

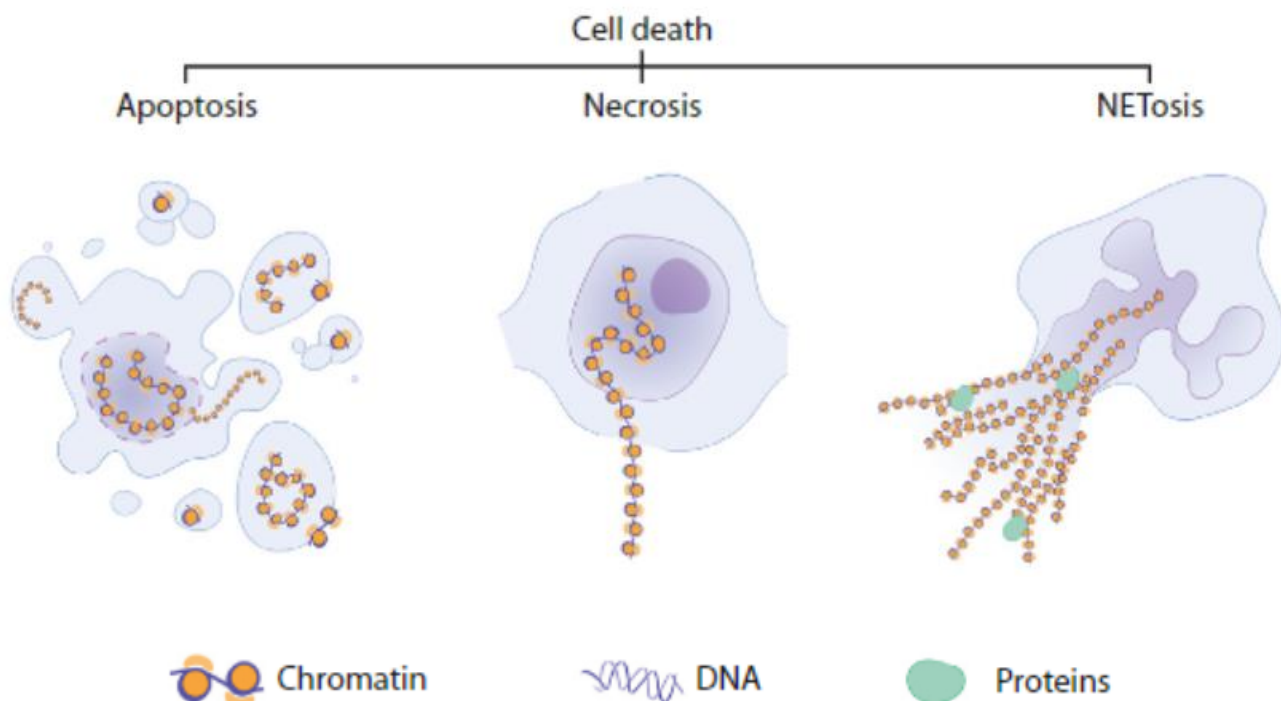
Первый опыт применения сорбции нейтрофильных ловушек (NETs) у пациентов с сепсисом

Абрамовский С.В.¹, Иванова Г.Г.¹, Афанасьева М.И.², Покровский Н.С.², Соколов А.А.².

¹ФГБУ СЗОНКЦ им. Л.Г. Соколова ФМБА России, ²ФГБУ НМИЦ кардиологии МЗ России

Нейтрофильные внеклеточные ловушки - NETs

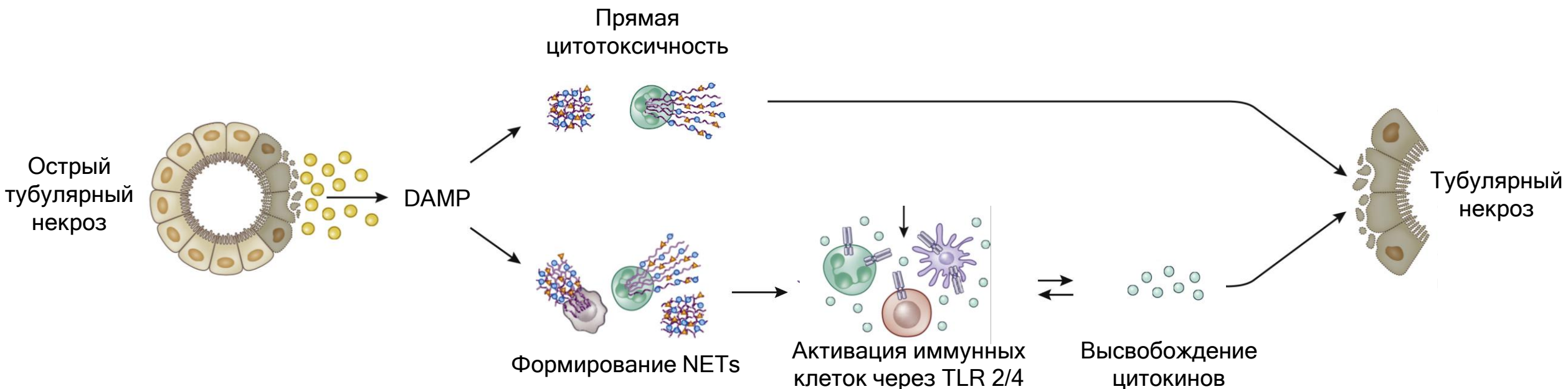
Нетоз [англ. NETosis] – вид программируемой клеточной гибели нейтрофилов в ответ на различные стимулы, сопровождающийся выбросом **нейтрофильных внеклеточных ловушек** [neutrophil extracellular traps, NETs], представляющие собой нити ДНК в комплексе с высокоцитотоксичными белками (гистоны и др.).



Основные компоненты NETs:

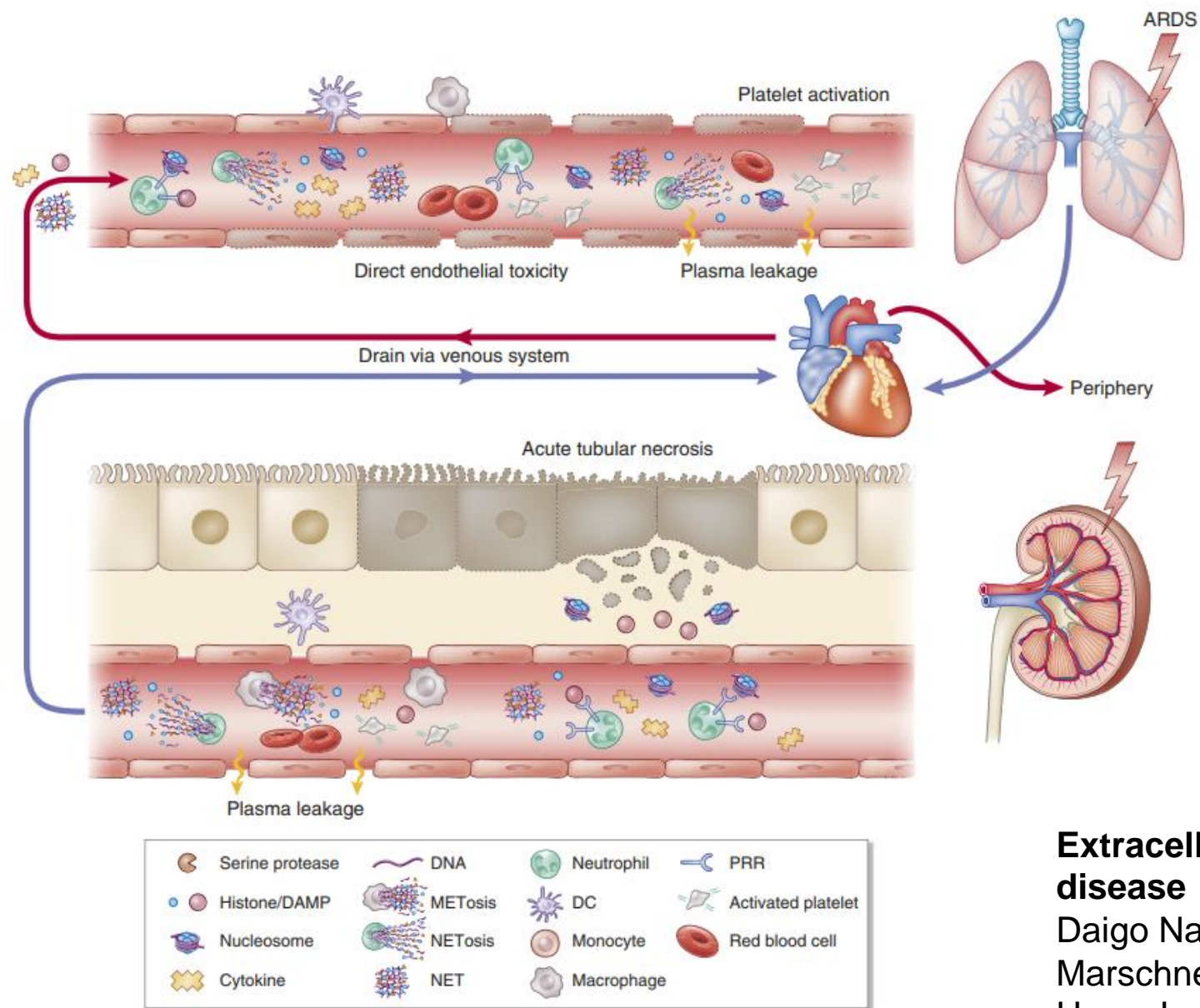
- Белки – гистоны (около 70%)
- Нити ДНК
- Ферменты

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.

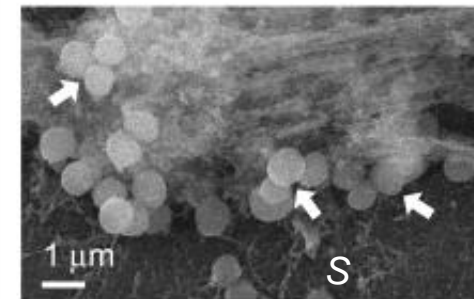
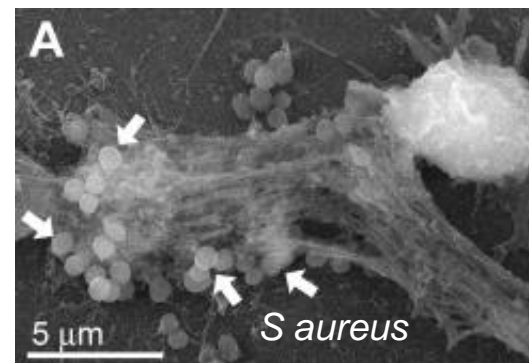
NETs и сепсис

Роль NETs



Физиологическая:

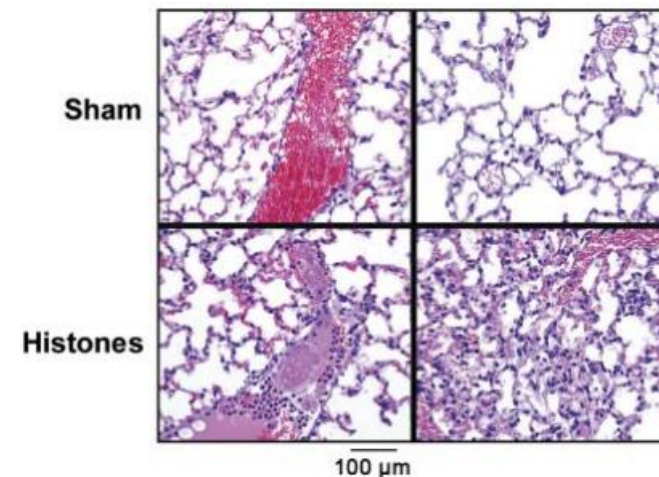
1. Захват и разрушение бактериальных клеток



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**

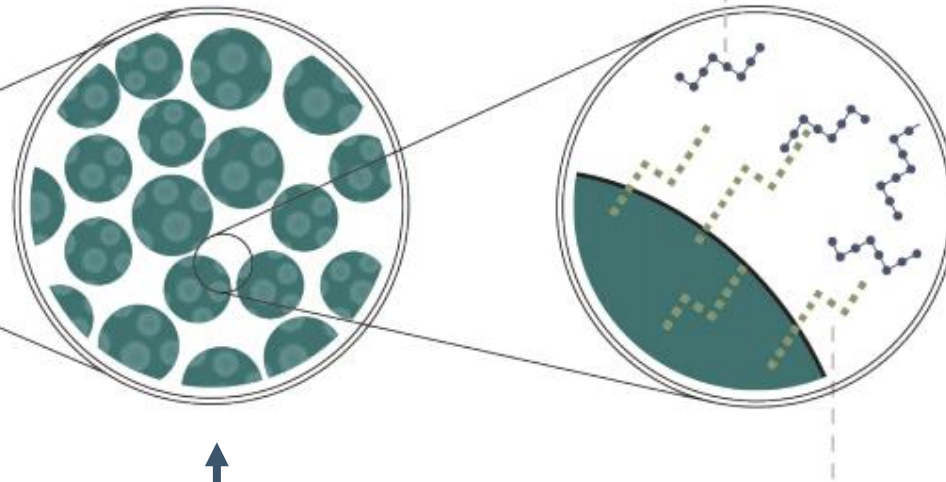


Denning N-L et al. Front. Immunol (2019); Lerman YV et al. Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets. (2015); Gupta K et al. FEBS Lett. (2010); Bosmann M et al. FASEB J. (2013); Kimball S et al. Front Immunol. (2016); Martinod K et al. Blood. (2014); Delabranche X et al. Shock. (2017); McDonald A et al.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



Таргетный компонент – вкДНК и NETs

*Высокоаффинное
взаимодействие
(необратимое)*

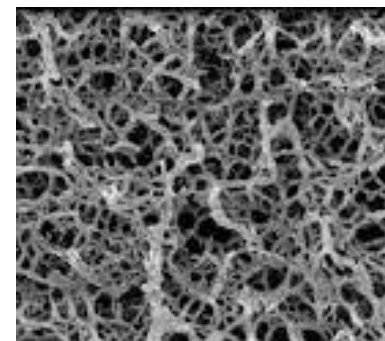
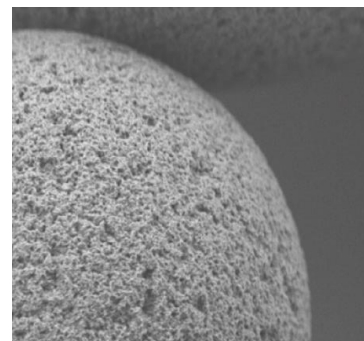
Иммобилизованный белковый лиганд,
специфический к ДНК-содержащим структурам

Производитель:


«НПФ ПОКАРД»
Россия

Агарозная матрица
высокопористая
биосовместимая
инертная

Св. объем: 70 мл



Размер гранул: **45-90 μm**

Размер пор: **1,2x10⁶ Da**

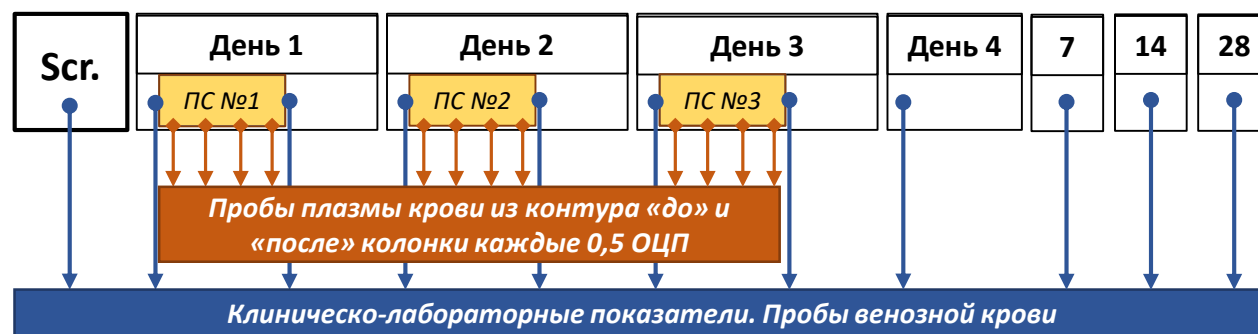
Клинические испытания сорбционной колонки для селективной сорбции вкДНК и NETs

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	56,90	15,80	34.00 – 75.00	57,50	42.50 – 72.00
мужч						
женщ						
Наличие ОПГ						
SOFA, балл					4,00	3,00 – 8.50
Лаборатор						
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
Данные процедуры:						
Прод-сть процедур (ч)		4,26	0,81	2.67 – 5.62	4,13	3.62 – 4.88
Объем обр-ной плазмы (л)	32	3,62	0,67	2,50 – 4,50	3,50	3,15 – 4,28
Скорость плазмотока (мл/мин)		50,75	11,29	30.00 – 74.00	50,00	40.00 – 58.25

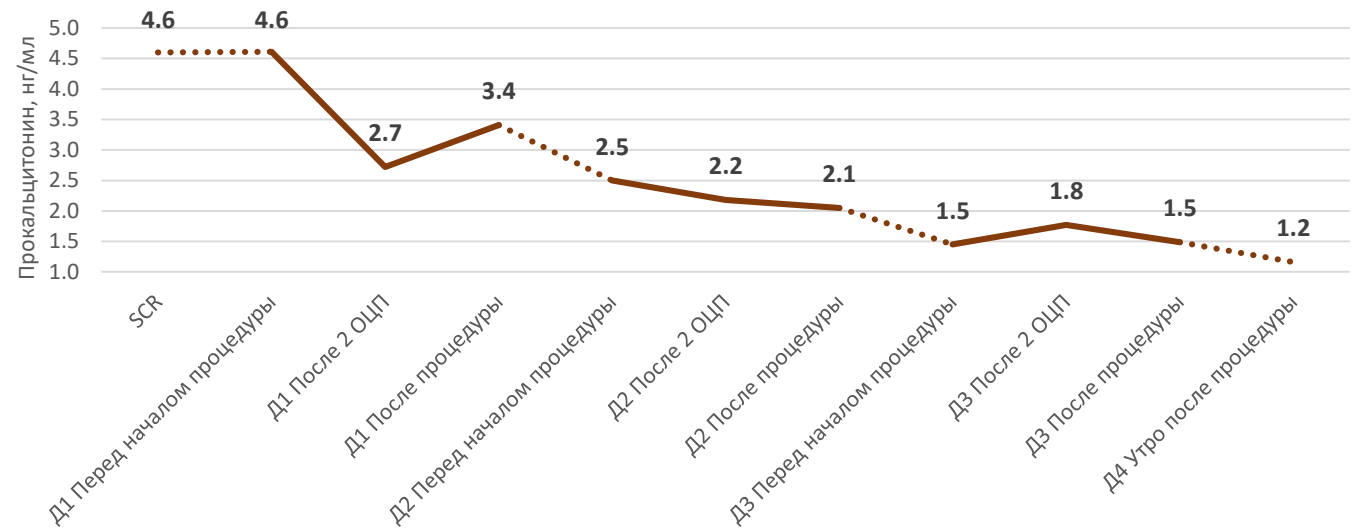
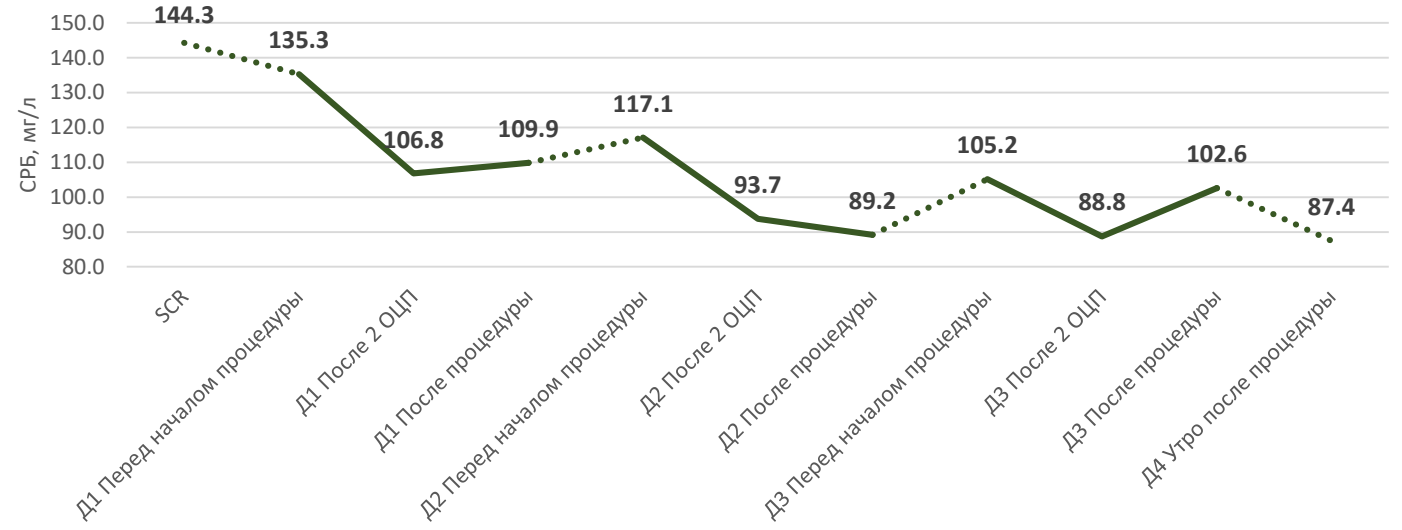
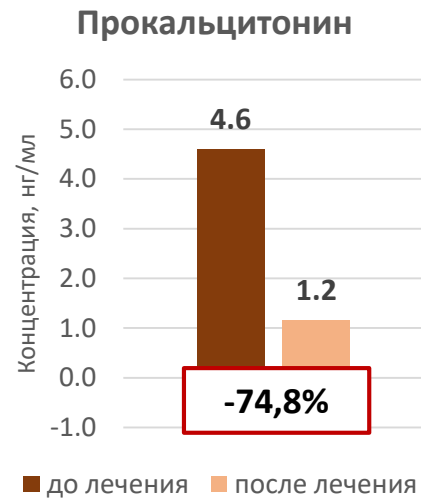
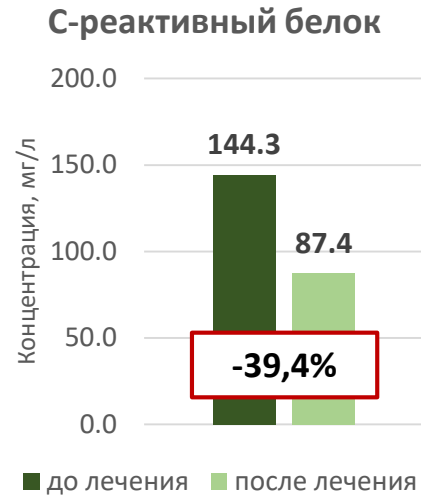
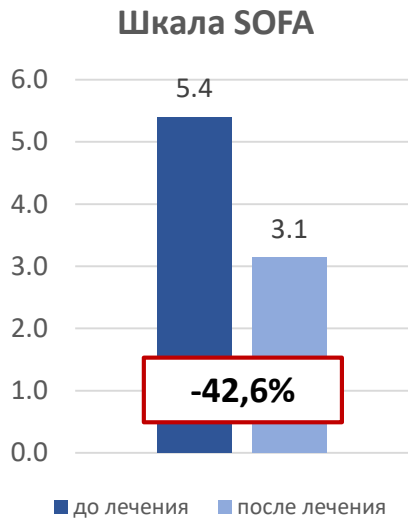
7-дневная выживаемость: **100%**

14-дневная выживаемость: **80%**

28-дневная выживаемость: **50%**

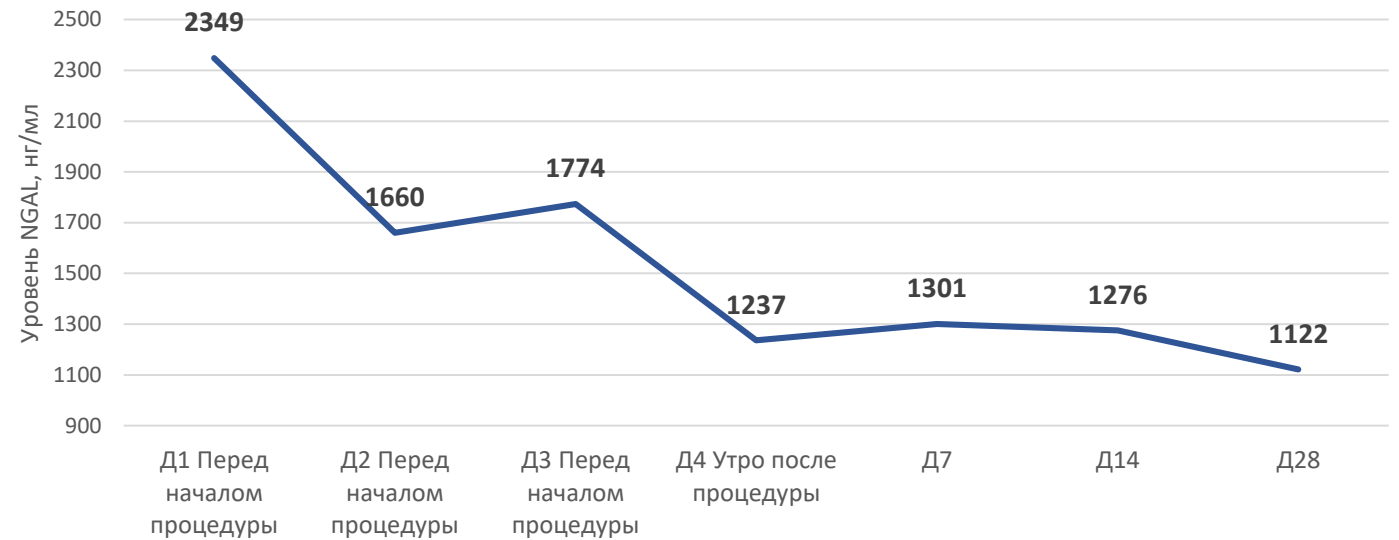
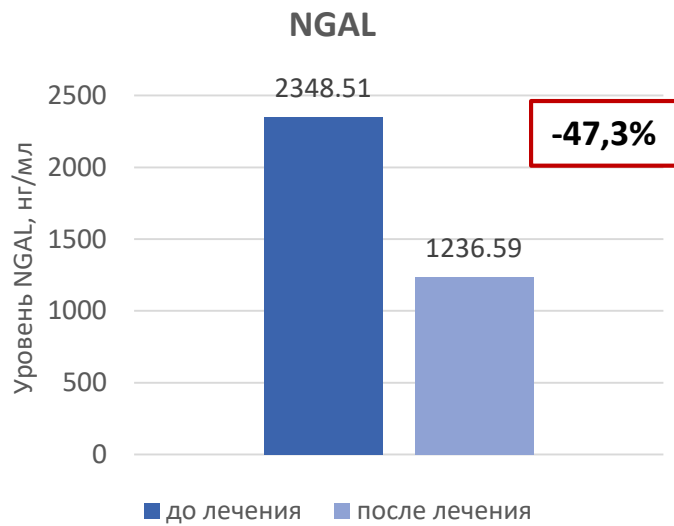
- COVID-19, КТ-3, пиопневмоторакс. Сепсис, бак. суперинфекция (полирезистентная)
- COVID-19, КТ-3. ТЕЛА. Сепсис
- Флегмона, перитонит. Септический шок
- ЗНО ободочной, перфорация, разлитой перитонит
- Холангиогенный сепсис
- ЗНО яичников, стеноз мочеточника
- ЗНО печени (ХК), механич желтуха
- Панкреонекроз,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

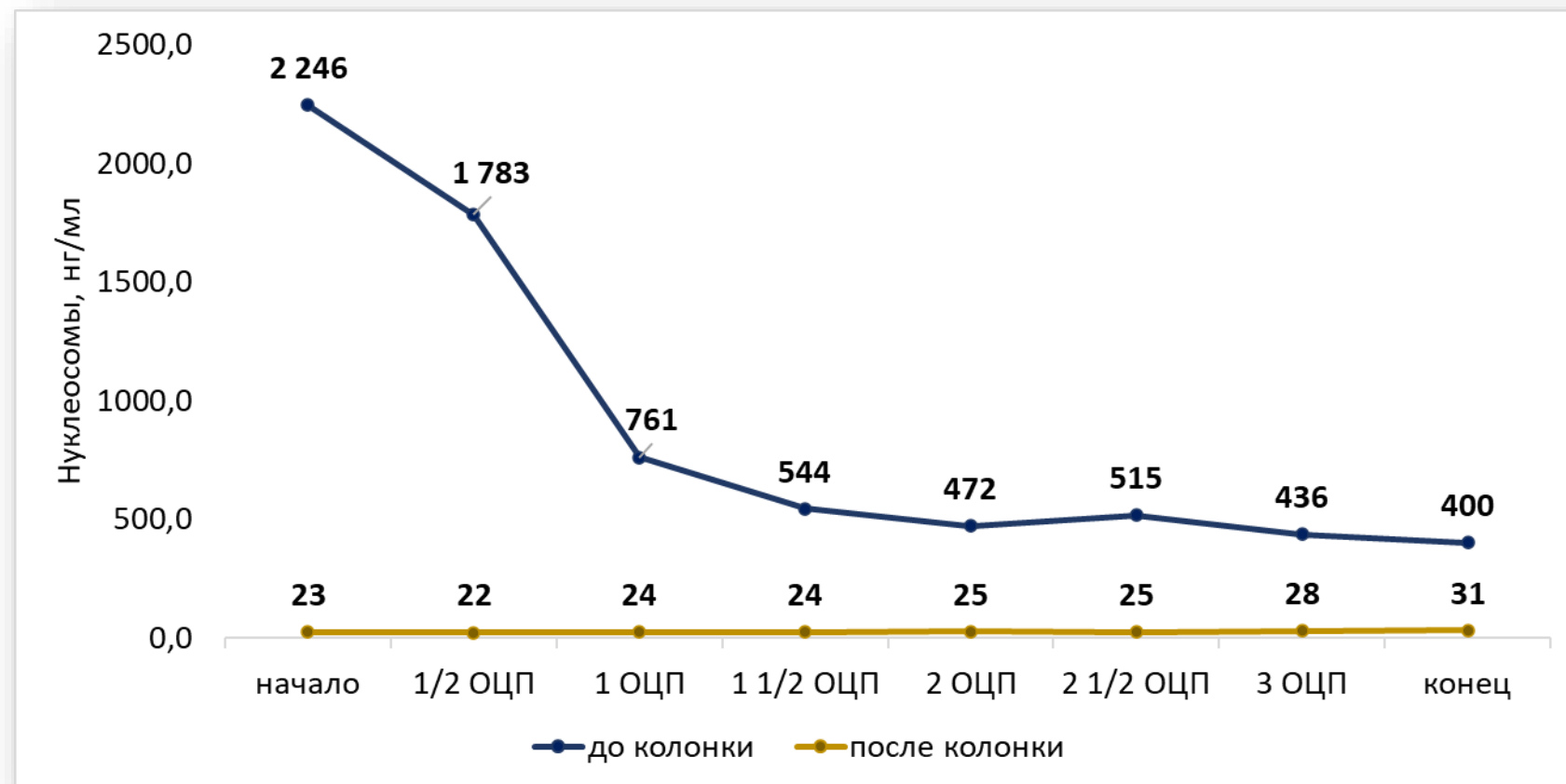
Н/я: снижение уровня гемоглобина после первой процедуры

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	-			-			-			-	-
Состояние, сознание:	тяжелое, седация			тяжелое, ясное			тяжелое, ясное			«-»	«-»
	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	1017,2	265,1	-74%	820,9	175,3	-79%	336,7	102,8	-69%	149,2	127,9
СРБ, МЕ/мл	950,9	562,9	-41%	630,3	362,6	-42%	196,2	122,0	-38%	163,3	184,6
ИЛ-6, пг/мл	250,9	126,4	-50%	40,1	38,7	-3%	68,2	60,2	-12%	41,7	79,5
NGAL	7032,8			3417,7			1820,5			1406,7	1417,0
	динамика до и после курса лечения										
<i>Лейк. формула:</i>											
Лейкоциты, 10⁹/л	11,1	12,5	+13%	9,8	10,2	+4%	8,0	12,7	+59%	11,2	3,6
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.

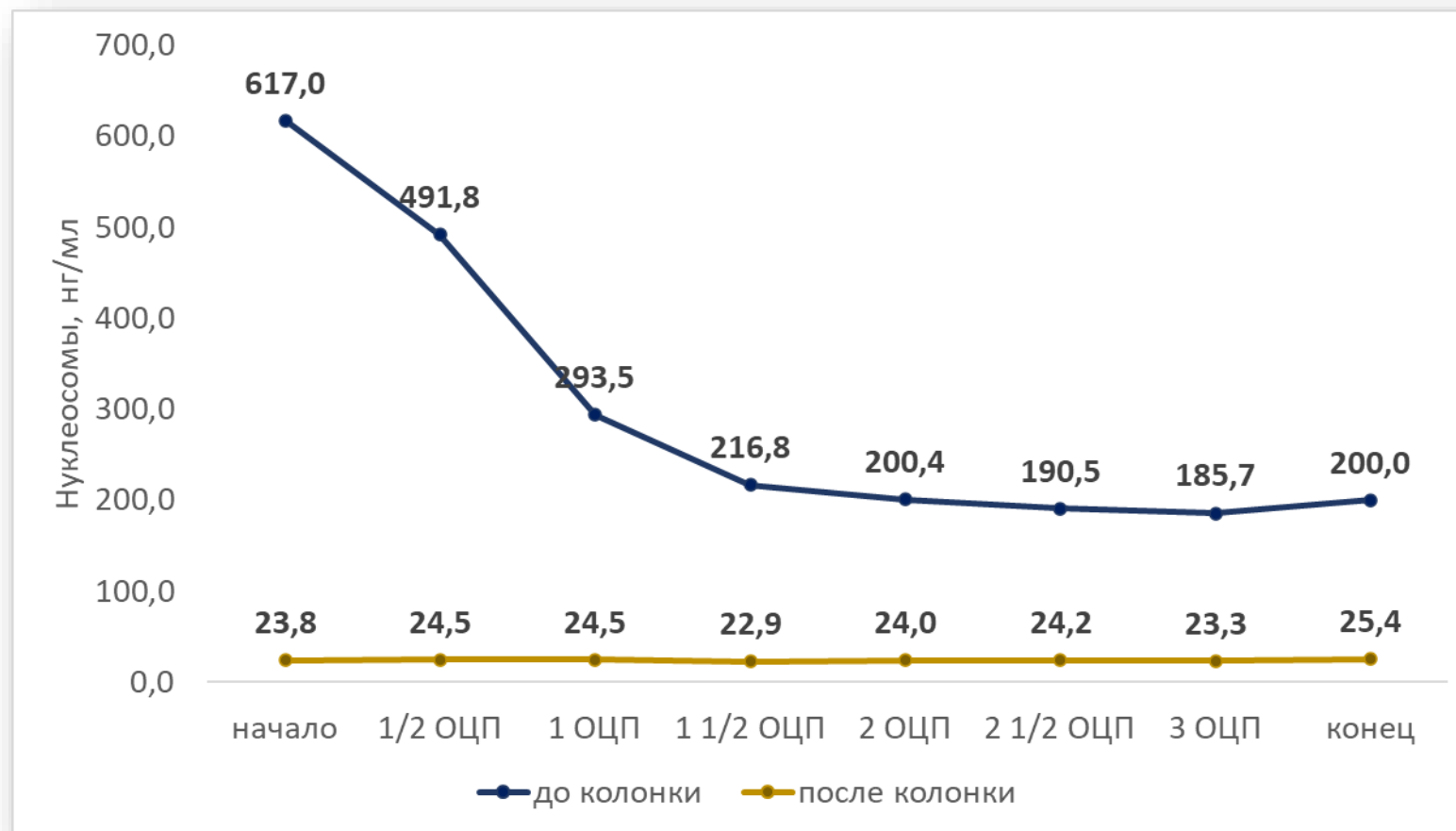
Особенности: регулярные транспортировки с целью ревизии, отмена а/к

ИСХОД: Положительная динамика, продолжение лечения в ОРИТ.

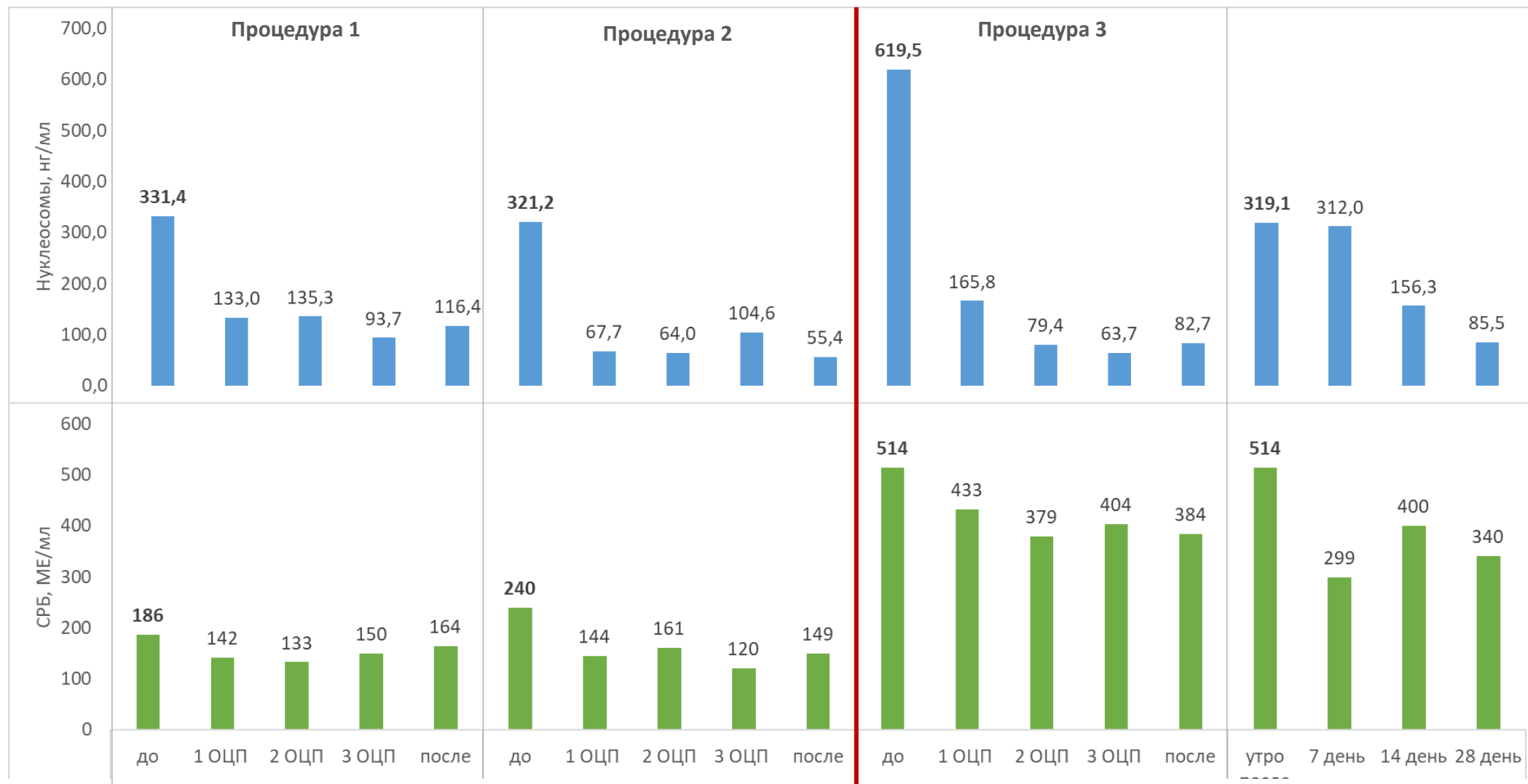
Динамика клинико-лабораторных параметров

	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				
Вазопрессорная под-ка	норадреналин 1,216 мкг/кг/мин			норадреналин 0,152 мкг/кг/мин			норадреналин 0,12 мкг/кг/мин			0,2 мкг/кг/мин	0,15 мкг/кг/мин
Состояние, сознание	кр.тяж, угнетено			тяжелое, в сознании			тяжелое, в сознании			«-»	«-»
	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	-65%	321	55	-83%	620	83	-87%	319	312
СРБ, МЕ/мл	186	164	-12%	240	149	-38%	514	384	-25%	514	299
ИЛ-6, пг/мл	51	56	+9%	265	226	-17%	125	32	-291%	337	111
NGAL	5357			4628			6011			3184	1979
<i>Лейк. формула:</i>											
Лейкоциты, 10⁹/л	19,3	30,5	+58%	20,3	21,1	+4%	16,8	14,8	-12%	8,9	13
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



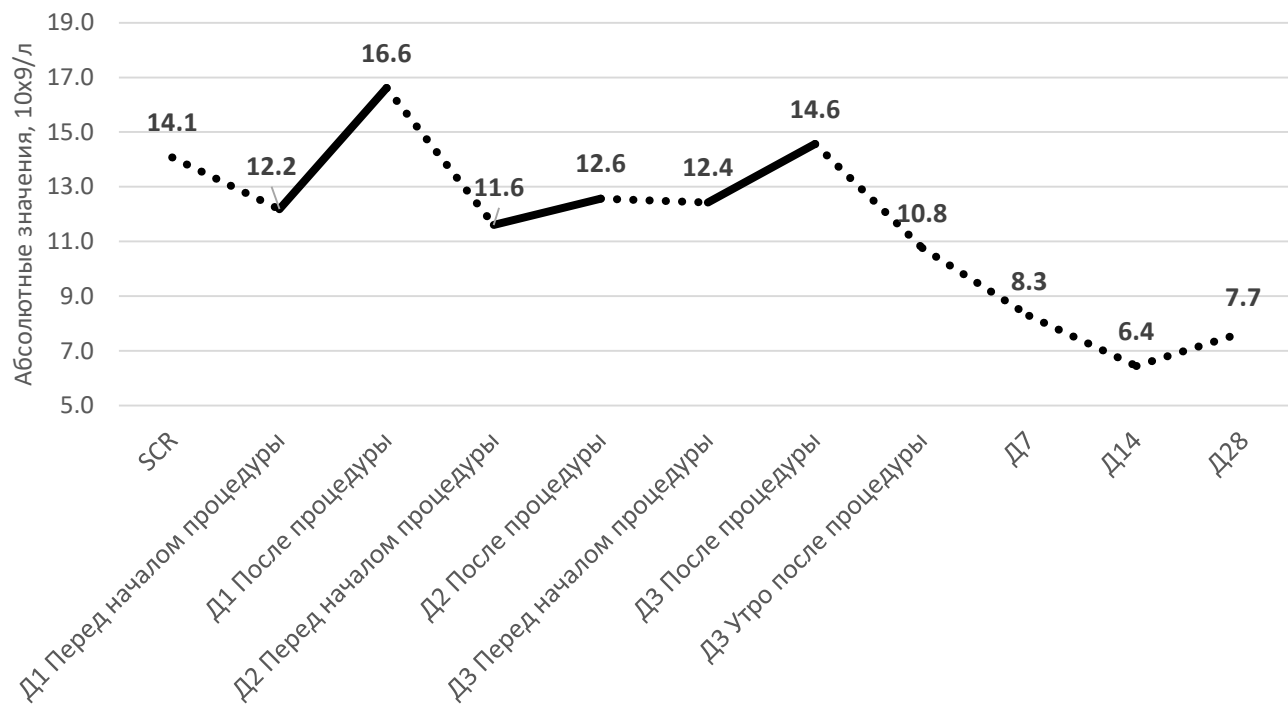
Динамика концентрации NETs и СРБ в течении лечения



Релапаротомия, этапная санация

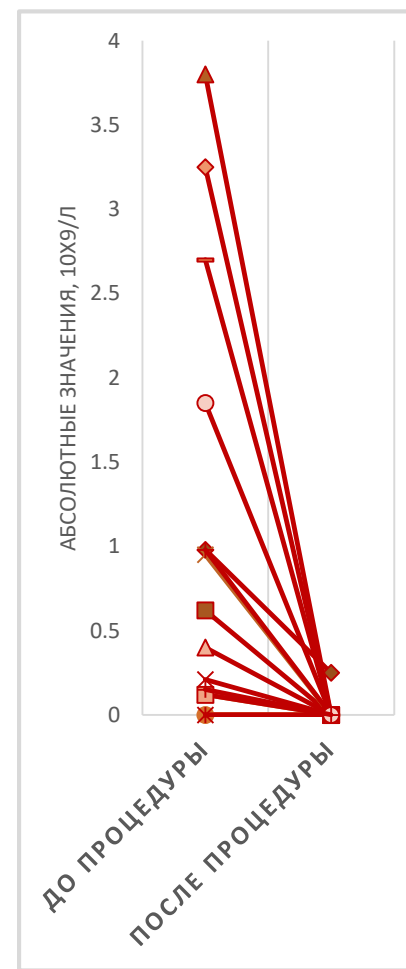
«Молодые» нейтрофилы уступают место старшим?

Динамика лейкоцитов – 10 пациентов

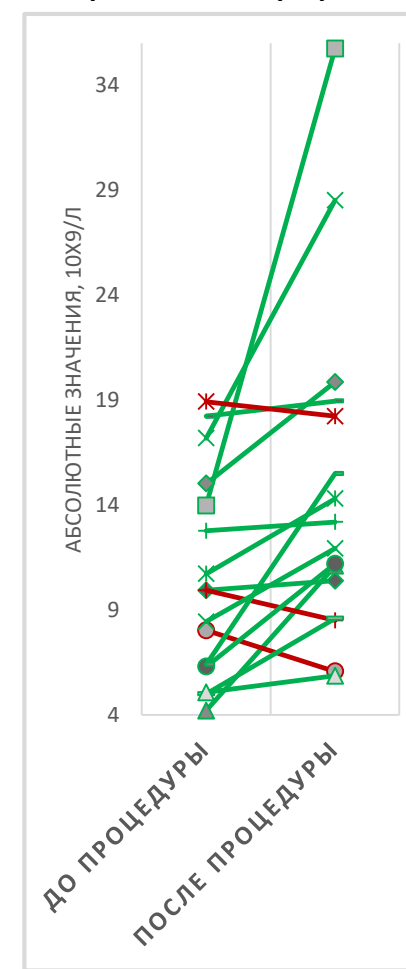


Данные по лейкоцитарной формуле до и после 16 процедур

Палочкоядерные «молодые» нейтрофилы

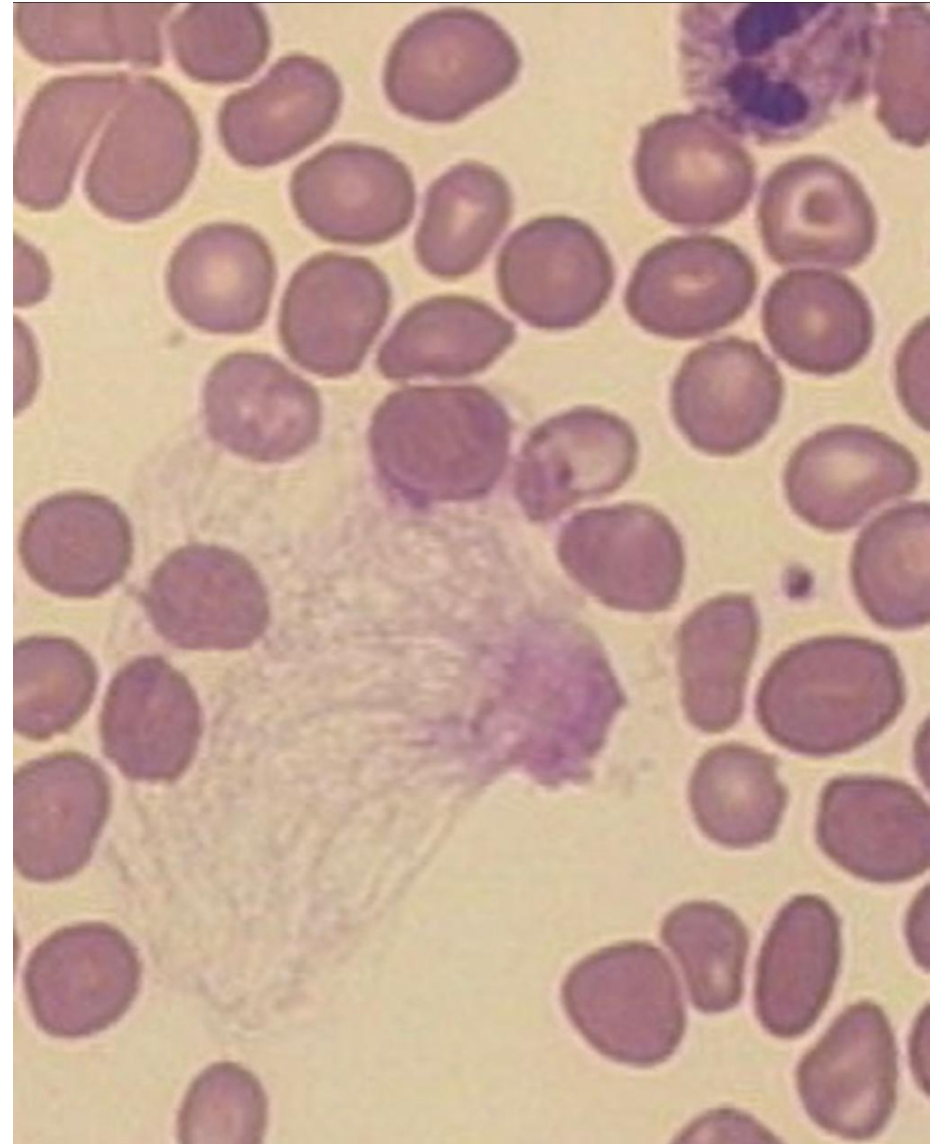
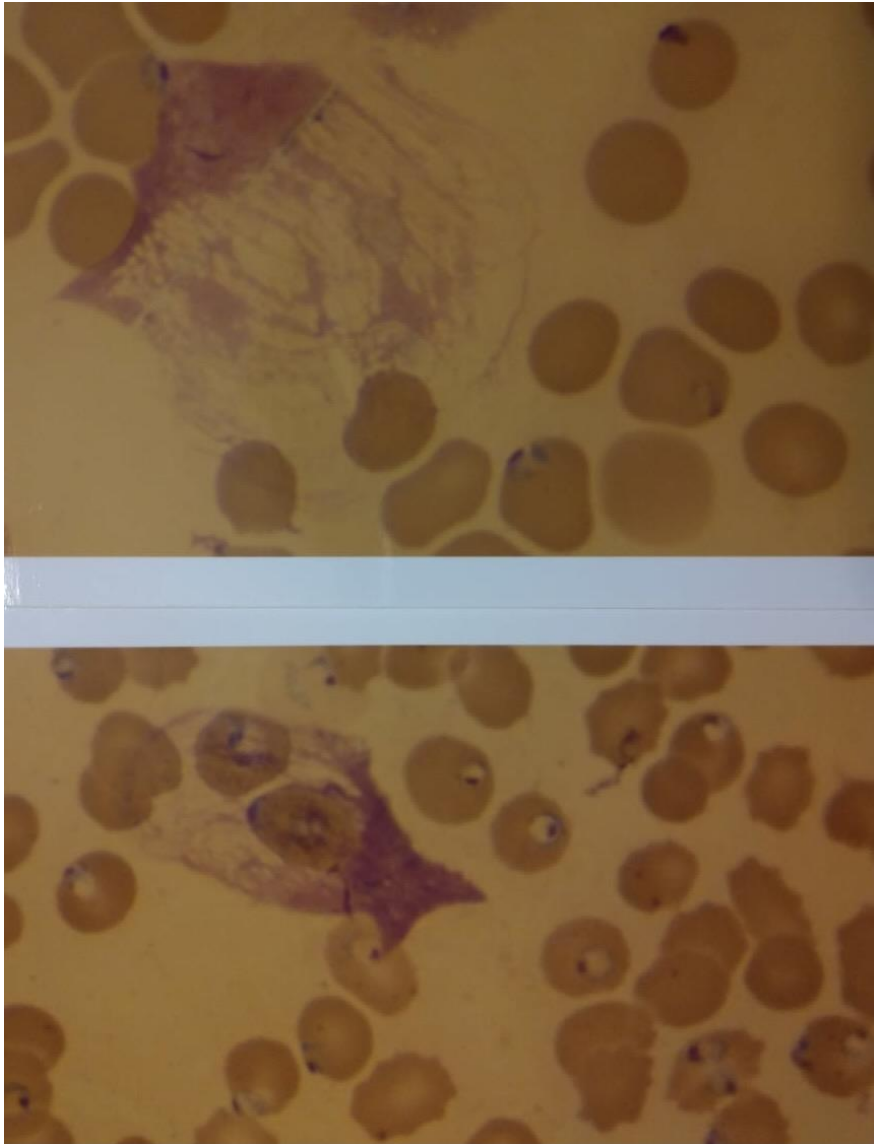


Сегментоядерные «зрелые» нейтрофилы



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 плазмасорбция 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!