринарной конференции. – Москва. – 2017. – С. 213.