

## ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОЙ ДЕТОКСИКАЦИИ НА УРОВЕНЬ АРОМАТИЧЕСКИХ МИКРОБНЫХ МЕТАБОЛИТОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ПРИ СЕПСИСЕ

С. Е. Хорошилов<sup>1,2</sup>, Н. В. Белобородова<sup>1</sup>, А. В. Никулин<sup>1,2</sup>, А. Ю. Бедова<sup>1</sup>

<sup>1</sup> НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского  
Россия, 107031, Москва, ул. Петровка, д. 25, стр. 2

<sup>2</sup> Главный военный клинический госпиталь им. акад. Н. Н. Бурденко МО РФ  
Россия, 105094, Москва, Госпитальная пл., д. 3

### Impact of Extracorporeal Detoxification on the Serum Levels of Microbial Aromatic Acid Metabolites in Sepsis

S. E. Khoroshilov<sup>1,2</sup>, N. V. Beloborodova<sup>1</sup>, A. V. Nikulin<sup>1,2</sup>, A. Yu. Bedova<sup>1</sup>

<sup>1</sup> V. A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology, Moscow, Russia  
25, Petrovka St., Build. 2, Moscow 107031

<sup>2</sup> Acad. N. N. Burdenko Main Military Clinical Hospital, Ministry of Defense of the Russian Federation  
3, Gospitalnaya Sq., Moscow 105094, Russia

Поиск низкомолекулярных биомаркеров для объективной оценки эффективности экстракорпоральных методов детоксикации крайне актуален. В работе предложено с этой целью проверить возможность использования метаболитов, продукция которых из ароматических аминокислот в организме человека может иметь микробное происхождение.

**Цель исследования:** оценить влияние экстракорпоральных методов детоксикации на уровень ряда фенилкарбоновых кислот в сыворотке крови больных с почечной недостаточностью, ассоциированной с сепсисом.

**Материалы и методы.** Проспективно проведено обследование и лечение 10 больных с острой или хронической (терминальная стадия) почечной недостаточностью, развившейся на фоне тяжелого сепсиса, инфекционно-токсического шока, длительного искусственного кровообращения, постреанимационной болезни и др. Всем больным проводили экстракорпоральную детоксикацию, выбор метода определяли, исходя из анамнеза и характера интоксикации. Оценивали органную дисфункцию по шкале SOFA, температуру тела, лейкоцитоз, лейкоцитарный индекс интоксикации, результаты теста на прокальцитонин. Гемодиализ проводился по «внепочечным» показаниям, для устранения системного воспалительного ответа, при септическом шоке — с использованием сверхвысокопроницаемого диализатора ЕМiС<sub>2</sub>. Для гемодиализа применяли низкопоточные диализаторы Diacor LO PS. Непосредственно до и сразу после операции экстракорпоральной детоксикации забирались образцы крови для оценки в динамике методом ГХ-ПИД сывороточных концентраций фенилкарбоновых кислот БК (бензойной кислоты), ФПК (3-фенилпропионовой кислоты), ФМК (фенилмолочной кислоты), п-ГФУК (пара-гидроксифенилуксусной кислоты), п-ГФМК (пара-гидроксифенилмолочной кислоты).

**Результаты.** Тяжесть органной дисфункции по шкале SOFA составила 10–22 (в среднем 16) баллов, к 14 дню летальность 40%. У всех больных исходные уровни некоторых фенилкарбоновых кислот в сыворотке крови были значительно выше нормы. В результате гемодиализации сывороточные концентрации п-ГФУК и п-ГФМК снижались в 1,5–2 раза (в среднем, в 1,7 и 1,85 раз), соответственно.

**Заключение.** При почечной недостаточности, ассоциированной с сепсисом, клиренс ароматических микробных метаболитов (п-ГФУК и п-ГФМК) перспективен в качестве биомаркеров для оценки эффективности методов экстракорпоральной детоксикации.

**Ключевые слова:** почечная недостаточность, сепсис, экстракорпоральная детоксикация, ароматические микробные метаболиты, фенилкарбоновые кислоты, гемодиализация, биомаркеры

#### Адрес для корреспонденции:

Наталья Белобородова  
E-mail: nvbeloborodova@yandex.ru

#### Correspondence to:

Natalya Beloborodova  
E-mail: nvbeloborodova@yandex.ru

A search for low-molecular-weight biomarkers to objectively evaluate the efficiency of extracorporeal detoxification methods is extremely relevant. For this purpose, the investigation is to verify whether metabolites, the production of which from aromatic amino acids in the human body can be of microbial origin, may be used.

**Objective:** to evaluate the efficiency of extracorporeal detoxification methods on the serum level of phenylcarboxylic acids in patients with sepsis-associated renal failure.

**Subjects and methods.** Ten patients with acute or chronic (end-stage) renal failure that had developed in the presence of severe sepsis, infective and toxic shock, long-term extracorporeal circulation, postresuscitation disease, etc. were prospectively examined and treated. All the patients underwent extracorporeal detoxification; the choice of its technique was determined from their past medical history and intoxication patterns. The investigators evaluated organ dysfunctions using the Sequential Organ Failure Assessment (SOFA) scale, estimated body temperature, leukocyte count, and leukocyte index of intoxication, and assessed the results of a procalcitonin test. Hemodiafiltration was done as extrarenally indicated to ameliorate a systemic inflammatory response in septic shock, by applying an EMiC<sub>2</sub> superhigh-permeability dialyzer. Low-flux Diacap LO PS dialyzers were employed for hemodialysis. Blood samples were taken to estimate changes in the serum concentrations of phenylcarboxylic acid, benzoic acid, 3-phenylpropionic acid, phenyllactic acid, para-hydroxyphenylacetic acid (p-HPAA), and para-hydroxyphenyllactic acid (p-HPLA) directly before and immediately after extracorporeal detoxification.

**Results.** The severity of organ dysfunctions by SOFA score was 10–22 (mean 16 scores); 10-day mortality rates were 40%. In all the patients, the baseline serum levels of some phenylcarboxylic acids were considerably above normal. After hemodiafiltration, the serum concentrations of p-HPAA and p-HPLA decreased (by an average of 1.7- and 1.85-fold, respectively).

**Conclusion.** In sepsis-associated renal failure, the clearance rate of microbial aromatic acid metabolites (p-HPAA and p-HPLA) is promising potential biomarker to evaluate the efficiency of extracorporeal detoxification methods.

**Key words:** renal failure, sepsis, extracorporeal detoxification, microbial aromatic acid metabolites, phenylcarboxylic acids, hemodiafiltration, biomarkers

DOI:10.15360/1813-9779-2015-5-6-14

## Введение

Сепсис как клиническая форма системного воспалительного ответа инфекционного генеза характеризуется неуклонным ростом частоты и стабильно высокой летальностью в отделениях реаниматологии и интенсивной терапии во всем мире.

Актуальным направлением реаниматологии является поиск биомаркеров, участвующих в механизмах развития критических состояний [1–4]. На сегодняшний день концепция медиаторного каскада является не идеальной, но удовлетворительно описывающей патогенез сепсиса теорией. Основным компонентом медиаторной «бури», лежащей в основе системного воспалительного ответа, является целый ряд биологически активных веществ — регуляторные и эффекторные цитокины, производные арахидоновой кислоты, продукты свободно-радикального перекисного окисления липидов, оксид азота и т.д. Главной мишенью воспалительных медиаторов является эндотелиальный слой микрососудов, присутствующий во всех органах. Эндотелиоциты отличает колоссальная площадь, большая масса, сравнимая с массой печени, высокая метаболическая активность. Генерализованное повреждение эндотелия приводит к гемодинамическим нарушениям и развитию полиорганной недостаточности. Септический шок является наиболее грозным проявлением систем-

## Introduction

Searching of candidate biomarkers contributing to mechanisms of critical illness represents a contemporary challenge in reanimatology [1–4]. Sepsis as a clinical form of the systemic inflammatory response to infectious agent is characterized by a steady increase in occurrence and consistently high mortality in patients at emergency departments worldwide.

Today, the mediator cascade concept is not a perfect theory, but it satisfactorily describes the sepsis pathogenesis. Biologically active substances, such as regulatory and effector cytokines, arachidonic acid derivatives, free radical lipid peroxidation products, nitric oxide etc. are main components of the mediator 'storm' underlying systemic inflammatory response. Microvascular endothelial layer presented in all organs is considered as a main target of inflammatory mediators. Endothelial cells occupy a large surface in the body and possess high metabolic activity. Generalized endothelial damage leads to hemodynamic disturbances and multiple organ failures. Septic shock is the most terrible manifestation of the systemic inflammatory response and is responsible for the extremely high mortality in sepsis.

The current level of extracorporeal technology development allows the elimination substances from the blood in a wide range of molecular weight including pathogenically significant inflammation media-

ного воспалительного ответа и определяет крайне высокую летальность при сепсисе.

Современный уровень развития экстракорпоральных технологий позволяет удалять из крови вещества в широком диапазоне молекулярной массы, в расчете на элиминацию патогенетически значимых медиаторов воспаления [5]. Клинические исследования показали, что, в отличие от гемодиализа, гемодиофильтрация (ГДФ) является успешным методом лечения острой почечной недостаточности у критически тяжелых больных с сепсисом, без отрицательного воздействия на гемодинамику [6].

Клиническая результативность эфферентных методов определяется механизмами молекулярной сорбции, диффузии и конвекции низко- и среднемолекулярных веществ через полупроницаемые мембраны массообменного устройства — диализатора или гемофильтра, а также параметрами управляющих сред — замещающего и диализирующего растворов. Для каждого метода эфферентного лечения используются технологические решения, различающиеся геометрией массообменных устройств, физическим принципом удаления веществ, материалом сорбентов, свойствами мембран и пр. Синтетические биосовместимые мембраны, применяемые при гемофильтрации, не только высокопроницаемы для цитокинов, но и обладают способностью сорбировать значительное количество биологически активных веществ [7]. В то же время, липополисахарид грамотрицательных бактерий, один из пусковых факторов системного воспалительного ответа, не удаляется через мембрану гемофильтра, поэтому при клинически значимой эндотоксинемии целесообразно проведение селективной гемосорбции [8].

В последнее время внимание как отечественных, так и зарубежных исследователей привлечено к метаболитам ароматического строения, в частности — фенилкарбоновым кислотам (ФКК). Эти низкомолекулярные соединения могут продуцироваться живыми микроорганизмами — представителями микробиоты человека, и бактериями, участвующими в развитии сепсиса, что доказано в экспериментальных и клинических исследованиях [9–11, 13]. На основании многократного повышения некоторых ФКК у больных с сепсисом предложено рассматривать их в качестве молекулярных биомаркеров септического процесса [12, 13], хотя роль ФКК в генезе системного воспалительного ответа на сегодняшний день не доказана.

Актуальность проблемы поиска объективных биомаркеров для оценки эффективности экстракорпоральных методов детоксикации сегодня чрезвычайно высока [14]. ФКК рассматриваются нами в качестве перспективных молекул для разработки методов лабораторного мониторинга на их основе [15, 16]. В то же время, вопросы кинетики ароматических микробных метаболитов во

торов [5]. Clinical studies have shown that contrary to hemodialysis the hemodiafiltration (HDF) is a successful method for treatment of acute renal failure in patients with severe sepsis without negative impact on hemodynamics [6].

Clinical effectiveness of efferent methods is determined by the mechanisms of molecular sorption, diffusion and convection of low and medium weight substances through semipermeable membranes of a mass transfer device (dialyzer or hemofilter) and parameters of controlled environments (substitution and dialytic fluids). Technological solutions with different geometry of mass transfer devices, physical principles for eliminating substances, sorbent materials, membrane properties etc. are deployed for each method of the efferent treatment. The synthetic biocompatible membranes used for hemofiltration are not highly-permeable only for cytokines, but also might absorb significant amount of biologically active substances [7]. At the same time, lipopolysaccharides of Gram-negative bacteria, the triggers of systemic inflammatory response, are not eliminated through the hemofilter membrane. Thus, in clinically significant endotoxemia it is reasonable to perform selective hemosorption [8].

Recently, the attention of researchers worldwide has attracted to the aromatic structure metabolites, in particular, phenylcarboxylic acids (PCAs). These low molecular weight compounds are produced by living organisms, representatives of the human microbiota and bacteria causing sepsis that have been proved in the experimental and clinical studies [9, 10, 11, 13]. Due to multiple increase of some PCAs in patients with sepsis, they have been suggested as molecular biomarkers of sepsis [12, 13], although the exact role of PCAs in the genesis of the systemic inflammatory response has not been clarified to date.

Identification of objective biomarkers that aid to evaluate the effectiveness of extracorporeal detoxification represents an urgent challenge [14]. We consider PCAs as candidate molecules for the development of laboratory monitoring methods [15, 16]. At the same time, the issues on kinetics of the aromatic microbial metabolites during extracorporeal detoxification remain understudied.

The objective of the study was to assess the impact of extracorporeal detoxification on the level of circulating PCAs in the blood in patients with renal failure associated with sepsis.

## Materials and Methods

10 patients with systemic inflammatory response of infectious (sepsis, severe sepsis and infectious-toxic shock) or non-infectious (postresuscitation disease and prolonged extracorporeal circulation) origin were examined and treated. During

**Исходное состояние больных и применяемые методы детоксикации.****The initial state of the patients and the detoxification methods.**

Patients, age	Diagnosis	SOFA, score	Systemic inflammatory response criteria			PCT, ng/ml	Detoxification method	Outcome on the 14 <sup>th</sup> day after detoxification*
			T, °C	L, ×10 <sup>9</sup> /l	LI			
Ks., 56	Zenker's diverticulum. Postoperative purulent mediastinitis. Septic shock. AKI	22	39.3	30.7	15.7	63.61	HDF <sup>1</sup> EMiC <sub>2</sub>	F
G., 46	Acute appendicitis. Peritonitis. ARDS	16	37.8	6.3	1.9	3.81	HDF EMiC <sub>2</sub>	S
Z., 62	Peritoneal dialysis associated Peritonitis (Pseudomonas aeruginosa). ESRD.	13	37.0	7.2	4.9	0.7	HD <sup>2</sup> LO PS + NSH <sup>3</sup>	F
S., 75	Aortic prosthesis with CABG. Rhabdomyolysis-associated AKI.	10	37.3	14.3	10.1	5.82	HDF EMiC <sub>2</sub>	S
Sp., 52	Mitral and tricuspid valve implantation with CABG. Ischemic rhabdomyolysis. Myoglobin-associated AKI	11	38.6	23.1	8.1	22.69	HDF EMiC <sub>2</sub> + DEX <sup>4</sup>	S
K., 87	Calculous cholecystitis, gall bladder perforation, biliary peritonitis. AKI	14	37.5	7.5	3.8	1.2	HDF EMiC <sub>2</sub>	S
V., 77	ESRD. Ventilator-associated pneumonia.	18	36.5	21.2	9	6.4	HD LO PS	F
M., 65	Mitral valve implantation with CABG. Ischemic rhabdomyolysis. Nonoliguric AKI	16	37.2	14.3	4.6	—	HDF EMiC <sub>2</sub>	S
P., 75	Iliac-femoral bypass graft. Bypass thrombosis and infection. Severe sepsis.	21	38.7	30.8	19	2.49	HDF EMiC <sub>2</sub>	F
R., 43	Severe multiple trauma. Multiple organ failure. Septic shock.	19	40.1	24.9	11.5	293	HDF EMiC <sub>2</sub>	S

**Note (примечание):** Patients, age — больные, возраст. Diagnosis — диагноз. AKI — Acute Kidney Injury; ARDS — Acute Respiratory Distress Syndrome; ESRD — End stage renal disease; CABG — coronary artery bypass grafting. Ks., 56: Дивертикул Ценкера. Гнойный медиастинит. Септический шок. Острая почечная недостаточность; G., 46: Аппендицит. Перитонит. Острый респираторный дистресс-синдром; Z., 62: Диализный перитонит синегнойной этиологии. Терминальная стадия хронической почечной недостаточности; S., 75: Протезирование аорты, аортокоронарное шунтирование. Рабдомиолиз. Острая почечная недостаточность; Sp., 52: Протезирование атриовентрикулярных клапанов, аортокоронарное шунтирование. Рабдомиолиз. Острая почечная недостаточность; K., 87: Калькулезный холецистит, перфорация желчного пузыря, желчный перитонит. Острая почечная недостаточность; V., 77: Терминальная стадия хронической почечной недостаточности. Вентилятор-ассоциированная пневмония; M., 65: Протезирование митрального клапана, аортокоронарное шунтирование. Ишемический рабдомиолиз. Неолг. острая почечная недостаточность; P., 75: Тромбоз и нагноение подвздошно-бедренного шунта. Ангиогенный сепсис; R., 43: Тяжелая сочетанная травма. Полиорганная недостаточность. Септический шок. SOFA, score — шкала тяжести полиорганной недостаточности, баллы. Systemic inflammatory response criteria — критерии системного воспалительного ответа; LI (Leukocyte Intoxication Index) — лейкоцитарный индекс интоксикации. PCT, ng/ml — прокальцитонин, нг/мл. Detoxification method — режим детоксикации: HDF (hemodiafiltration) — гемодиофильтрация; HD (hemodialysis) — гемодиализ; NSH (Non-Selective Hemoabsorption, direct perfusion with hemoabsorption device «Ovosorb») — неселективная гемосорбция, «Овосорб»; DEX (Direct Endotoxin Hemoabsorption, direct hemoperfusion with Alteco LPS Adsorber) — селективная гемосорбция липополисахарида, «Alteco LPS Adsorber». Outcome on the 14<sup>th</sup> day after detoxification — исход на 14 сут. после детоксикации: S (survived) — выжил, F (fatal cases) — летальный исход.

время экстракорпоральной детоксикации остаются малоизученными.

Цель исследования — оценить влияние экстракорпоральных методов детоксикации на уровень фенолкарбоновых кислот в сыворотке крови больных с почечной недостаточностью, ассоциированной с сепсисом.

### Материал и методы

Проведено обследование и лечение 10 больных с системным воспалительным ответом инфекционного (сепсис, тяжелый сепсис, инфекционно-токсический шок) или неинфекционного генеза (постреанимационная бо-

examination we focused on advanced clinical and laboratory symptoms of sepsis allowing to objectively assess the severity of condition. When determining indications and selection of method of detoxification, we took into account the results of the procalcitonin test (PCT), level of endotoxemia as evaluated by the LAL-test, and leukocytal intoxication index.

Treatment was carried out in accordance with the guidelines of 2012 and included hemodynamic support, systemic antibiotic therapy, gastrointestinal protection, etc. [17]. All patients underwent extracorporeal detoxification; the selection of a particular

## Infectious complications

лезнь, длительное искусственное кровообращение). При диагностике ориентировались на расширенные клинико-лабораторные признаки сепсиса, позволяющие объективно оценить тяжесть состояния. При определении показаний и выборе метода детоксикации учитывали результаты теста на прокальцитонин (PCT), уровень эндотоксинемии оценивали по LAL-тесту, рассчитывали лейкоцитарный индекс интоксикации.

Лечение включало гемодинамическую поддержку, системную антибактериальную терапию, защиту желудочно-кишечного тракта и пр. в соответствии с рекомендательным протоколом 2012 года [17]. Всем больным проводили экстракорпоральную детоксикацию, выбор метода определяли, исходя из характера интоксикации. В трех наблюдениях гнойно-септические осложнения развились на фоне исходно существующей хронической почечной недостаточности в терминальной стадии. Для гемодиализа применялись низкопоточные диализаторы — Diacap LO PS на основе  $\alpha$ -полисульфоновой мембраны площадью 1,5 м<sup>2</sup>, в интермиттирующем или полупродленном режиме. Гемодиализация проводилась по «внепочечным» показаниям, для устранения системного воспалительного ответа, как правило, без высоких значений уремии интоксикации. У больных с септическим шоком ГДФ проводилась с использованием сверхвысокопроницаемого диализатора EMiC<sub>2</sub>, обладающей высоким диффузионным клиренсом по молекулам средней массы. При уровне эндотоксинемии свыше 2 EU/мл с клиническими признаками септического шока выполнялась селективная сорбция эндотоксина в течение 2–6 часов.

Изучалось содержание метаболитов микробного происхождения в плазме крови. Измерялись концентрации следующих веществ:

БК — бензойная кислота молекулярной массой (Mr) 122 Да;

ФПК — 3-фенилпропионовая кислота (Mr 150 Да);

ФМК — фенилмолочная кислота (Mr 166 Да);

ГФУК — пара-гидроксибензилуксусная кислота (Mr 152 Да);

ГФМК — пара-гидроксибензилмолочная кислота (Mr 182 Да).

Забор крови для исследования фенольных метаболитов выполнялся из различных сегментов экстракорпорального контура — артериального, венозного контуров и линии эффлюента, если детоксикация проводилась в режиме ГДФ. Образцы сыворотки крови обрабатывались согласно описанной ранее методике [18]. Концентрация метаболитов микробного происхождения определялась с помощью газового хроматографа «Кристалл 5000.2», оснащенного пламенно-ионизационным детектором. Хроматографическое разделение компонентов осуществляли на капиллярной колонке CP-Sil 5 CB.

### Результаты и обсуждение

У всех больных зафиксированы высокие концентрации отдельных фенолкарбоновых кислот, уровень которых достигал 50  $\mu$ M, что значительно превышало норму, установленную в предыдущих исследованиях (0,5–2,5  $\mu$ M) [18, 19]. Максимальные концентрации ФКК регистрировались у больных с септическим шоком, то есть с

методом детоксикации был определен на основе причин интоксикации. Purulent-septic complications developed in three patients following initially existing chronic (end-stage) renal failure. Low-flow Diacap LO PS dialyzers on the basis of  $\alpha$ -polysulfone membrane with area of 1.5 m<sup>2</sup> in intermittent or prolonged mode were deployed for hemodialysis. Hemodiafiltration was performed for 'extrarenal' indications, to eliminate the systemic inflammatory response without high values of uremic intoxication. In patients with septic shock, HDF was carried out by using super-highly-permeable EMiC<sub>2</sub> dialyzers with capabilities to perform high diffusive clearance of medium-weight molecules. In case of the level of endotoxemia higher than 2 EU/ml with clinical symptoms of septic shock the endotoxin selective sorption was performed during 2–6 hours.

The concentrations of the following microbial metabolites in were determined:

BA — benzoic acid, molecular mass (Mr) of 122 Da;

PPA — 3-phenylpropionic acid, Mr of 150 Da;

PLA — phenyllactic acid, Mr of 166 Da;

HPAA — para-hydroxyphenylacetic acid, Mr of 152 Da;

HPLA — para-hydroxyphenyllactic acid, Mr of 182 Da.

Blood samples for phenolic metabolites determining were harvested from various segments of the extracorporeal circuit — arterial and venous circuits and effluent line, if detoxification was carried out by HDF. The serum samples were treated according to previously described technique [18]. Concentration of metabolites was determined by using the gas chromatograph Crystal 5000.2 equipped with a flame ionization detector. Chromatographic separation of the components was carried out by capillary column CP-Sil 5 CB.

### Results and Discussion

High concentrations of phenylcarboxylic acids were recorded in all patients. Level of PCAs increased to 50  $\mu$ M that was significantly more than in norm as had been established by previous studies (0.5–2.5  $\mu$ M) [18, 19]. The maximum concentrations of PCAs were recorded in patients with septic shock, i.e. in patients with the most pronounced manifestations of the systemic inflammatory response. More than ten-fold increase of HPAA and HPLA concentrations vs those ones in healthy people reflected a high degree of microbial load and exhibited the most pronounced activity of septic process. It is important to note that, according to available data in the literature, high levels of HPAA and HPLA in patients with sepsis were associated with fatal cases [12, 18].

When comparing the concentration of PCAs before and after hemodialysis, significant differences were received. After 2 hours of hemodialysis the lev-

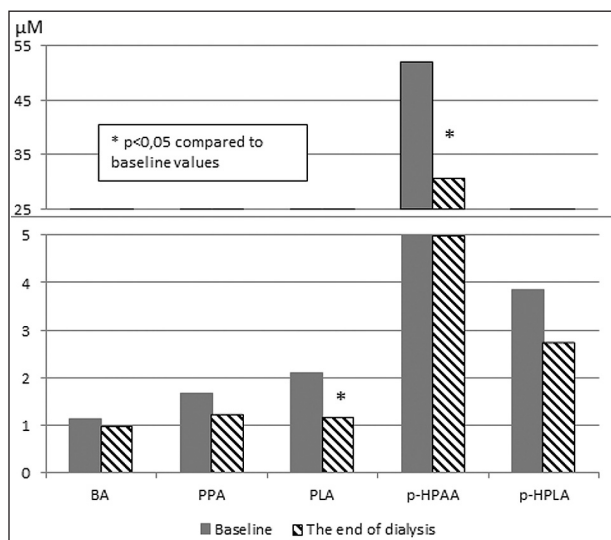


Рис. 1. Изменение концентрации фенолкарбоновых кислот в сыворотке крови в результате 4-х часового гемодиализа.

Fig. 1. Changes in serum phenylcarboxylic acids concentration during 4-hour dialysis.

Note (примечание): compared to baseline values — в сравнении с исходными значениями; Baseline — исходно; The end of dialysis — конец диализа. (Fig. 1–3 — refer to Materials and Methods for definitions — Рис. 1–3 — см. Материалы и методы для пояснения).

наиболее выраженными проявлениями системного воспалительного ответа. Более чем десятикратное увеличение концентрации ГФУК и ГФМК по сравнению с содержанием в крови здоровых людей отражало высокую степень микробной нагрузки и проявлялось наиболее выраженной активностью септического процесса. Важно отметить, что, по имеющимся в литературе данным, высокие уровни именно этих ФКК (ГФУК и ГФМК) у больных с сепсисом коррелировали с летальным исходом [12, 18].

При сравнении концентрации фенолкарбоновых кислот до и после гемодиализа получены достоверные различия. Уже после 2-х часов проведения гемодиализа отмечено снижение содержания ГФУК в 1,7 раза, ФМК — 1,85 раза (рис. 1).

Изучаемые ФКК с молекулярной массой в пределах 122–182 Да относятся к низкомолекулярным соединениям. Следовательно, элиминация этих веществ должна происходить по законам диффузии, описанным для традиционных уремиических токсинов — мочевины, калия и креатинина. В соответствии с концепцией диффузионного массопереноса в капиллярном диализаторе, элиминация веществ с низкой молекулярной массой наиболее эффективна при высоком кровотоке и потоке диализирующего раствора. Это подтверждается рассчитанным значением клиренса диализатора по ГФУК при кровотоке 200 мл/мин, который составил  $157,6 \pm 21,2$  мл/мин при расходе диализирующего раствора 500 мл/мин. Таким об-

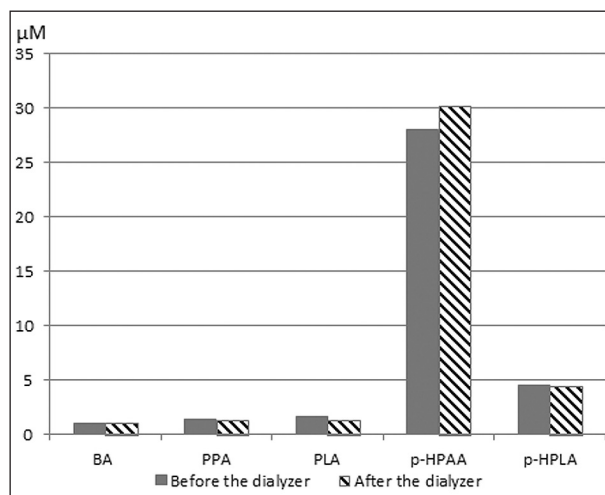


Рис. 2. Изменение концентрации микробных метаболитов при перфузии диализатора в режиме by pass.

Fig. 2. Changes in the concentration of microbial metabolites during «by pass» mode.

Note (примечание): Before/After the dialyzer — До/После диализатора.

els of HPAA and PLA decreased 1.7 and 1.85 times, correspondingly (Fig. 1).

PCAs with molecular weight in the range of 122–182 Da belong to low molecular weight compounds. Therefore, elimination of these substances must occur due to the diffusion law as described for conventional uremic toxins — urea, potassium and creatinine. In accordance to the diffusion mass transfer concept in the capillary dialyzer, elimination of low molecular weight compounds is most effective at high blood flow and dialysis fluid flow. The latter is confirmed by estimating the value of the dialyzer clearance for circulating HPAA at the blood flow of 200 ml/min as  $157,6 \pm 21,2$  ml/min at a dialysis fluid flow rate of 500 ml/min. Thus, the HPAA elimination efficiency in hemodialysis is comparable to the diffusion clearance of urea for this type of dialyzer.

In contrast, in a bypass mode the dialyzer clearance of HPAA was minimal and amounted to 11.6 ml/min at a blood flow of 200 ml/min (fig. 2). A special characteristic of the bypass regimen was the disconnecting the dialytic fluid flow. As a result, the outer side of the capillaries in the dialyzer was not washed by the media free from removable substances. The absence of concentration gradient across the membrane allowed to separately evaluate the sorption capacity of the material used in the dialyzer. Carrying out hemodialysis in a bypass mode did not affect the plasma concentration of phenolic metabolites suggesting the low sorption capacity of polysulfone membranes for the compounds of such nature. Data confirm the leading role of the diffusion mechanism in the elimination of PCAs.

Clearance of the low molecular weight substances in hemofiltration depends on the volume of the substitution fluid: the value of clearance is rela-

## Infectious complications

разом, эффективность удаления ГФУК при гемодиализе сопоставима с диффузионным клиренсом по мочеvine для данного диализатора.

Напротив, в режиме *by pass* клиренс диализатора по ГФУК оказался минимальным и составил 11,6 мл/мин при кровотоке 200 мл/мин (рис. 2). Особенностью режима *by pass* является отключение подачи диализирующего раствора, в результате чего внешняя сторона капилляров в диализаторе не омывается средой, свободной от удаляемых веществ. Отсутствие градиента концентрации на мембране позволяет изолированно оценить сорбционную способность материала, используемого в диализаторе. Проведение гемодиализа в режиме *by pass* не влияло на плазменную концентрацию фенольных метаболитов, что позволяет говорить о незначительной сорбционной способности полисульфоновых мембран для соединений этой природы и подтверждает ведущее значение диффузионного механизма в элиминации фенолкарбоновых кислот.

Клиренс низкомолекулярных веществ при гемодиализации зависит от объема замещаемой жидкости: при малых объемах субституата величина клиренса будет сравнительно небольшой, а лечебное воздействие менее эффективным. Эффективность ГДФ в отношении удаления фенолкарбоновых кислот оказалась ниже. Это можно объяснить малой диффузионной составляющей при проведении ГДФ по низкотоковой методике: поток диализирующего раствора при продленной ГДФ в 5–10 раз меньше, чем в аппаратах «искусственная почка». Клиренс диализатора ЕМiC<sub>2</sub> по микробным метаболитам оказался ниже по сравнению с диализатором и составил в среднем 107,38±15 мл/мин для ГФУК и 66,32 мл/мин для ГФМК при кровотоке 200 мл/мин (рис. 3).

Большая толщина и асимметричность структуры полисульфоновых гемофильтров, а также гидрофобные физико-химические свойства молекул, содержащих ароматическое кольцо, позволяют объяснить меньшие значения клиренсов для фенольных метаболитов, по сравнению с гемодиализом. В то же время, выполнение ГДФ в продленном режиме может быть более эффективным благодаря большей конвекционной дозе. Проведение неселективной гемосорбции и сорбции липополисахарида не сопровождалось значимым изменением концентрации микробных метаболитов.

### Выводы

1. У всех обследованных больных с почечной недостаточностью и клиническими проявлениями системного воспалительного ответа отмечалось существенное повышение концентрации низкомолекулярных ароматических метаболитов (фенолкарбоновых кислот) в сыворотке крови.

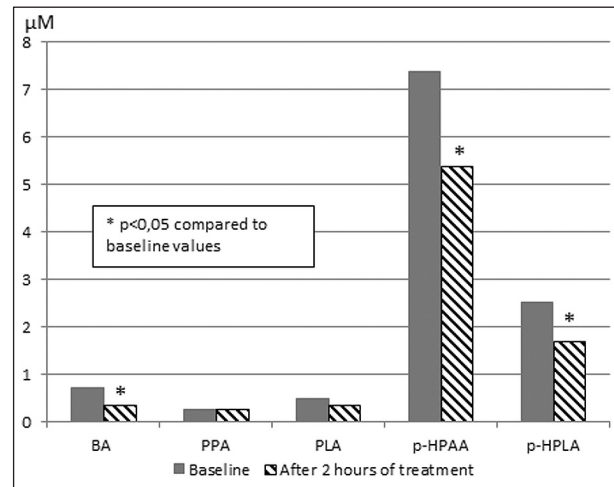


Рис. 3. Динамика концентрации фенолкарбоновых кислот в сыворотке крови в результате гемодиализации с применением сверхвысокопроницаемого диализатора ЕМiC<sub>2</sub>.

Fig. 3. Dynamics in serum phenylcarboxylic acids concentration as a result of hemodiafiltration by using super-highly-permeable ЕМiC<sub>2</sub> dialyzers.

Note (примечание): Baseline — исходно; After 2 hours of treatment — через 2 часа лечения.

tively small and the therapeutic effect is less efficient at low volumes of substitution fluid. The effectiveness of HDF in eliminating PCAs was found to be lower. This can be explained by low diffusion component when performing HDF during the low-flow technique: dialytic fluid flow during extended HDF is 5–10 times lower than in the 'artificial kidney' device. The ЕМiC<sub>2</sub> dialyzer clearance of microbial metabolites was lower versus the dialyzer and averaged 107.38±15 ml/min for HPAA and 66.32 ml/min for HPLA at a blood flow of 200 ml/min (fig. 3).

The large thickness and the structural asymmetry of the polysulfone hemofilters as well as hydrophobic physicochemical properties of organic molecules with aromatic ring help explain smaller clearance values for phenolic metabolites compared to hemodialysis. At the same time, performing HDF in extended mode may be more effective due to a greater convection dose. Carrying out non-selective hemosorption and lipopolysaccharide sorption was not associated by a significant change in the concentration of microbial metabolites.

### Conclusions

1. There was a significant increase in concentration of the low molecular weight aromatic metabolites (phenylcarboxylic acids) in the serum in all examined patients with renal failure and clinical manifestations of the systemic inflammatory response.

2. Extracorporeal detoxification possess a significant effect on the serum levels of microbial

2. Проведение экстракорпоральной детоксикации оказало значимое влияние на сывороточный уровень микробных метаболитов. В результате гемодиализации концентрации пара-гидроксибензилуксусной и пара-гидроксибензилмолочной кислот уменьшались в 1,7 и 1,85 раз, соответственно.

3. Динамика содержания микробных метаболитов зависела от режима детоксикации, а также от характеристик применяемого гемодиализатора (коэффициента проницаемости, коэффициента просеивания). Ведущее значение в элиминации этих веществ играет диффузионный массоперенос через мембрану диализатора или гемофильтра.

4. Неселективная гемоперфузия и селективная ЛПС-сорбция не оказывали значимого влияния на содержание фенолкарбоновых кислот.

**Статья подготовлена при поддержке гранта № 15-15-00110 Российского научного фонда.**

#### Литература

1. Дмитриева И.Б., Белобородова Н.В., Черневская Е.А. Биомаркеры прокальцитонин и белок S100в в клинико-лабораторном мониторинге при критических состояниях новорожденных. *Общая реаниматология*. 2013; 9 (3): 58–65. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-3-58>
2. Мороз В.В., Голубев А.М., Кузовлев А.Н., Писарев В.М., Половников С.Г., Шабанов А.К., Голубев М.А. Сурфактантный протеин А (SP-A) — прогностический молекулярный биомаркер при остром респираторном дистресс-синдроме. *Общая реаниматология*. 2013; 9 (3): 5–13. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-3-5>
3. Мороз В.В., Голубев А.М., Кузовлев А.Н., Писарев В.М. Новые диагностические кандидатные молекулярные биомаркеры острого респираторного дистресс-синдрома. *Общая реаниматология*. 2014; 10 (4): 6–10. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2014-4-6-10>
4. Мороз В.В., Голубев А.М., Кузовлев А.Н., Шабанов А.К., Писарев В.М. Белок клеток Клара (Club Cell Protein) — новый диагностический кандидатный молекулярный биомаркер при нозокомиальной пневмонии. *Общая реаниматология*. 2014; 10 (6): 6–14. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2014-6-6-14>
5. Honoré P.M., Joannes-Boyau O., Collin V., Boer W., Jennes S. Continuous hemofiltration in 2009: what is new for clinicians regarding pathophysiology, preferred technique and recommended dose? *Blood Purif.* 2009; 28 (2): 135–143. <http://dx.doi.org/10.1159/000227282>. PMID: 19590180
6. Rabindranath K.S., Adams J., Macleod A.M., Muirhead N. Intermittent versus continuous renal replacement therapy for acute renal failure in adults. *Cochrane Database Syst Rev.* 2007; 18 (3): CD003773. <http://dx.doi.org/10.1002/14651858.CD003773.pub3>. PMID: 17636735
7. Lin H.H., Liu Y.L., Liu J.H., Chou C.Y., Yang Y.F., Kuo H.L., Huang C.C. Uremic pruritus, cytokines, and polymethylmethacrylate artificial kidney. *Artif. Organs.* 2008; 32 (6): 468–472. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1525-1594.2008.00568.x>. PMID: 18422797
8. Хорошилов С.Е., Никулин А.В. Эfferентное лечение критических состояний. *Общая реаниматология*. 2012; 8 (4): 30–41. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2012-4-30>
9. Valerio F., Lavermicocca P., Pascale M., Visconti A. Production of phenyllactic acid by lactic acid bacteria: an approach to the selection of strains contributing to food quality and preservation. *FEMS Microbiol. Lett.* 2004; 233 (2): 289–295. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1574-6968.2004.tb09494.x>. PMID: 15063498
10. Белобородова Н.В., Хоодакова А.С., Байрамов И.Т., Оленин А.Ю. Микробный путь образования фенолкарбоновых кислот в организме человека. *Биохимия*. 2009; 74 (12): 1657–1663. <http://dx.doi.org/10.1134/S0006297909120086>. PMID: 19961416
11. Russel W.R., Duncan S.H., Scobbie L., Duncan G., Cantlay L., Calder A.G., Anderson S.E., Flint H.J. Major phenylpropanoid-derived metabolites in the human gut can arise from microbial fermentation of protein. *Mol. Nutr. Food Res.* 2013; 57 (3): 523–535. <http://dx.doi.org/10.1002/mnfr.201200594>. PMID: 23349065
12. Белобородова Н.В. Интеграция метаболизма человека и его микробиома при критических состояниях. *Общая реаниматология*. 2012; 8 (4): 42–54. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2012-4-42>

metabolites. As a result of hemodiafiltration, the concentration of para-hydroxyphenylacetic acid and para-hydroxyphenyllactic acid decreased 1.7 and 1.85 times, correspondingly.

3. Dynamics of the microbial metabolites concentration depended on the mode of detoxification and the characteristics of the applied hemodiafilter (penetration coefficient and sieving coefficient). A diffusion mass transfer through the dialyzer or hemofilter membrane plays a leading role in the elimination of these substances.

4. Non-selective hemoperfusion and selective lipopolysaccharide sorption had no significant effect on the level of phenylcarboxylic acids in blood serum.

**The article was prepared with the support of the grant No. 15-15-00110 of the Russian Science Foundation.**

#### References

1. Dmitrieva I.B., Beloborodova N.V., Chernevskaya E.A. Biomarkery prokalsitonin i belok S100v v kliniko-laboratornom monitoringe pri kriticheskikh sostoyaniyakh novorozhdennykh. *Obshchaya Reanimatologiya*. [The biomarkers procalcitonin and S100v protein in the clinical and laboratory monitoring of neonatal critical conditions. *General Reanimatology*]. 2013; 9 (3): 58–65. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-3-58>. [In Russ.]
2. Moroz V.V., Golubev A.M., Kuzovlev A.N., Pisarev V.M., Polovnikov S.G., Shabanov A.K., Golubev M.A. Surfaktantnyi protein A (SP-A) — prognostichesky molekulyarnyi biomarker pri ostrom respiratornom distress-sindrom. *Obshchaya Reanimatologiya*. [Surfactant protein A (SP-A) is a prognostic molecular biomarker in acute respiratory distress syndrome. *General Reanimatology*]. 2013; 9 (3): 5–13. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-3-5>. [In Russ.]
3. Moroz V.V., Golubev A.M., Kuzovlev A.N., Pisarev V.M. Novye diagnosticheskie kandidatnye molekulyarnye biomarkery ostrom respiratornogo distress-sindroma. *Obshchaya Reanimatologiya*. [New diagnostic candidate molecular biomarkers of acute respiratory distress syndrome. *General Reanimatology*]. 2014; 10 (4): 6–10. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2014-4-6-10>. [In Russ.]
4. Moroz V.V., Golubev A.M., Kuzovlev A.N., Shabanov A.K., Pisarev V.M. Belok kletok Klara (Club Cell Protein) — novyi diagnostichesky kandidatnyi molekulyarnyi biomarker pri nozokomialnoi pnevmonii. *Obshchaya Reanimatologiya*. [Clara cell protein (Club Cell Protein) is a new diagnostic molecular candidate biomarker in nosocomial pneumonia. *General Reanimatology*]. 2014; 10 (6): 6–14. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2014-6-6-14>. [In Russ.]
5. Honoré P.M., Joannes-Boyau O., Collin V., Boer W., Jennes S. Continuous hemofiltration in 2009: what is new for clinicians regarding pathophysiology, preferred technique and recommended dose? *Blood Purif.* 2009; 28 (2): 135–143. <http://dx.doi.org/10.1159/000227282>. PMID: 19590180
6. Rabindranath K.S., Adams J., Macleod A.M., Muirhead N. Intermittent versus continuous renal replacement therapy for acute renal failure in adults. *Cochrane Database Syst Rev.* 2007; 18 (3): CD003773. <http://dx.doi.org/10.1002/14651858.CD003773.pub3>. PMID: 17636735
7. Lin H.H., Liu Y.L., Liu J.H., Chou C.Y., Yang Y.F., Kuo H.L., Huang C.C. Uremic pruritus, cytokines, and polymethylmethacrylate artificial kidney. *Artif. Organs.* 2008; 32 (6): 468–472. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1525-1594.2008.00568.x>. PMID: 18422797
8. Khoroshilov S.E., Nikulin A.V. Efferentnoe lechenie kriticheskikh sostoyanii. *Obshchaya Reanimatologiya*. [Efferent treatment for critical conditions. *General Reanimatology*]. 2012; 8 (4): 30–41. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2012-4-30>. [In Russ.]
9. Valerio F., Lavermicocca P., Pascale M., Visconti A. Production of phenyllactic acid by lactic acid bacteria: an approach to the selection of strains contributing to food quality and preservation. *FEMS Microbiol. Lett.* 2004; 233 (2): 289–295. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1574-6968.2004.tb09494.x>. PMID: 15063498
10. Beloborodova N.V., Khodakova A.S., Bairamov I.T., Olenin A.Yu. Mikrobnyi put obrazovaniya fenilkarboonykh kislot v organizme che-



## Infectious complications

13. Белобородова Н.В., Оленин А.Ю., Ходакова А.С. Способ лабораторной диагностики сепсиса. Патент РФ на изобретение №2423704.
14. Urbschat A., Obermüller N., Haferkamp A. Biomarkers of kidney injury. *Biomarkers*. 2011; 16 (Suppl 1): S22-S30. <http://dx.doi.org/10.3109/1354750X.2011.587129>. PMID: 21707441
15. Мороз В.В., Белобородова Н.В., Хорошилов С.Е., Никулин А.В., Бедова А.Ю., Осипов А.А., Гецина М.Л., Саршор Ю.Н. Способ оценки эффективности диализно-фильтрационной очистки крови. Патент РФ на изобретение №2423704.
16. Хорошилов С.Е., Белобородова Н.В., Никулин А.В., Бедова А.Ю., Осипов А.А., Гецина М.Л. Элиминация низкомолекулярных ароматических метаболитов во время экстракорпоральной детоксикации у больных ОПН при сепсисе. Мат-лы Девятой Междунар. конф. «Актуальные аспекты экстракорпорального очищения крови в интенсивной терапии». М.; 2014: 44–45.
17. Dellinger R.P., Levy M.M., Rhodes A., Annane D., Gerlach H., Opal S.M., Sevransky J.E., Sprung C.L., Douglas I.S., Jaeschke R., Osborn T.M., Nunnally M.E., Townsend S.R., Reinhart K., Kleinpell R.M., Angus D.C., Deutschman C.S., Machado F.R., Rubenfeld G.D., Webb S., Beale R.J., Vincent J.L., Moreno R.; Surviving Sepsis Campaign Guidelines Committee including The Pediatric Subgroup. Surviving Sepsis Campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock, 2012. *Intensive Care Med*. 2013; 39 (2): 165–228. <http://dx.doi.org/10.1007/s00134-012-2769-8>. PMID: 23361625
18. Белобородова Н.В., Мороз В.В., Бедова А.Ю., Оленин А.Ю., Карпова О.В., Гецина М.Л., Оленина Е.Г. Нормальный уровень сепсис-ассоциированных фенольных метаболитов в сыворотке крови человека. *Биохимия*. 2015; 80 (3): 449–455. <http://dx.doi.org/10.1134/S0006297915030128>. PMID: 25761691
19. Белобородова Н.В., Оленин А.Ю., Ходакова А.С., Черневская Е.А., Халиб О.Н. Происхождение и клиническое значение низкомолекулярных фенольных метаболитов в сыворотке крови человека. *Анестезиология и реаниматология*. 2012; 5: 65–72.
11. Russel W.R., Duncan S.H., Scobbie L., Duncan G., Cantlay L., Calder A.G., Anderson S.E., Flint H.J. Major phenylpropanoid-derived metabolites in the human gut can arise from microbial fermentation of protein. *Mol. Nutr. Food Res*. 2013; 57 (3): 523–535. <http://dx.doi.org/10.1002/mnfr.201200594>. PMID: 23349065
12. Beloborodova N.V. Integratsiya metabolizma cheloveka i ego mikrobioma pri kriticheskikh sostoyaniyakh. *Obshchaya Reanimatologiya*. [Integration of metabolism in man and his microbiome in critical conditions. *General Reanimatology*]. 2012; 8 (4): 42–54. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2012-4-42>. [In Russ.]
13. Beloborodova N.V., Olenin A.Yu., Khodakova A.S. Sposob laboratornoi diagnostiki sepsisa. Patent RF na izobretenie №2423704 [A method of laboratory diagnosis of sepsis. RF Patent for invention No. 2423704]. [In Russ.]
14. Urbschat A., Obermüller N., Haferkamp A. Biomarkers of kidney injury. *Biomarkers*. 2011; 16 (Suppl 1): S22–S30. <http://dx.doi.org/10.3109/1354750X.2011.587129>. PMID: 21707441
15. Moroz V.V., Beloborodova N.V., Khoroshilov S.E., Nikulin A.V., Bedova A.Yu., Osipov A.A., Getsina M.L., Sarshor Yu.N. Sposob otsenki effektivnosti dializno-filtratsionnoi ochistki krovi. [A method of evaluating the effectiveness of dialysis filtration blood purification. RF Patent for invention No.2423704]. [In Russ.]
16. Khoroshilov S.E., Beloborodova N.V., Nikulin A.V., Bedova A.Yu., Osipov A.A., Getsina M.L. Eliminatsiya nizkomolekulyarnykh aromatcheskikh metabolitov vo vremya ekstrakorporalnoi detoksikatsii u bolnykh OPN pri sepsise. Materialy Devyatoi Mezhdunarodnoi konferentsii «Aktualnye aspekty ekstrakorporalnogo ochishcheniya krovi v intensivnoi terapii». [Elimination of low-molecular-weight aromatic metabolites during extracorporeal detoxification in patients with acute renal failure in sepsis. Proceedings of the Ninth International Conference on Topical Aspects of Extracorporeal Blood Clearance in Intensive Care]. Moscow; 2014: 44–45. [In Russ.]
17. Dellinger R.P., Levy M.M., Rhodes A., Annane D., Gerlach H., Opal S.M., Sevransky J.E., Sprung C.L., Douglas I.S., Jaeschke R., Osborn T.M., Nunnally M.E., Townsend S.R., Reinhart K., Kleinpell R.M., Angus D.C., Deutschman C.S., Machado F.R., Rubenfeld G.D., Webb S., Beale R.J., Vincent J.L., Moreno R.; Surviving Sepsis Campaign Guidelines Committee including The Pediatric Subgroup. Surviving Sepsis Campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock, 2012. *Intensive Care Med*. 2013; 39 (2): 165–228. <http://dx.doi.org/10.1007/s00134-012-2769-8>. PMID: 23361625
18. Beloborodova N.V., Moroz V.V., Bedova A.Yu., Olenin A.Yu., Karpova O.V., Getsina M.L., Olenina E.G. Normalnyi uroven sepsisa-associirovannykh fenilkarbonovykh kislot v syvorotke krovi cheloveka. [Normal level of sepsis-associated phenylcarboxylic acids in human serum]. *Biochemistry*. 2015; 80 (3): 374–378. <http://dx.doi.org/10.1134/S0006297915030128>. PMID: 25761691. [In Russ.]
19. Beloborodova N.V., Olenin A.Yu., Khodakova A.S., Chernevskaya E.A., Khabib O.N. Proiskhozhdenie i klinicheskoe znachenie nizkomolekulyarnykh fenolnykh metabolitov v syvorotke krovi cheloveka. [The origin and clinical value of human serum low-molecular-weight phenolic metabolites]. *Anesteziologiya i Reanimatologiya*. 2012; 5: 65–72. [In Russ.]

Поступила 10.05.15

Submitted 10.05.15