

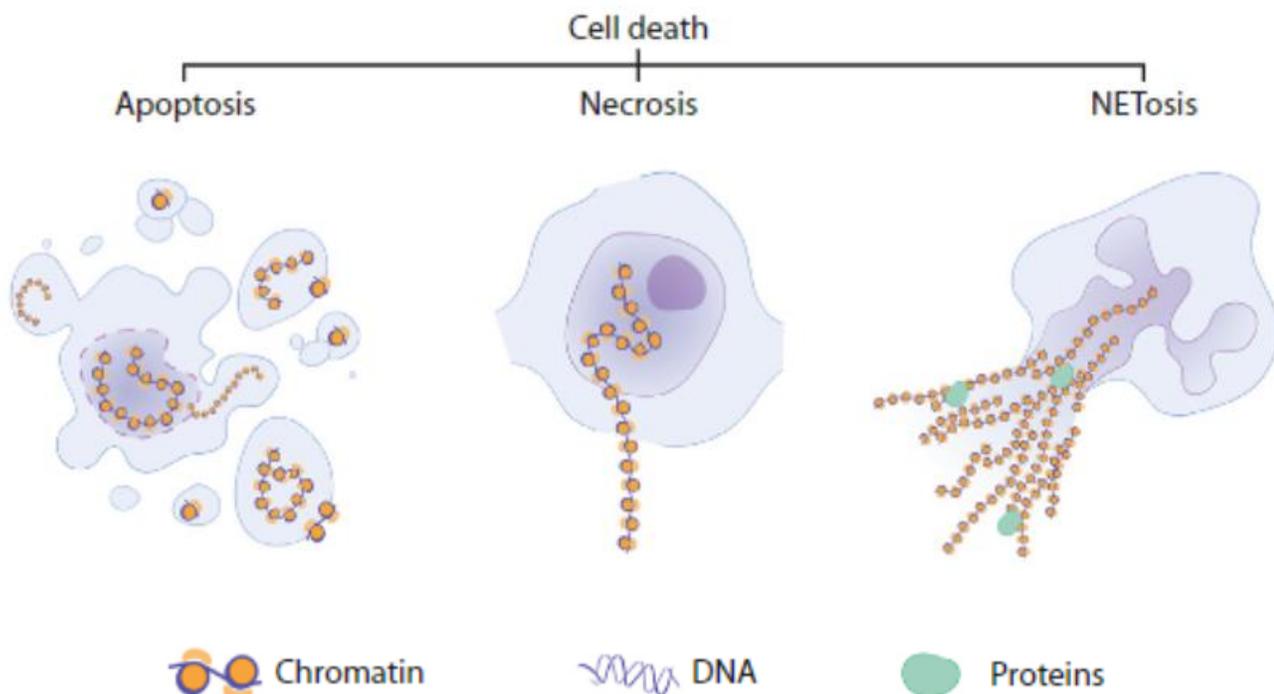
# **Первый опыт применения сорбции нейтрофильных ловушек (NETs) у пациентов с сепсисом**

**Абрамовский С.В.<sup>1</sup>, Иванова Г.Г.<sup>1</sup>, Афанасьева М.И.<sup>2</sup>, Покровский Н.С.<sup>2</sup>, Соколов А.А.<sup>2</sup>.**

<sup>1</sup>ФГБУ СЗОНКЦ им. Л.Г. Соколова ФМБА России, <sup>2</sup>ФГБУ НМИЦ кардиологии МЗ России

# Нейтрофильные внеклеточные ловушки - NETs

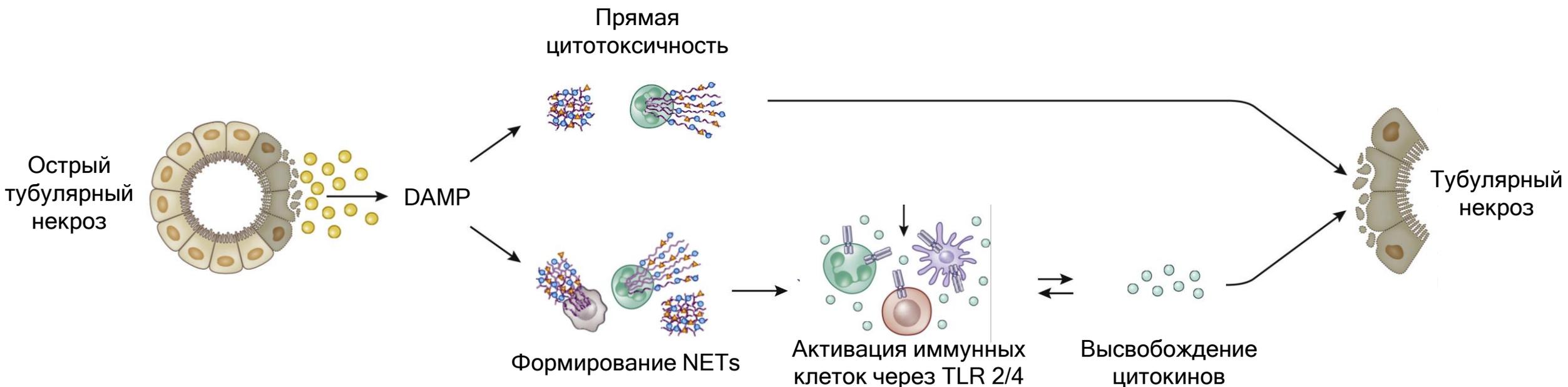
**Нетоз** [англ. NETosis] – вид программируемой клеточной гибели нейтрофилов в ответ на различные стимулы, сопровождающийся выбросом **нейтрофильных внеклеточных ловушек** [neutrophil extracellular traps, NETs], представляющие собой нити ДНК в комплексе с высокоцитотоксичными белками (гистоны и др.).



## Основные компоненты NETs:

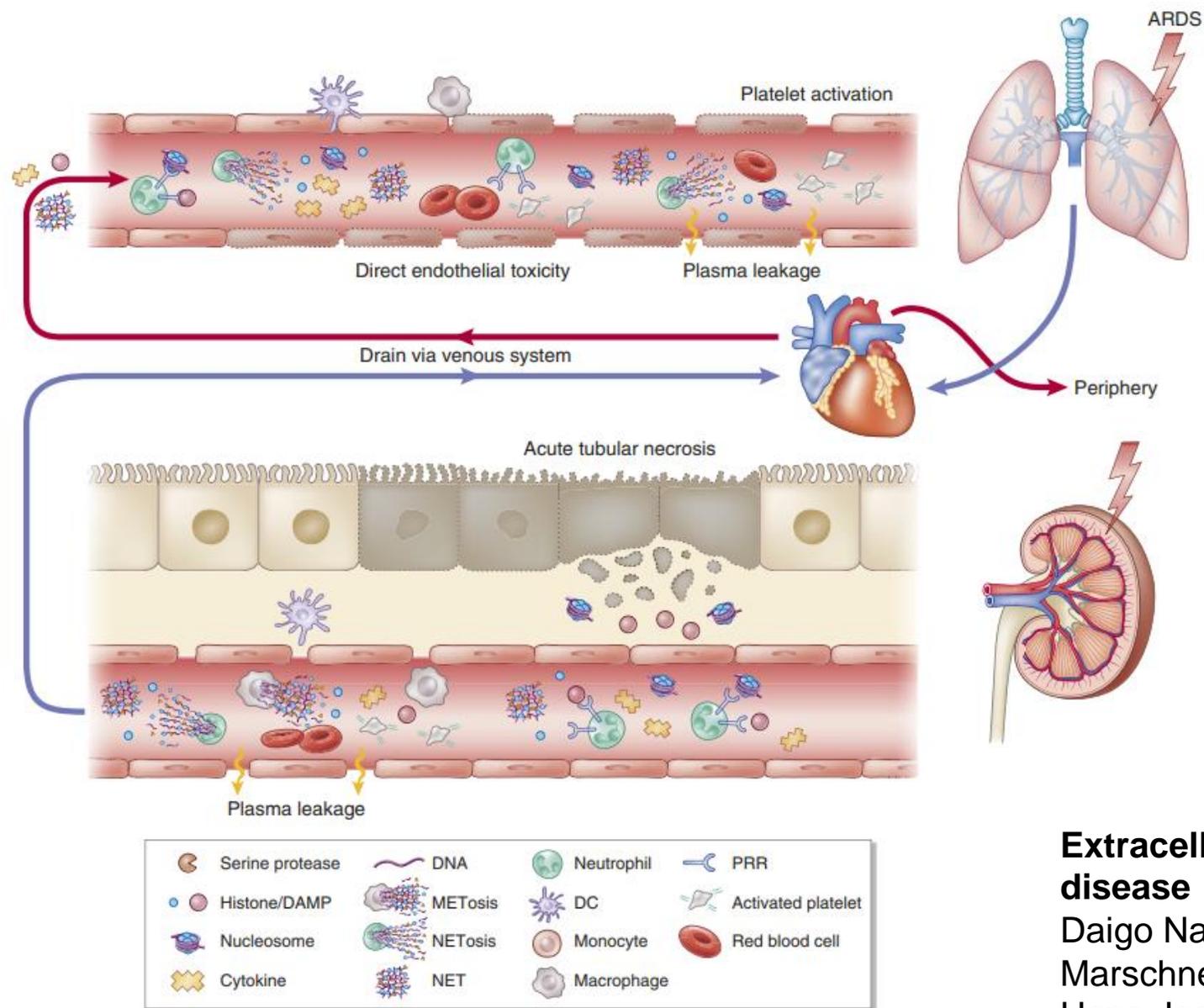
- Белки – гистоны (около 70%)
- Нити ДНК
- Ферменты

# Нейтрофильные внеклеточные ловушки (NETs) при остром тубулярном некрозе



Адаптировано: Nakazawa, D., Marschner, J. A., Platen, L., & Anders, H. J. (2018). Extracellular traps in kidney disease. *Kidney international*, 94(6), 1087–1098. <https://doi.org/10.1016/j.kint.2018.08.035>

# Роль NETs в развитии ОРДС при остром почечном повреждении



## Extracellular traps in kidney disease

Daigo Nakazawa, Julian A. Marschner, Louise Platen, and Hans-Joachim Anders.

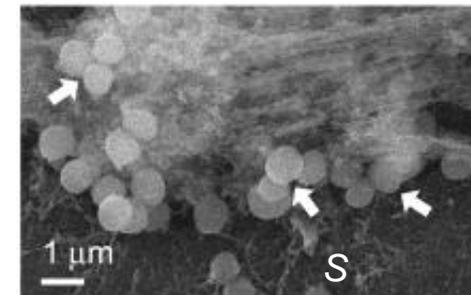
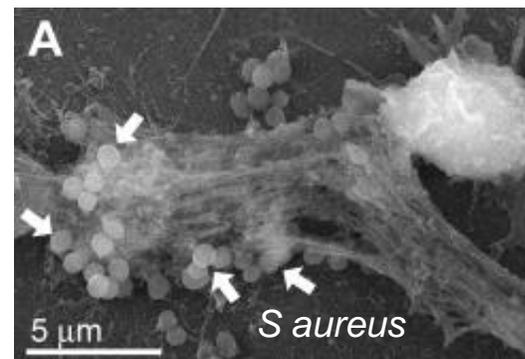
# NETs и сепсис

## Роль NETs



### Физиологическая:

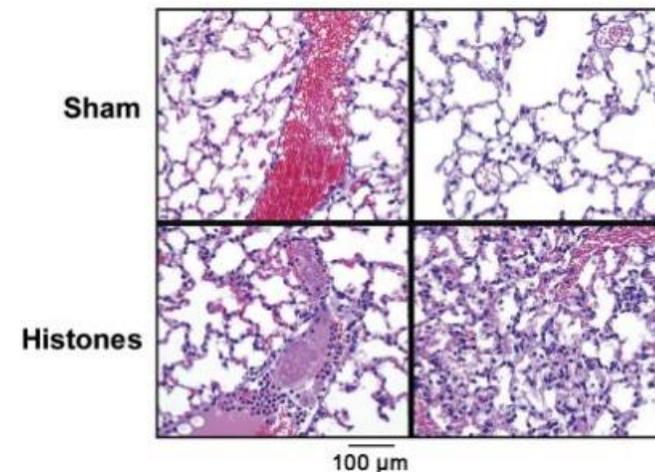
1. Захват и разрушение бактериальных клеток



*Brinkmann V et al. Science. (2004); Yost CC et al. Blood. (2009)*

### Патологическая:

1. Компоненты NETs (гистоны и вкДНК) – **DAMP**
2. Повреждение **эндотелиальных клеток** (сосудистых и альвеолярных)
3. Развитие **ДВС** и внутрисосудистого **тромбоза**

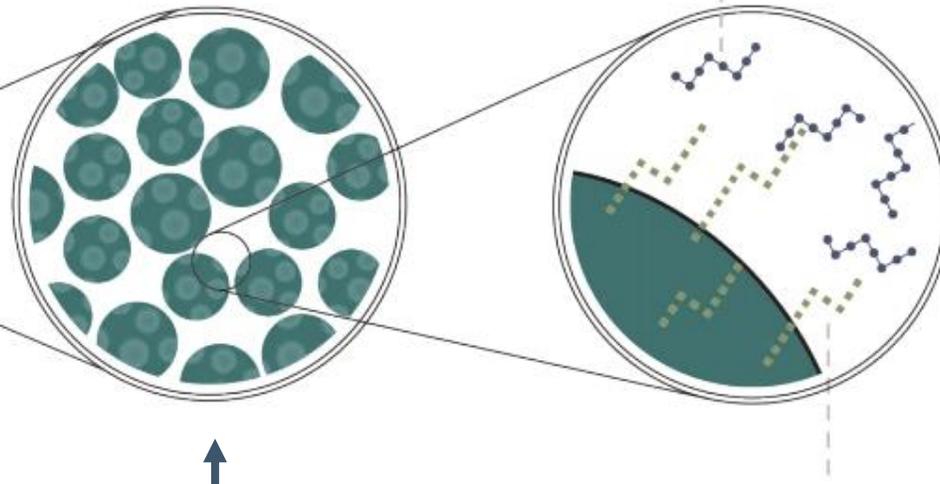


*Denning N-L et al. Front. Immunol (2019); Lerman YV et al. Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets. (2015); Gupta K et al. FEBS Lett. (2010); Bosmann M et al. FASEB J. (2013); Kimball S et al. Front Immunol. (2016); Martinod K et al. Blood. (2014); Delabranche X et al. Shock. (2017); McDonald A et al. Blood. (2017); Yang S et al. Shock. (2017)*

# Терапевтические методы воздействия на NETs

Препарат	Статус	Исследователь [Спонсор]
Danirixin (антагонист CXCR2)	Фаза II	Dundee, Великобритания [GlaxoSmithKline - GSK]
Рекомбинантная ДНКаза I	Фаза I/II	Hamilton General Hospital, Hamilton Health Sciences; McGill University Health Centre, Канада [Roche]
Фостаматиниб (ингибитор Syk)	Фаза II	National Institutes of Health (NIH), США [Rigel Pharmaceuticals]
МСК перепрограммированные мРНК ДНКазы I	Фаза I/II	University of Alabama at Birmingham, США [Cartesian Therapeutics]
Рекомбинантная ДНКаза I	Фаза III	University Hospital, Strasbourg, Франция
Рекомбинантная ДНКаза I	Фаза II	Lund University, Швеции
Рекомбинантная ДНКаза I	Фаза II	University College London Hospital, Великобритания
Рекомбинантная ДНКаза I	Фаза III	University of Missouri Hospital and Clinics, США
Рекомбинантная ДНКаза I	Фаза II	Generium Pharmaceutical

# Сорбционная колонка НуклеоКор для селективной сорбции вкДНК и NETs



Таргетный компонент – вкДНК и NETs

*Высокоаффинное  
взаимодействие  
(необратимое)*

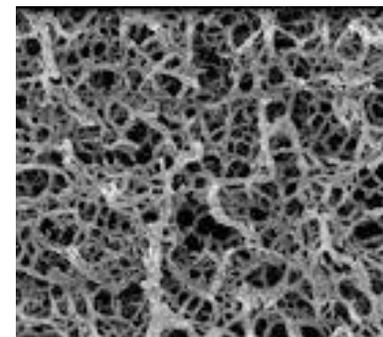
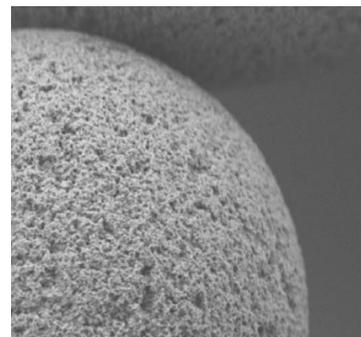
Иммобилизованный белковый лиганд,  
специфический к ДНК-содержащим структурам

Производитель:

  
«НПФ ПОКАРД»  
Россия

**Агарозная матрица**  
высокопористая  
биосовместимая  
инертная

**Св. объем: 70 мл**



Размер гранул: **45-90 μm**

Размер пор: **1,2x10<sup>6</sup> Da**

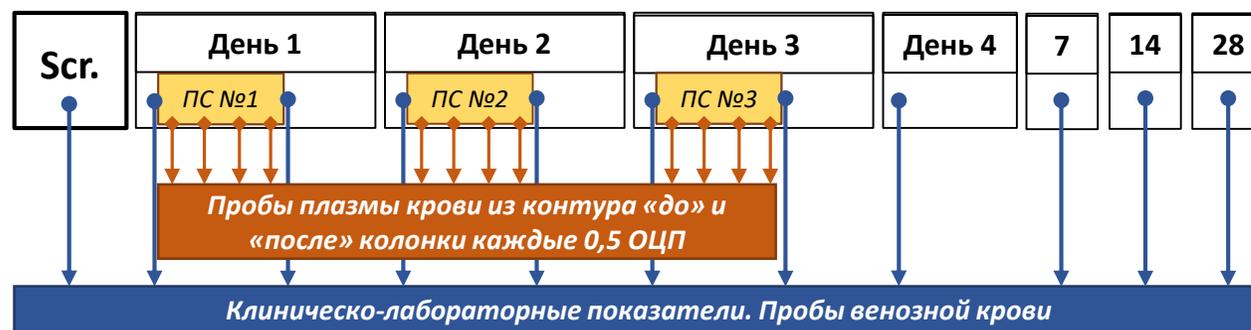
# Клинические испытания сорбционной колонки для селективной сорбции вкДНК и NETs

**Вид КИ:** открытое нерандомизированное контролируемое проспективное

**Цель:** оценка безопасности и эффективности медицинского изделия для селективной плазмсорбции ДНК

**Пациенты:** с ОПП или прогнозом (высоким риском развития) ОПП, связанных с сепсисом

**Протокол лечения:** 1 процедура плазмсорбции в день (2-6 ОЦП), 3 последовательных дня



**Исполнители:**

- 1) Северо-Западный окружной научно-клинический центр имени Л. Г. Соколова, г. Санкт-Петербург
- 2) Московский клинический научный центр имени А. С. Логинова, г. Москва

**Сорбционная колонка:** НуклеоКор, «НПФ ПОКАРД», Россия

**Аппарат для плазмсорбции:** Spectra Optia, Terumo BCT, США

**Обработка результатов:** «Acellena Contract Drug Research and Development»

# Характеристика пациентов группы НуклеоКор (n=10)

	n	Mean	SD	min – max	Median	Q1 – Q3
Возраст, лет	10	<b>56,90</b>	15,80	34.00 – 75.00	57,50	42.50 – 72.00
мужч						
женщ						
Наличие ОПГ						
SOFA, балл					4,00	3,00 – 8.50
<b>Лаборатор</b>						
Лейкоциты						
Мочевина (мг/л)						
Креатинин (мг/л)						
NGAL					50	2012.00 – 600.00 – 12.50
C-реактивный белок (мг/л) норма: менее 0.5					3	98.32 – 84.00 – 188.62
Прокальцитонин (пг/мл) норма: менее 0.1						3.13 – 0.67 – 9.02
Интерлейкин-6 (пг/мл) норма: 0 – 10						116.95 – 63.80 – 207.90
<b>Данные процедуры:</b>						
Прод-сть процедур (ч)		<b>4,26</b>	0,81	2.67 – 5.62	4,13	3.62 – 4.88
Объем обр-ной плазмы (л)	<b>32</b>	<b>3,62</b>	0,67	2,50 – 4,50	3,50	3,15 – 4,28
Скорость плазмотока (мл/мин)		<b>50,75</b>	11,29	30.00 – 74.00	50,00	40.00 – 58.25

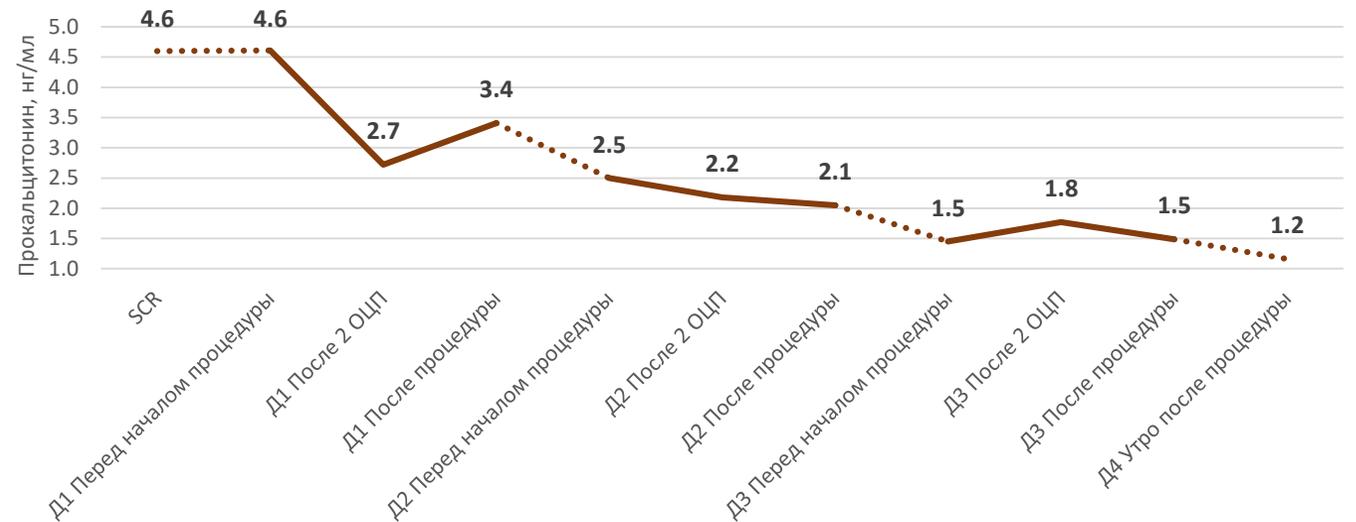
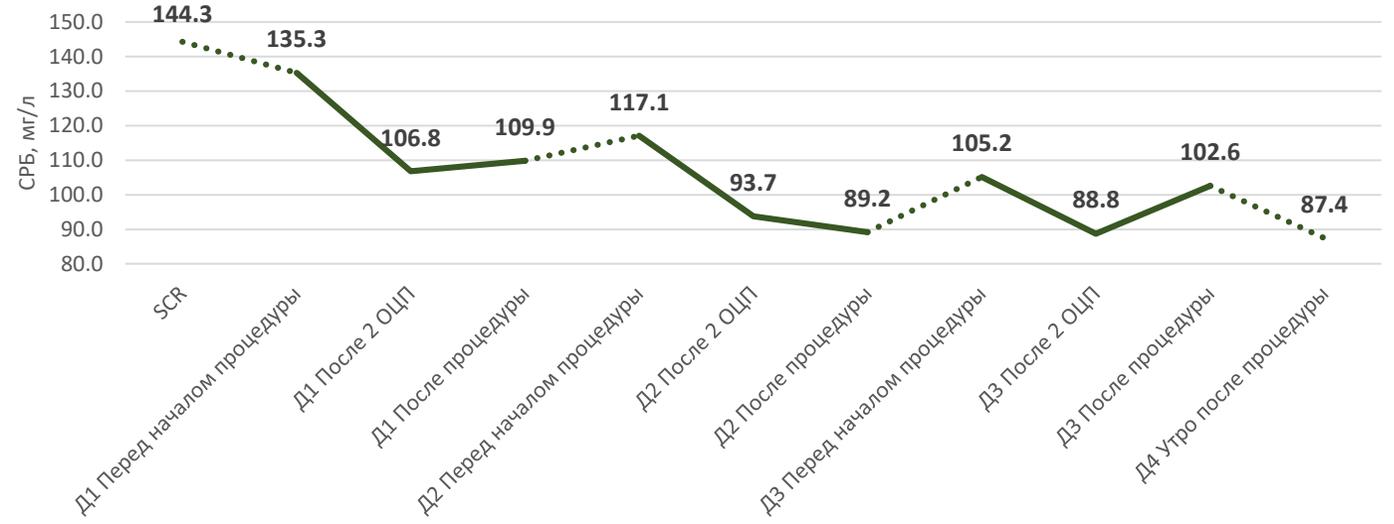
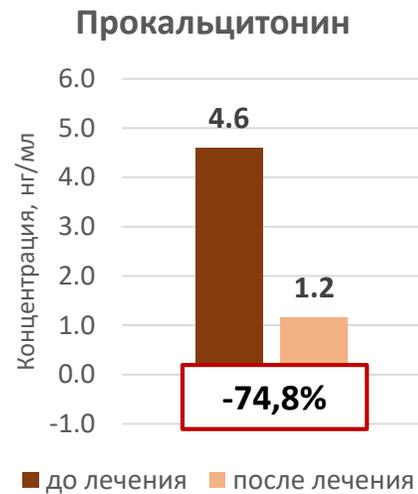
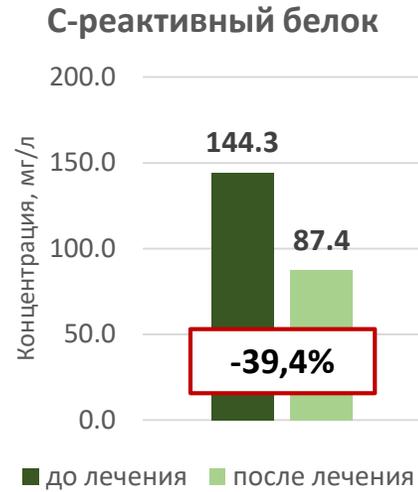
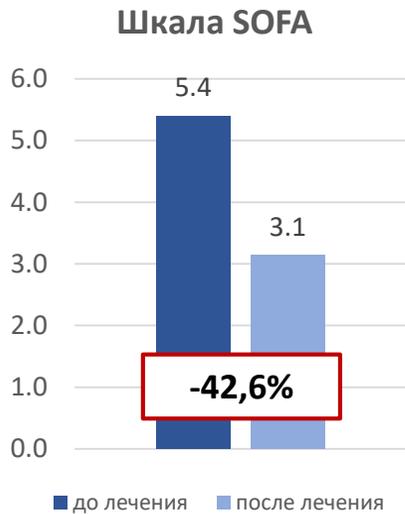
7-дневная выживаемость: **100%**

14-дневная выживаемость: **80%**

28-дневная выживаемость: **50%**

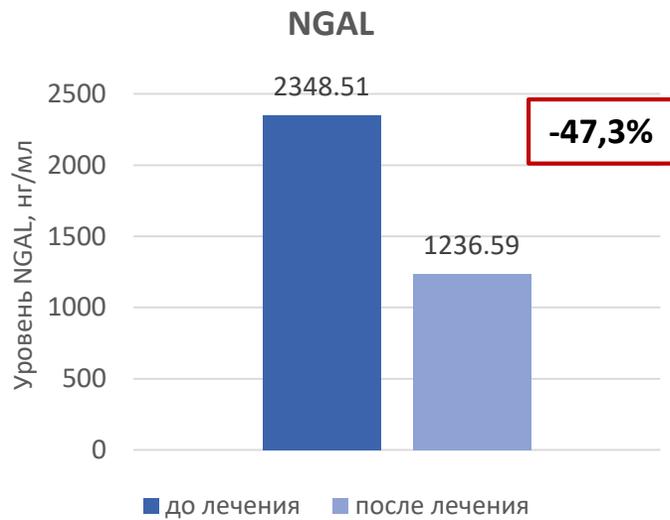
- COVID-19, КТ-3, пиопневмоторакс. Сепсис, бак. суперинфекция (полирезистентная)
- COVID-19, КТ-3. ТЕЛА. Сепсис
- Флегмона, перитонит. Септический шок
- ЗНО ободочной, перфорация, разлитой перитонит
- Холангиогенный сепсис
- ЗНО яичников, стеноз мочеточника
- ЗНО печени (ХК), механич желтуха
- Панкреонекроз, асцит, гидроторакс. Сепсис, ПОН
- ЗНО яичников. Резекция, каловый перитонит
- ЗНО ДВК, стеноз ДВК

# Оценка эффективности лечения (до после курса из 3 процедур)



Комментарий: снижение СРБ на 39,4% и ПКТ на 74,8% можно расценивать как положительную динамику лечения инфекционно-воспалительного заболевания (сепсиса).

# Оценка эффективности лечения (до после курса из 3 процедур)



Комментарий: после проведения курса из 3-х процедур наблюдается снижение NGAL на 47,3% с стойким продолжительным эффектом

# Клинический случай 1

Пациент 001-004. Муж., 45 лет, поступил в отделение реанимации после оперативного лечения по поводу перфорации сигмовидной кишки, разлитого перитонита на фоне проводимой химиотерапии по поводу ЗНО ободочной кишки. Состояние пациента расценивалось как септическое, что было подтверждено лабораторно-инструментальными методами обследования. На момент поступления - SOFA 5. ОПП - RIFLE-I

**Медикаментозная терапия:** метронидазол 500 мг три раза в сутки  
сульперазон 4 г – два раза в сутки  
клексан 0,4 мл – 1 раз в день

**Вазопрессорная поддержка:**норадреналин 0,06 мкг/кг/мин (первые сутки после операции)

**Количество процедур:** 3 процедуры плазмосорбции (3,5 ОЦП)

**Переносимость:** легкая цитратная интоксикация в ходе первой процедуры

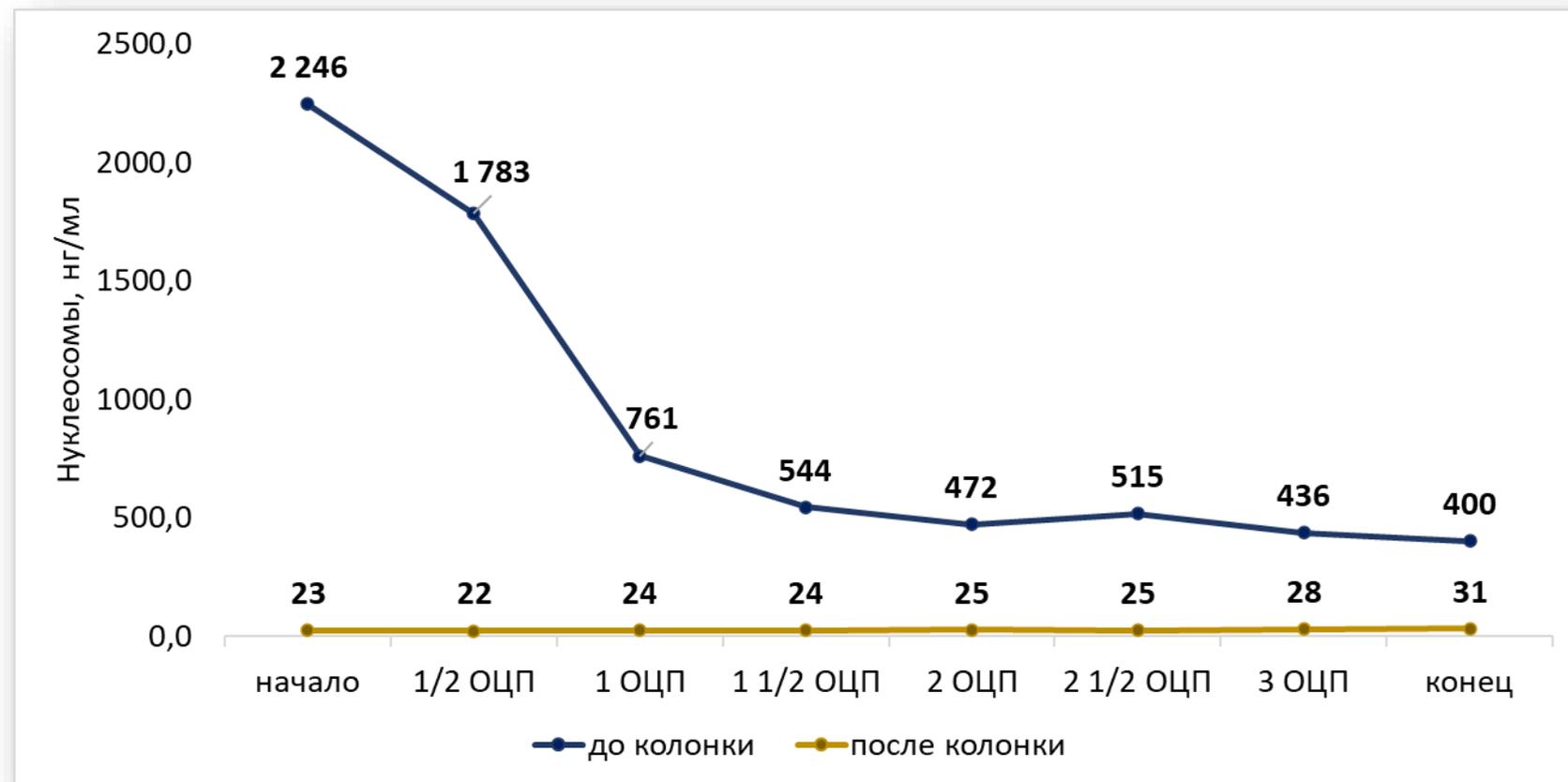
**Н/я:** снижение уровня гемоглобина после первой процедуры

**ИСХОД:** Положительная динамика, перевод в палату на 5 сутки после операции.

# Динамика клинико-лабораторных параметров

	Скрининг/День 1			День 2			День 3			сл. утро	День 7
SOFA	3			1			1			2	3
ОПП	RIFLE-I			RIFLE-R			RIFLE-R			-	-
АД, ЧСС	110/70, 92			115/70, 92			120/70, 72			120/75, 74	120/80, 74
Вазопрессорная под-ка	-			-			-			-	-
<b>Состояние, сознание:</b>	<b>тяжелое, седация</b>			<b>тяжелое, ясное</b>			<b>тяжелое, ясное</b>			«-»	«-»
	<b>Процедура 1</b>			<b>Процедура 2</b>			<b>Процедура 3</b>			сл. утро	День 7
<i>Исслед. маркеры:</i>	до	после	% изм	до	после	% изм	до	после	% изм		
Нуклеосомы, нг/мл	1017,2	265,1	<b>-74%</b>	820,9	175,3	<b>-79%</b>	336,7	102,8	<b>-69%</b>	149,2	127,9
СРБ, МЕ/мл	950,9	562,9	<b>-41%</b>	630,3	362,6	<b>-42%</b>	196,2	122,0	<b>-38%</b>	163,3	184,6
ИЛ-6, пг/мл	250,9	126,4	<b>-50%</b>	40,1	38,7	<b>-3%</b>	68,2	60,2	<b>-12%</b>	41,7	79,5
NGAL	7032,8			3417,7			1820,5			1406,7	1417,0
	<b>динамика до и после курса лечения</b>										
<i>Лейк. формула:</i>											
<b>Лейкоциты, 10<sup>9</sup>/л</b>	<b>11,1</b>	<b>12,5</b>	<b>+13%</b>	<b>9,8</b>	<b>10,2</b>	<b>+4%</b>	<b>8,0</b>	<b>12,7</b>	<b>+59%</b>	<b>11,2</b>	<b>3,6</b>
п/я нейтр, абс	3,8	0,0	-100%	2,7	0,0	-100%	0,0	0,0	0%	0,0	0,18
с/я нейтр, абс	4,2	11,1	+165%	5,0	8,6	+73%	6,3	11,2	+78%	9,4	4,69
Лимфоциты, абс	1,1	0,5	-58%	1,5	0,9	-37%	0,9	0,9	-7%	0,9	0,73

# Динамика концентрации NETs в течении процедуры





# Клинический случай 2

Пациент 001-003. 75 лет, поступил в реанимацию после оперативного лечения по поводу флегмоны забрюшинного и подпузырного пространства, перитонит, в состоянии септического шока, полиорганной недостаточности, SOFA – 10. ОПП - RIFLE-L (CRRT)

**Медикаментозная терапия:** зивокс - 600 мг/ 2 раза в сутки  
фосфомицин – 4 г/ три раза в сутки  
метронидазол – 500 мг/три раза в день

**Вазопрессорная поддержка:** норадреналин 1,2 мкг/кг/мин

**Количество процедур:** 3 процедуры плазмосорбции (3,5 - 4 ОЦП)

**Переносимость:** без осложнений.

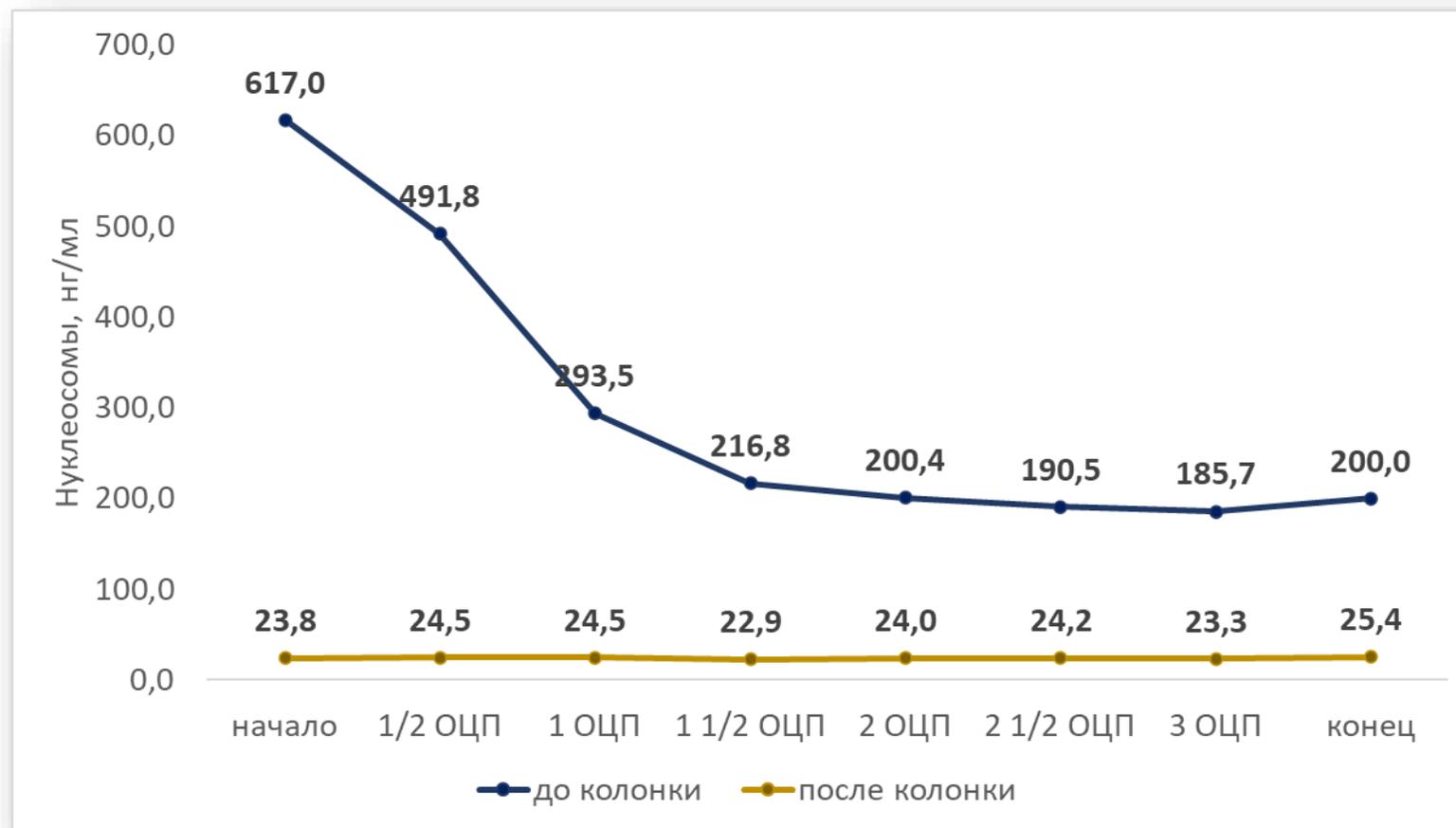
**Особенности:** регулярные транспортировки с целью ревизии, отмена а/к

**ИСХОД:** Положительная динамика, продолжение лечения в ОРИТ.

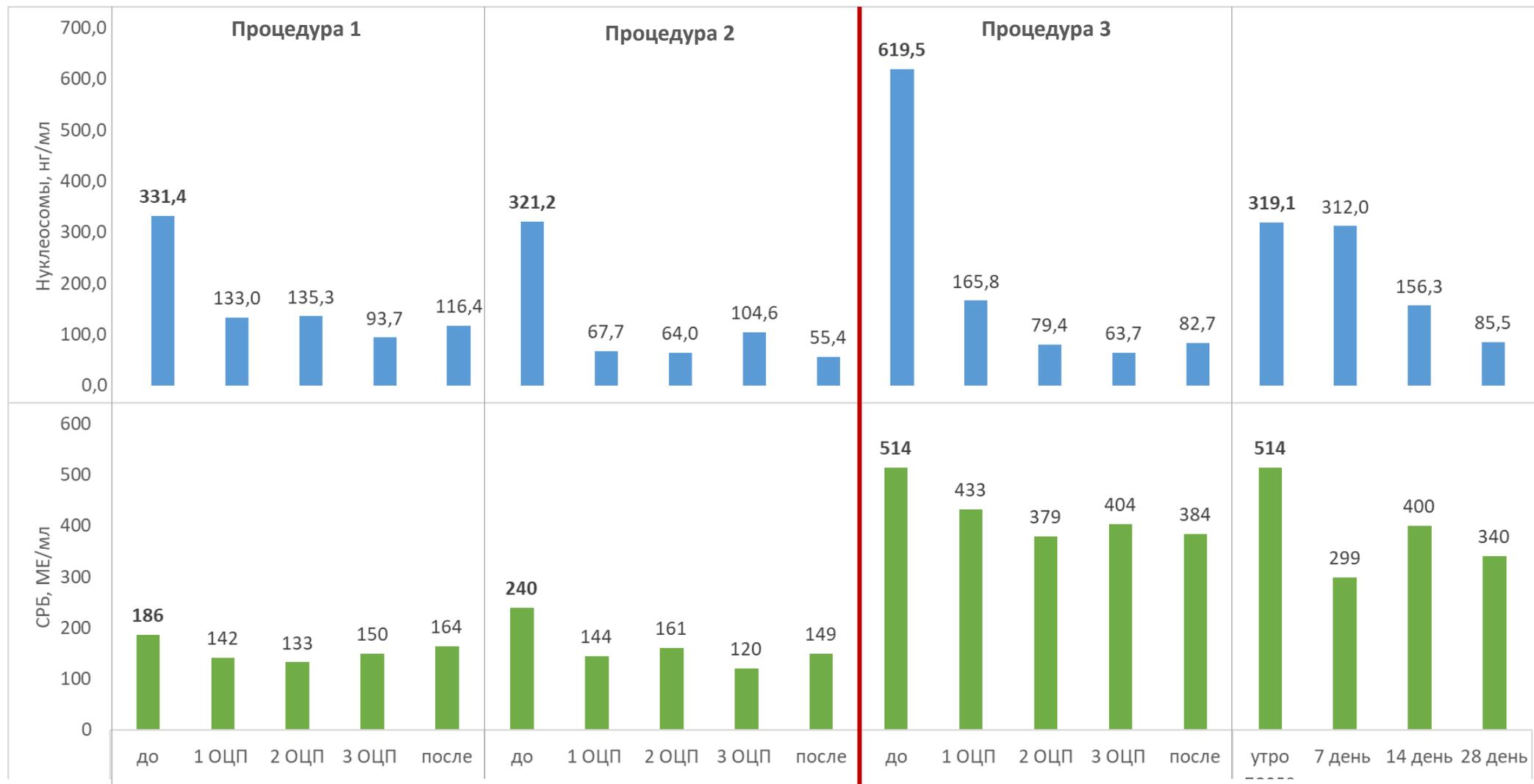
# Динамика клинико-лабораторных параметров

	Скрининг/День 1			День 2			День 3			сл. утро	День 7
SOFA	10			9			8			8	8
ОПП	RIFLE-F, олигурия			RIFLE-I			RIFLE-I			RIFLE-I	RIFLE-I
АД, ЧСС	120/60			100/70			120/80				
<i>Вазопрессорная под-ка</i>	<i>норадреналин 1,216 мкг/кг/мин</i>			<i>норадреналин 0,152 мкг/кг/мин</i>			<i>норадреналин 0,12 мкг/кг/мин</i>			<i>0,2 мкг/кг/мин</i>	<i>0,15 мкг/кг/мин</i>
<b>Состояние, сознание</b>	<b>кр.тяж, угнетено</b>			<b>тяжелое, в сознании</b>			<b>тяжелое, в сознании</b>			«-»	«-»
	Процедура 1			Процедура 2			Процедура 3			сл. утро	День 7
<i>Исслед. маркеры:</i>	до	после	% изм	до	после	% изм	до	после	% изм		
Нуклеосомы, нг/мл	331	116	<b>-65%</b>	321	55	<b>-83%</b>	620	83	<b>-87%</b>	319	312
СРБ, МЕ/мл	186	164	<b>-12%</b>	240	149	<b>-38%</b>	514	384	<b>-25%</b>	514	299
ИЛ-6, пг/мл	51	56	<b>+9%</b>	265	226	<b>-17%</b>	125	32	<b>-291%</b>	337	111
NGAL	5357			4628			6011			3184	1979
<i>Лейк. формула:</i>											
<b>Лейкоциты, 10<sup>9</sup>/л</b>	<b>19,3</b>	<b>30,5</b>	<b>+58%</b>	<b>20,3</b>	<b>21,1</b>	<b>+4%</b>	<b>16,8</b>	<b>14,8</b>	<b>-12%</b>	<b>8,9</b>	<b>13</b>
п/я нейтр, абс	0,95 	0,00	-100%	3,25 	0,00	-100%	1,85 	0,00	-100%	0,00	1,29
с/я нейтр, абс	17,18 	28,52	+66%	15,02 	19,86	+32%	12,77 	13,19	+3%	7,40	9,88
Лимфоциты, абс	0,76	0,73	-4%	1,00	0,36	-64%	1,00	0,77	-23%	0,80	1,03

# Динамика концентрации NETs в течении процедуры



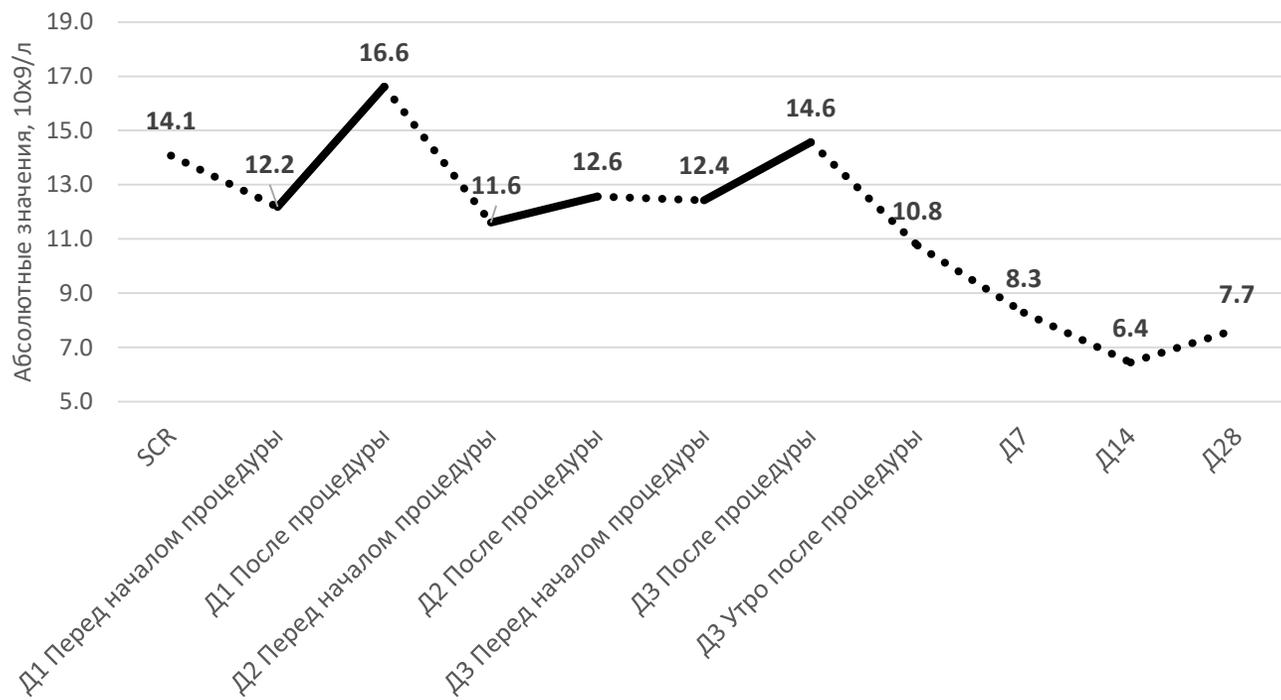
# Динамика концентрации NETs и СРБ в течении лечения



**Релапаротомия, этапная санация**

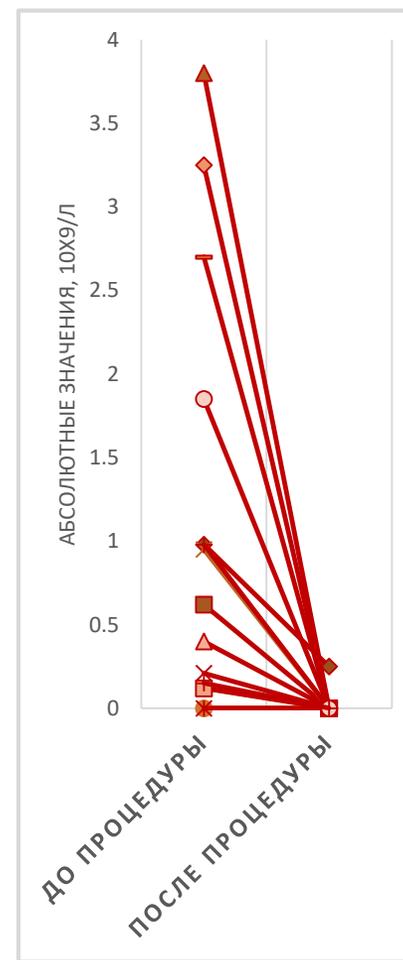
# «Молодые» нейтрофилы уступают место старшим?

Динамика лейкоцитов – 10 пациентов

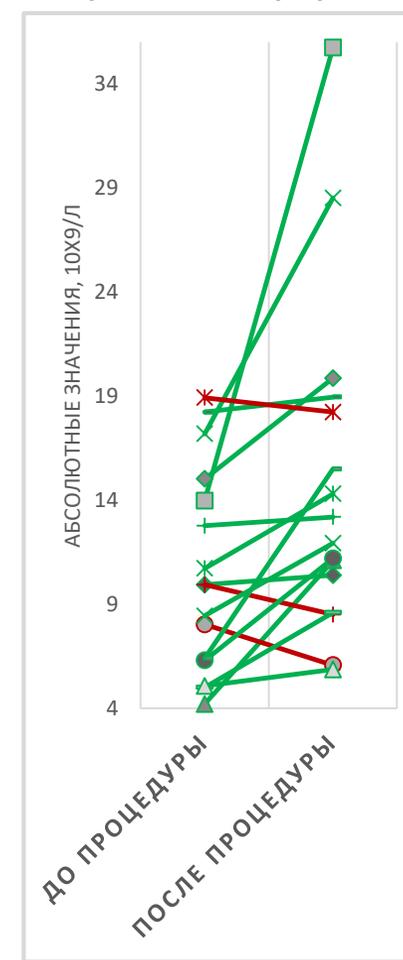


Данные по лейкоцитарной формуле до и после 16 процедур

Палочкоядерные «молодые» нейтрофилы

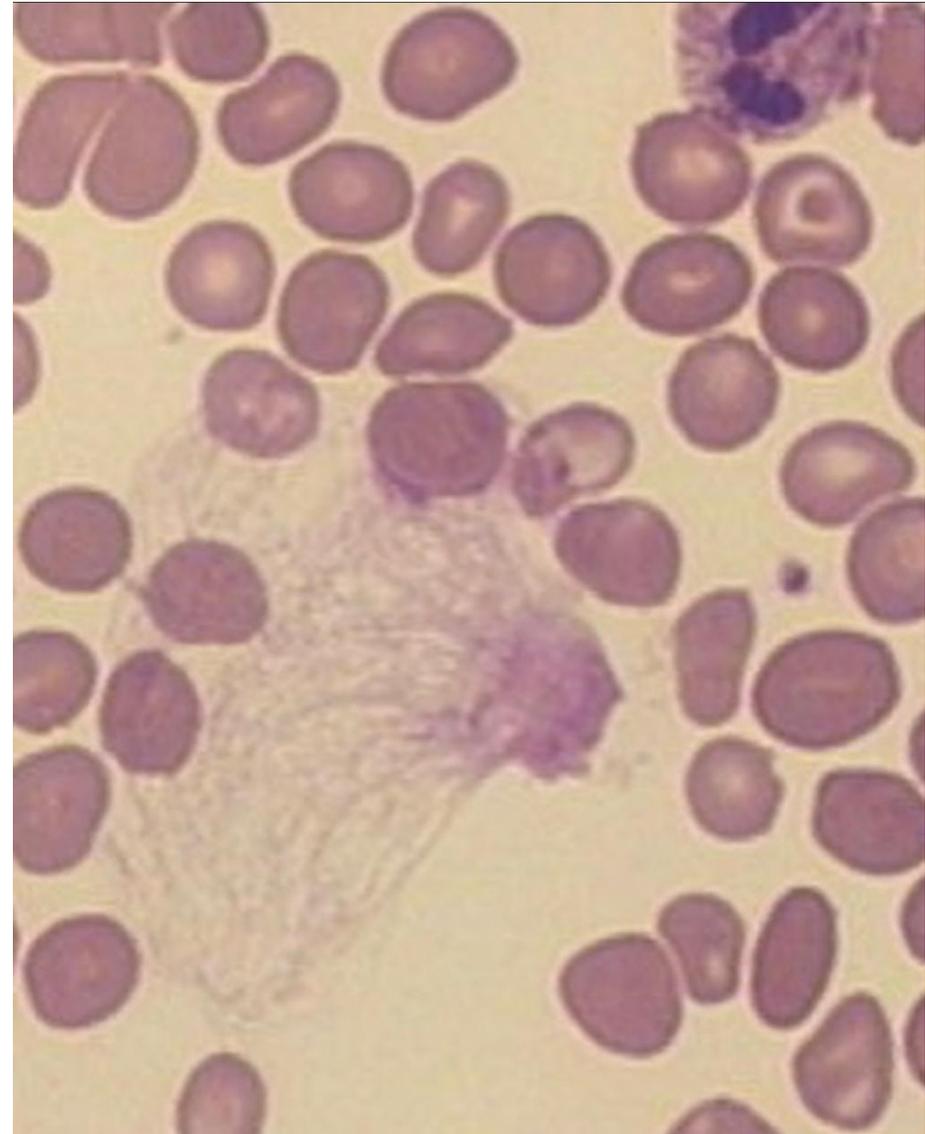
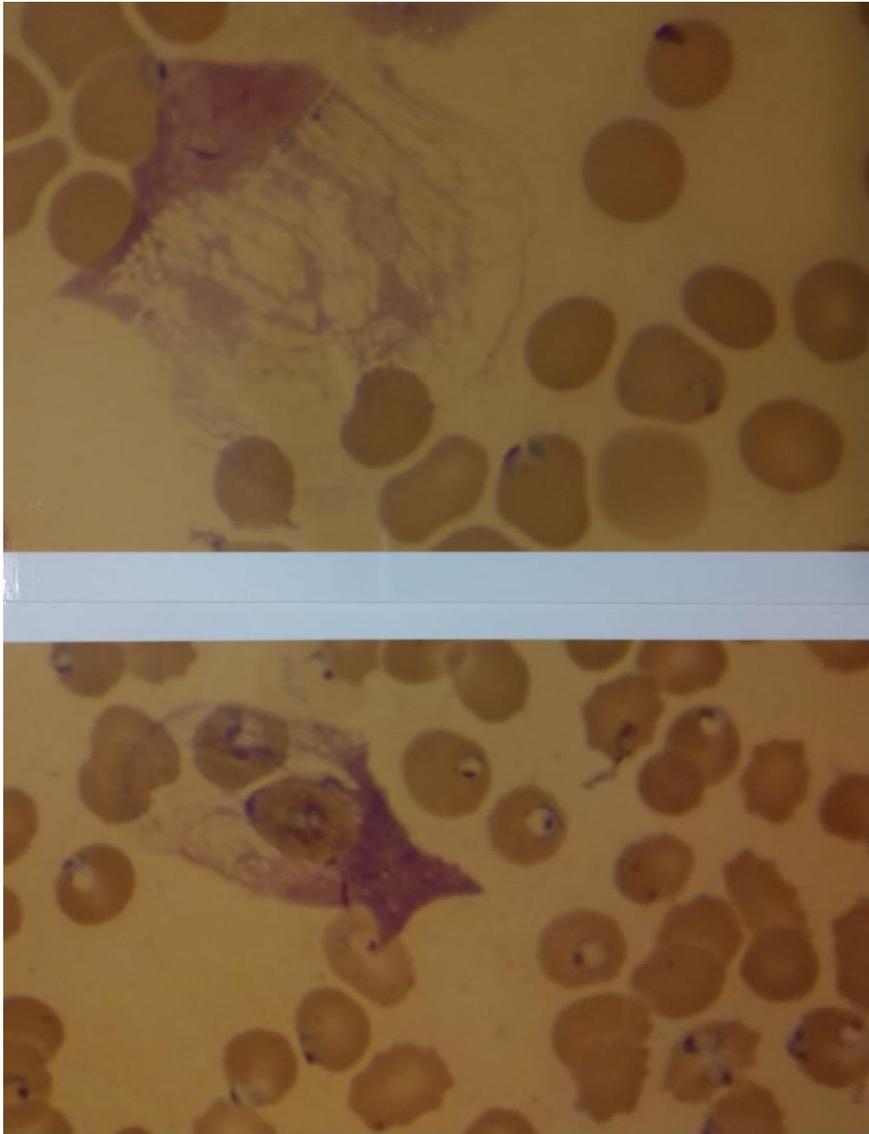


Сегментоядерные «зрелые» нейтрофилы



# Заключение

1. Нейтрофильные внеклеточные ловушки (NETs) представляются интересной и перспективной терапевтической мишенью, требующей дальнейшего изучения.
2. Специфический сорбент может быть использован в качестве научного инструмента для изучения патогенной роли NETs в широком спектре нозологий.
3. Первый опыт применения сорбции нейтрофильных ловушек у пациентов с сепсисом позволяет сделать следующие выводы:
  - a) Положительная динамика клинических и лабораторных параметров системного воспалительного ответа была отмечена после проведения курса лечения из 3 процедур селективной плазмосорбция вкДНК и NETs;
  - b) Стоит рассмотреть вопрос уменьшения объема обрабатываемой плазмы и увеличения кратности процедур в случае тяжелого течения заболевания;
  - c) Рост общего количества лейкоцитов в течении процедуры обусловлен увеличением абсолютного количества сегментоядерных («зрелых» форм) нейтрофилов, что вероятнее всего связано с неким сигнальным и/или регуляторным механизмом работы иммунной системы.



**Спасибо за внимание!**