



Изменение уровня некоторых цитокинов при использовании гемофильтрации с сорбцией у пациентов с COVID-19

Ю. С. ПОЛУШИН, Р. В. АКМАЛОВА, Д. В. СОКОЛОВ, И. В. БОВКУН, И. В. ШЛЫК, Е. В. ПАРШИН, Е. Г. ГАВРИЛОВА, С. В. ЛАПИН, О. Ю. ТКАЧЕНКО

Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова, Санкт-Петербург, РФ

РЕЗЮМЕ

Использование гемофильтрации с сорбцией при COVID-19 для снижения выраженности цитокинового шторма вполне обосновано, однако многие аспекты ее практического применения до конца не отработаны.

Цель: изучить изменение уровня IL-6 и IL-18 в ответ на продолжительную (24–72 ч) гемофильтрацию с сорбцией.

Материал и методы. Ретроспективно проанализированы данные об уровне и изменении IL-6 и IL-18 у 69 больных COVID-19, которым в процессе интенсивной терапии применили гемофильтрацию с сорбцией, с различной степенью поражения легких. Распространенность поражения легких: 4 человека – КТ-2, 44 человека – КТ-3, 21 пациент – КТ-4. Число лиц с неблагоприятным исходом – 18.

Гемофильтрацию с сорбцией (система Prismaflex) включали в терапию при отрицательной динамике заболевания на фоне высокого или быстро нарастающего уровня С-реактивного белка (выше 100 мг/л), ферритина (более 600 мкг/л), прогрессирующей лимфопении. Длительность процедуры – 24 ч при КТ-2/3, 48 ч – при КТ-4. Доза эффлюэнта – $30,0 \pm 6,4$ мл/кг в 1 ч. Определяли уровень IL-6, IL-18 и прокальцитонина до и после завершения процедуры, рассчитывали величину изменения их концентрации после сорбции. Оценивали связь всех показателей со степенью распространенности процесса в легких и исходом.

Результаты. До сорбции большая распространенность процесса в легких значимо сочеталась с меньшими значениями уровня IL-6 и IL-18 и наоборот, причем это не было связано с применением тоцилизумаба (использован у 44 человек). Максимальное снижение уровня цитокинов отмечено у пациентов с КТ-2. Выявлена значимая связь дельты по IL-6 ($F = 6,69; p \leq 0,05$) с исходом, которая особенно отчетливо проявилась у лиц с благоприятным течением заболевания.

Заключение. По мере прогрессирования воспалительного процесса в легких уровень IL-6 и IL-18 снижается, что может быть проявлением истощения цитокинового шторма. Использование продолжительной (24–48 ч) гемофильтрации с сорбцией цитокинов позволяет снизить уровень цитокинов, но эффективность процедуры выше при менее распространенном поражении легких. Величина дельты, отражающей снижение концентрации IL-6, значимо коррелирует с исходом, что свидетельствует о важности использования данной технологии в продолжительном режиме.

Ключевые слова: COVID-19, цитокиновый шторм, гемофильтрация, гемофильтрация с сорбцией, продолжительная заместительная почечная терапия

Для цитирования: Полушин Ю. С., Акмалова Р. В., Соколов Д. В., Бовкун И. В., Шлык И. В., Паршин Е. В., Гаврилова Е. Г., Лапин С. В., Ткаченко О. Ю. Изменение уровня некоторых цитокинов при использовании гемофильтрации с сорбцией у пациентов с COVID-19 // Вестник анестезиологии и реаниматологии. – 2021. – Т. 18, № 2. – С. 31-39. DOI: 10.21292/2078-5658-2021-18-2-31-39

Changes in the levels of some cytokines when using blood purification in COVID-19 patients

YU. S. POLUSHIN, R. V. AKMALOVA, D. V. SOKOLOV, I. V. BOVKUN, I. V. SHLYK, E. V. PARSHIN, E. G. GAVRILOVA, S. V. LAPIN, O. Y. TKACHENKO

Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russia

ABSTRACT

The use of high-adsorption membrane hemofiltration in COVID-19 positive patients to reduce the severity of a cytokine storm is clearly beneficial but at the same time, there are no certain procedures for its practical use.

The objective: to study the change in the levels of IL-6 and IL-18 in response to prolonged (24-72 hours) high-adsorption membrane hemofiltration.

Subjects and methods. We retrospectively analyzed the data on IL-6 and IL-18 levels and their changes in 69 patients who were COVID-19 positive and had different degrees of lung damage, they had received high-adsorption membrane hemofiltration during their stay at the intensive care unit. The extent of lung lesions was the following: 4 people had CT-2, 44 people had CT-3, and 21 patients had CT-4. 18 patients had an unfavorable outcome of the disease.

High-adsorption membrane hemofiltration (Prismaflex) was used in the group of patients who had clinical signs of the rapid progression of the disease and also such laboratory findings as elevated values of C-reactive protein (above 100 mg/L), ferritin (more than 600 µg/L), and progression of lymphopenia. This intervention lasted for 24 hours at CT-2/3, and 48 hours at CT-4. The effluent dose was 30.0 ± 6.4 ml/kg/h. The levels of IL-6, IL-18, and procalcitonin were tested before and after the completion of the intervention, and the difference between their concentration before and after high-adsorption membrane hemofiltration was calculated. The potential association between received data (IL-6, IL-18, delta of IL-6, delta of IL-18) and degree of lung damage and outcomes was analyzed.

Results. It was detected that the more the lungs were affected, the lower levels of IL-6 and IL-18 were and vice versa and this correlation was not associated with the use of tocilizumab (used in 44 people). The maximum decrease in the level of cytokines was observed in the group of patients with CT-2. There was a significant association between the delta of IL-6 ($F = 6.69; p \leq 0.05$) and the outcome which was especially pronounced in people with a favorable outcome.

Conclusion. As the inflammation progresses in the lungs, the levels of IL-6 and IL-18 decrease which may be a manifestation of the depletion of the cytokine storm. The use of prolonged high-adsorption membrane hemofiltration (24-48 h) allows reducing the level of cytokines. The delta value reflects a decrease in IL-6 concentration, it significantly correlates with the outcome which indicates the importance of using this method in a continuous mode.

Key words: COVID-19, cytokine storm, hemofiltration, high-adsorption membrane hemofiltration, CRRT (continuous renal replacement therapy)

For citations: Polushin Yu.S., Akmalova R.V., Sokolov D.V., Bovkun I.V., Shlyk I.V., Parshin E.V., Gavrilova E.G., Lapin S.V., Tkachenko O.Yu. Changes in the levels of some cytokines when using blood purification in COVID-19 patients. *Messenger of Anesthesiology and Resuscitation*, 2021, Vol. 18, no. 2, P. 31-39. (In Russ.) DOI: 10.21292/2078-5658-2021-18-2-31-39

Для корреспонденции:

Акмалова Регина Валерьевна
E-mail: regina.akmalova@gmail.com

Correspondence:

Regina V. Akmalova
Email: regina.akmalova@gmail.com

С самого начала эпидемии SARS-CoV-2, перешедшей затем в пандемию, важную роль в развитии вирусной пневмонии и поражения других органов стали отводить так называемому цитокиновому шторму, причем данная концепция прочно обосновалась как в различных статьях, так и в многократно пересматриваемых временных методических рекомендациях Министерства здравоохранения РФ. Некоторые сомнения в том, «шторм» ли это или «бриз», впервые высказанные в марте 2020 г. Mervin Singer (London, United Kingdom) в докладе «COVID-19: is there really a cytokine storm... or more of a breeze?», который в режиме онлайн прозвучал в Брюсселе в рамках конференции специалистов по интенсивной терапии (ISICEM-2020) [23], так и остались сомнениями. Различные варианты антицитокиновой терапии прочно обосновались в схемах лечения, хотя в реальной практике блокирование рецепторов некоторых интерлейкинов (IL-1, IL-6) далеко не всегда сопровождалось нужным клиническим эффектом.

Другое важное направление в купировании цитокинового шторма у этих пациентов связано с механическим удалением цитокинов из крови посредством использования различных методик экстракорпоральной гемокоррекции. Однако, несмотря на накопленный в мире уже довольно большой опыт по лечению COVID-19, ответ на вопрос «Кому, когда, зачем и чем проводить сорбцию этих (и других) биологически активных веществ?» окончательно не сформулирован.

Цель исследования: изучить изменение уровня IL-6 и IL-18 в ответ на продолжительную (24–72 ч) гемофильтрацию с сорбцией.

Материал и методы

Ретроспективно проанализированы данные об уровне и изменении IL-6 и IL-18 у 69 больных COVID-19, которым в процессе интенсивной терапии применили гемофильтрацию с сорбцией. В группу были включены пациенты, поступавшие в отделения реанимации и интенсивной терапии Центра по лечению новой коронавирусной инфекции, открывавшегося в клинике Первого Санкт-Петербургского государственного университета им. акад. И. П. Павлова дважды: как в рамках первой (с 28.04.2020 г. по 3.08.2020 г.), так и второй волны (с 1.11.2020 г. по 15.03.2021 г.).

Критерии включения: 1) факт наличия в клинической лабораторной базе сведений об одновременном заборе крови на исследование IL-6, IL-18 и прокальцитонина непосредственно до и сразу после завершения сеанса сорбционной терапии; 2) данные о степени поражения легких (на основании компьютерного томографического исследования – КТ) перед забором крови на исследование биомаркеров.

Критерий невключения: тяжелые сопутствующие заболевания, конкурирующие с COVID-19 (онкология, трансплантология).

Возраст больных колебался от 21 года до 78 лет, лиц старше 65 лет среди них было 16 (23%). Распространенность поражения легких, оцениваемая по эмпирической визуальной шкале (Inui et al. Radiology: Cardiothoracic Imaging, 2020): 4 человека – КТ-2, 44 человека – КТ-3, 21 пациент – КТ-4. Число лиц с неблагоприятным исходом – 18.

Основанием для применения гемокорригирующей терапии: ухудшение состояния пациента с нарастанием дыхательной недостаточности на фоне высокого и тем более быстро нарастающего уровня С-реактивного белка (выше 100 мг/л), ферритина (более 600 мкг/л), прогрессирующей лимфопении.

Методика экстракорпоральной гемокоррекции – комбинированная гемофильтрация с адсорбцией на системе Prismaflex с использованием высокоадсорбтивной мембраны. Венозный доступ осуществляли через трехпросветный кратковременный нетуннелированный катетер для гемодиализа. Длительность комбинированной гемофильтрации составляла 24 ч у пациентов с КТ-2/3 и 48 ч у пациентов с КТ-4. В качестве антикоагулянтной терапии использовали регионарную цитратную антикоагуляцию согласно стандартному протоколу. Доза эффлюэнта составляла $30 \pm 6,4$ мл/кг в 1 ч.

Исследование концентрации в крови IL-6, IL-18 и прокальцитонина проводили методом иммуноферментного анализа с использованием наборов реагентов производства Вектор-Бест, Российская Федерация. Наборы разрешены к медицинскому применению в качестве изделий для медицинской диагностики (РНЗ 207/6006 и РНЗ2014/2083). Исследование выполняли в соответствии с инструкцией производителя. Выбор данных цитокинов для оценки эффективности сорбционной терапии был связан с хорошо известной их ролью в формировании цитокинового шторма. IL-6 – типичный представитель провоспалительных цитокинов, ассоциированных со вторым типом воспалительного ответа (пролиферацией В-лимфоцитов и началом сероконверсии продукции нейтрализующих вирус антител). IL-18 также относится к провоспалительным медиаторам, ассоциированным с первым типом воспалительного ответа – продукцией INF- γ . Оба интерлейкина играют ключевую роль в формировании системного противовирусного ответа [18, 21].

При оценке результатов учитывали, что 44 (63,8%) пациентам в возрасте от 21 года до 74 лет проводили, наряду с сорбцией, антицитокиновую терапию тоцилизумабом. У 33 из них наступил благоприятный исход, у 11 (25%) – летальный.

У пациентов, не получавших тоцилизумаб (25 человек в возрасте от 36 до 78 лет), неблагоприятный исход наступил в 6 (24%) случаях.

Вопросы, на которые мы хотели получить ответ в рамках данного исследования: 1) есть ли корреляция уровня цитокинов с распространенностью поражения легких (или наоборот)? 2) снижается ли и насколько уровень цитокинов после гемофильтрации? 3) влияет ли распространенность поражения легких на эффективность сорбционной терапии, а величина изменения уровня цитокинов (дельта) на исход?

Для ответа на эти вопросы статистический анализ проводили как в целом по исследовательской группе, так и посредством формирования из нее соответствующих подгрупп с учетом заключения КТ, применения/неприменения сорбционной технологии, исхода.

Для обработки полученных данных использован пакет статистических программ Statistica версии 12.5.192.7. Так как проверка всех числовых признаков на соответствие нормальному распределению вероятностей с помощью критерия Колмогорова – Смирнова отвергла гипотезу об их нормальном распределении, были использованы непараметрические методы статистического анализа, а в описательной статистике значения числовых показателей представлены медианой и межквартильным размахом. Для поиска и количественной оценки связей между показателями использован корреляционный анализ. Для оценки различий между показателями в связанных выборках применен парный Т-критерий Уилкоксона, в несвязанных выборках – U-критерий Манна – Уитни. Для выявления моделирующего влияния параметров-откликов на входные факторы использован дисперсионный анализ (ANOVA) [2].

Результаты

Результаты оценки уровня цитокинов в крови больных с разной распространенностью процесса в легких представлены в табл. 1. Они продемонстрировали отчетливое различие в величинах IL-6 и IL-18 в зависимости от степени поражения легких. Оказалось, что чем больше легочной ткани вовлечено в патологический процесс (КТ-4), тем ниже была концентрация в крови IL-6 и IL-18. Корреляция между этими показателями подтверждена при использовании дисперсионного анализа (ANOVA),

Таблица 1. Концентрация IL-6 и IL-18 в крови пациентов с COVID-19 с разной распространенностью поражения легочной ткани (n = 69) (медиана и IQR)

Table 1. The concentration of IL-6 and IL-18 in the blood of COVID-19 patients with different extent of lung tissue damage (n = 69) (median and IQR)

Показатель	Степень поражения легких (по КТ)		
	КТ-2	КТ-3	КТ-4
IL-6, пг/мл	483,86 (435,5–487,0)	171,67 (39,4–346,3)	121,72 (9,9–81,4)
IL-18, пг/мл	640,99 (401,4–481,3)	281,78 (183,8–431,5)	229,65 (145,0–258,3)

позволяющего моделировать воздействие параметра-отклика (подгруппы КТ) на входные факторы (в данном случае уровень IL-6 и IL-18 до сорбции). Дисперсия переменных (F) для IL-6 составила 9,21 ($p \leq 0,05$), для IL-18 – 4,59 ($p \leq 0,05$). Прослеживался отчетливый тренд снижения значений уровней изучаемых интерлейкинов по мере увеличения значения КТ.

В табл. 2 представлены данные, отражающие изменение концентрации оцениваемых цитокинов после сорбционной терапии. Как и предполагалось, в результате применения данной технологии достигнуто значимое снижение не только IL-6, IL-18, но и прокальцитонина.

Таблица 2. Изменение концентрации цитокинов и прокальцитонина в ответ на сорбцию (n = 69)

Table 2. Changes in the concentration of cytokines and procalcitonin in response to sorption (n = 69)

Показатель	Значения медиана и межквартильный размах (IQR)
IL-6 до сорбции, пг/мл	145,58 (26,12–343,80)
IL-6 после сорбции, пг/мл	64,02 (14,97–213,86)*
Дельта IL-6, пг/мл	54,75 (-0,41–141,41)
IL-18 до сорбции, пг/мл	262,59 (169,33–395,97)
IL-18 после сорбции, пг/мл	229,56 (157,23–295,13)**
Дельта IL-18, пг/мл	23,73 (-1,32–105,05)
Прокальцитонин до сорбции, нг/мл	0,19 (0,11–0,47)
Прокальцитонин после сорбции, нг/мл	0,13 (0,08–0,33)***
Дельта прокальцитонина, нг/мл	0,06 (0,01–0,17)

Для поиска и количественной оценки связей между лабораторными показателями и степенью поражения легких использована ранговая корреляция Спирмена. Выявлены (рис. 1) средняя по силе и обратная связь между тяжестью изменений по КТ и уровнем IL-6 до сорбции (коэффициент корреляции $r = -0,441$; $p < 0,05$), а также между значениями КТ и степенью снижения концентрации IL-6 (дельтой) (коэффициент корреляции $r = -0,491$; $p < 0,05$). То же самое отмечено и в отношении IL-18: сред-

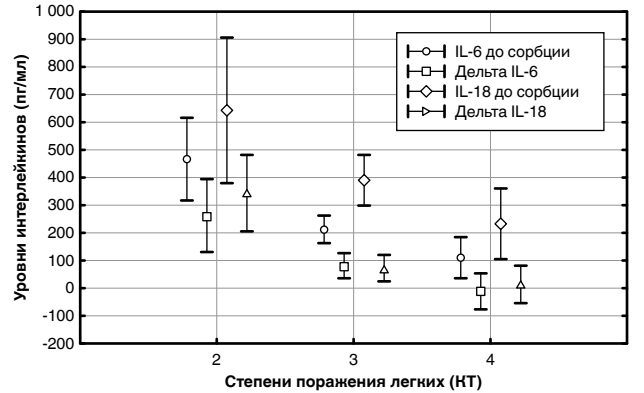


Рис. 1. Дисперсии IL-6 и IL-18 до и после сорбции в зависимости от степени поражения легочной ткани (по данным КТ)

Fig. 1. Dispersions of IL-6 and IL-18 before and after sorption depending on the degree of lung tissue damage (according to CT data)

няя по силе и обратная связь между группами КТ и уровнем IL-6 до сорбции (коэффициент корреляции $r = -0,410$; $p < 0,05$), а также между значениями КТ и дельтой по IL-18 (коэффициент корреляции $r = -0,323$; $p < 0,05$).

Таким образом, наши данные показали, что до сорбции большей распространенности процесса в легких (даже при КТ-3, не говоря уже о КТ-4) соответствовали меньшие значения уровня изученных цитокинов, для изменений же в пределах КТ-2 были характерны более высокие показатели концентрации IL-6 и IL-18 в крови.

Мы не связываем данный факт с назначением пациентам (44 из 69) тоцилизумаба, который не блокирует выработку интерлейкина, а связывается и подавляет его как растворимые, так и мембранные рецепторы, препятствуя проявлению эффекта. Из табл. 3 видно, что существенных различий по всем анализируемым показателям между получавшими и не получавшими препарат, не было.

При оценке корреляционных связей между уровнем интерлейкинов и степенью поражения легких по данным КТ получены следующие результаты: для пациентов с сорбцией, **не получавших тоцилизумаб**, коэффициент корреляции (r) составил **-0,653** ($p < 0,05$), для получавших препарат наряду с сорбцией **-0,544** ($p < 0,05$).

Выраженность степени снижения их концентрации (дельта) под влиянием сорбционной терапии также зависела от тяжести легочного повреждения, уменьшаясь по мере распространения процесса. Тем не менее совокупная оценка зависимости исхода от различных показателей (IL-6, IL-18 до сорбции и после нее, степень их снижения в ответ на сорбцию) выявила наиболее значимую связь с ним только дельты по IL-6 ($F = 6,69$; $p \leq 0,05$), которая особенно отчетливо проявилась у лиц с благоприятным исходом (рис. 2).

Результаты ROC-анализа (рис. 3 и 4) также продемонстрировали предсказательную способность показателя дельта по IL-6 как в отношении выживания, так и в отношении смерти. Несмотря на то что в обоих случаях качество модели среднее (площадь по кривой 0,676), данный показатель имел достоверную прогностическую значимость, подтверждая, таким образом, важность удаления из крови этого

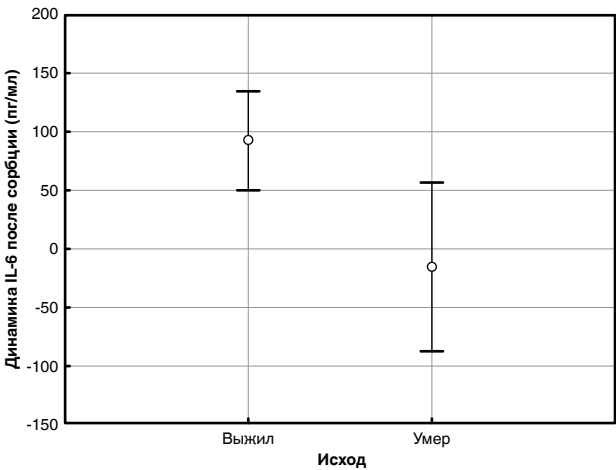


Рис. 2. Дисперсии дельты по IL-6 у лиц с разным исходом лечения

Fig. 2. IL-6 delta variance in individuals with different treatment outcomes

медиатора при лечении больных с COVID-19. Следует также учитывать, что экстракорпоральная гемокоррекция представляет собой лишь отдельный элемент комплексной терапии. Важно, что оценка корреляции дельты по IL-6 с исходом в подгруппе больных, получавших сорбцию и тоцилизумаб ($r = -0,498$; $p < 0,05$), показала данные, полностью согласующиеся с ROC-анализом.

Обсуждение результатов

Опыт разных стран мира, вовлеченных в пандемию SARS-CoV-2, демонстрирует большие проблемы с лечением пациентов с тяжелым течением COVID-19, сопряженные с высокой смертностью. Исследования, наиболее активно проводимые в 2020 г. в Китае, где специалисты первыми столкнулись с массовым потоком таких больных, обратили внимание на высокое содержание в плазме их крови цитокинов: IL-1b, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, FGF, G-CSF, GM-CSF, IFN-g, IP-10, MCP-1, MIP-1A, MIP1-B, PDGF, TNF-α и VEGF [12]. Отсюда внимание к цитокиновому шторму и его роли в патогенезе множественной органной дисфункции при COVID-19 вполне объяснимо, поскольку внезапное резкое увеличение в крови уровня

Таблица 3. Средние значения основных исследуемых показателей в подгруппах, медиана + межквартильный размах (IQR)

Table 3. Average values of the main studied parameters in the subgroups, median + interquartile range (IQR)

Показатель	Подгруппы больных		Значение Т-критерия	p
	только сорбция	сорбция + тоцилизумаб		
IL-6 до сорбции, пг/мл	145,17 (26,2–336,1)	171,67 (33,1–363,8)	120,0	0,252814
Дельта IL-6, пг/мл	56,25 (-0,4–141,4)	75,04 (8,7–238,9)	123,0	0,287863
IL-6 после сорбции, пг/мл	63,93 (14,9–208,1)	78,55 (18,8–238,9)	108,0	0,142533
IL-18 до сорбции, пг/мл	259,81 (169,3–395,9)	298,77 (178,3–465,9)	129,0	0,367386
Дельта IL-18, пг/мл	23,25 (-1,3–105,1)	34,19 (1,4–160,1)	110,0	0,157771
IL-18 после сорбции, пг/мл	228,43 (157,2–295,2)	250,10 (159,4–295,7)	157,0	0,882352

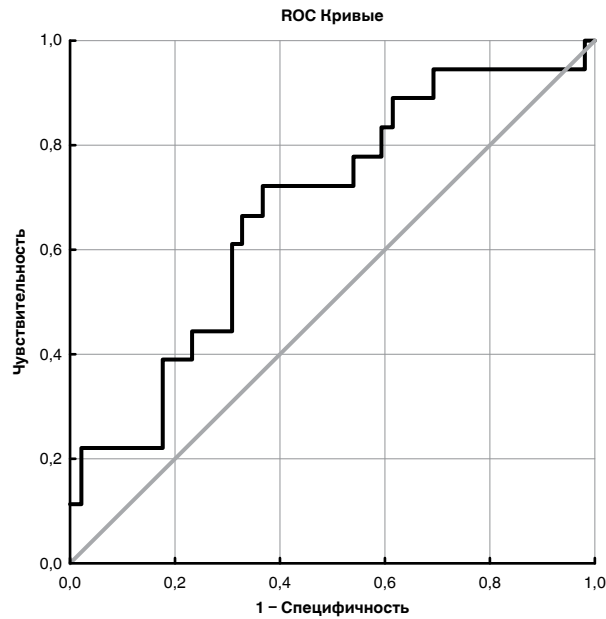


Рис. 3. Модель диагностической эффективности показателя дельта по IL-6 в предсказании летального исхода (площадь под кривой 0,676 – качество модели среднее)

Fig. 3. A model of diagnostic effectiveness of IL-6 delta for mortality prediction (area under the curve 0.676 – the model performance is medium)

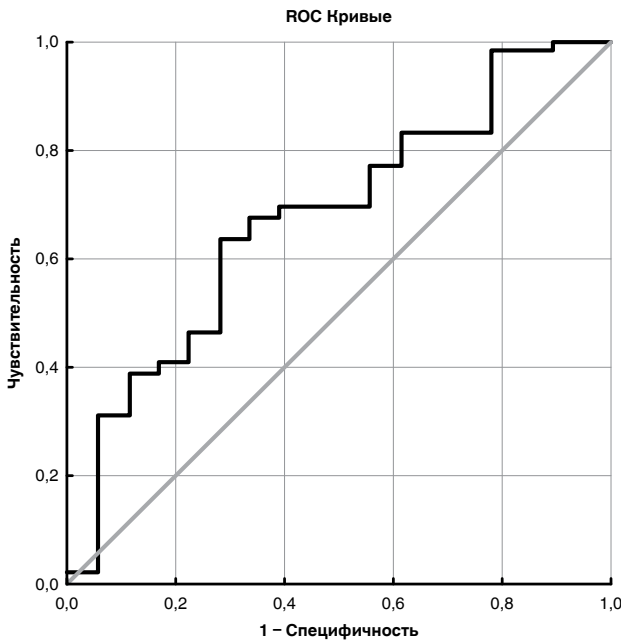


Рис. 4. Модель диагностической эффективности показателя дельта по IL-6 в предсказании выживания пациента (площадь под кривой 0,676 – качество модели среднее)

Fig. 4. A model of diagnostic effectiveness of IL-6 delta for survival prediction (area under the curve 0.676 – the model performance is medium)

циркулирующих провоспалительных цитокинов, как известно, сопровождается миграцией различных иммунных клеток (макрофагов, нейтрофилов, Т-клеток) из кровотока в очаг инфекции. Это ведет

к дестабилизации эндотелиальных клеток, нарушению сосудистого барьера, капилляров, диффузному альвеолярному повреждению, расстройствам коагуляции. Повреждение легочной ткани – одно из последствий цитокинового шторма при COVID-19, которое может прогрессировать и приводить к летальному исходу [8, 13, 16].

Понятно, что чем больше всплеск уровня цитокинов, тем выше вероятность легочного повреждения. Однако в нашем исследовании такая связь оказалась обратной. Выявилось, что высокие уровни IL-6 и IL-18 были зафиксированы у лиц с наименьшей площадью патологических изменений в легких, т. е. при значениях, соответствующих рентгенологической картине КТ-2. Мы не видим в этом противоречия, полагая, что исследование «застало» пациентов на разных временных этапах развития заболевания. У одних пациентов (стадия поражения по КТ-2) цитокиновый шторм был в разгаре, поэтому и уровни, и дельта цитокинов были высокими при еще небольшом поражении легких. У других больных цитокиновый шторм уже сыграл свою пагубную роль в отношении легких, но стал истощаться. Поэтому и уровни цитокинов, и влияние на них сорбции (величина дельты) становились менее заметными. При КТ-4 (по крайней мере, в нашем случае) шторм, вероятно, оказался совсем на излете, но органические поражения, в том числе легких, оказались весьма существенными. Уровень цитокинов при этом был минимальным, а их сорбция (судим по уровню дельты) не столь очевидна, как в начальной стадии процесса.

Сниженный уровень провоспалительных интерлейкинов в данном случае можно также объяснять нарастающим иммунопараличом вследствие усиления действия противовоспалительных цитокинов (IL-10, IL-11, IL-13 и др.), которые подавляют выработку моноцитами/макрофагами и лейкоцитами провоспалительных IL-6 и IL-18 [7]. Данное обстоятельство тоже не исключает правомочности использования комбинированной экстракорпоральной терапии и нацеливает на анализ ситуации и с этих позиций, тем более что в одном из наших предыдущих исследований мы уже отмечали взаимосвязь летальности с повышенными уровнями противовоспалительных цитокинов, но у пациентов с системным воспалительным ответом на фоне тяжелой механической травмы [3].

Это обстоятельство свидетельствует о том, что избранный нами эмпирический подход к проведению продолжительной гемокорригирующей терапии у пациентов данной категории в течение не 24, а 48 ч оказался правильным. Следует к тому же принимать во внимание, что при развернутой картине множественной органной дисфункции объектом лечебного воздействия могут быть не только цитокины, но и другие небезвредные для организма вещества (эндотоксины, активированные компоненты системы комплемента и т. д.) [5].

В рамках данного исследования мы не оценивали результаты воздействия примененной технологии

гемокоррекции на комплекс проявлений течения вызванной вирусом воспалительной реакции, как и не изучали влияние сроков ее инициации на результаты лечения, поскольку планируем сделать это в рамках следующей работы.

Известно, что гемофильтрация сама по себе обладает иммуномодулирующим действием при эффекте конвекции для удаления через гемофильтры средних молекул (молекулярной массой до 35 кДа), к которым традиционно относят и большинство интерлейкинов. Однако в реальности диапазон молекулярной массы цитокинов более широк – от 6 до 70 кДа [17]. В связи с этим изолированная гемофильтрация не обеспечивает полноценного иммуномодулирующего эффекта, для повышения ее эффективности рекомендуют использовать комбинированные методики экстракорпоральной гемокоррекции, в частности сочетание гемофильтрации и сорбции [22]. Поэтому в своей работе мы прибегли к использованию высокоадсорбтивной мембраны на основе AN-69 «Оксирикс», так как она позволяет осуществлять комбинированную терапию: одновременно удалять из крови пациентов как цитокины, так и липополисахарид [6, 14]. В недавно проведенном исследовании коллег из Италии показано, что использование такой технологии у пациентов с COVID-19 позволяет получить хороший клинический эффект [19].

Системное воспаление при COVID-19 является проявлением многофакторного процесса, включающего не только выброс интерлейкинов, но и активацию системы комплемента, что, наряду с прямым воздействием цитокинов, приводит к эн-

дотелиальной дисфункции, выраженной коагулопатии, нарушениям микроциркуляции [1, 4, 20]. О последствиях гиперкоагуляционного статуса на фоне системного воспаления и его роли в развитии мультиорганного повреждения (легкие, почки, ЦНС и пр.) уже много известно, как известна и возможность его коррекции с помощью методов гемокорригирующей терапии [9, 15]. Безусловно, ее следует позиционировать лишь в качестве одного из компонентов комплексной терапии, хотя ее значение для прерывания процесса воспаления переоценить трудно. Результаты нашей работы, продемонстрировавшие определенную значимую связь использования данной технологии с исходом, особенно в сочетании с тоцилизумабом, данное заключение подтверждают.

Выводы

1. По мере прогрессирования воспалительного процесса в легких уровень IL-6 и IL-18 снижается, что может быть проявлением истощения цитокинового шторма.
2. Использование продолжительной (24–48 ч) гемофильтрации с адсорбцией цитокинов позволяет снизить уровень IL-6 и IL-18. При этом надо учитывать, что чем сильнее поражены легкие, тем меньше значение, на которое происходит их снижение.
3. Величина дельты, отражающей снижение концентрации IL-6, значимо коррелирует с исходом, что дает возможность рекомендовать применение гемофильтрации с сорбцией не в дискретном, а в продолжительном режиме.

Благодарность за помощь в реализации технологии на практике всем сотрудникам отделения реанимации и интенсивной терапии № 4 для экстренной детоксикации Научно-клинического центра анестезиологии и реаниматологии Первого Санкт-Петербургского государственного университета им. акад. И. П. Павлова. *The authors express their deepest gratitude* for the help in implementing the technology in practice to all employees of Intensive Care Unit no. 4 for Emergency Detoxification of Research Clinical Center of Anesthesiology and Intensive Care, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии у них конфликта интересов.

Conflict of Interests. The authors state that they have no conflict of interests.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ладожская-Гапенко Е. Е., Храпов К. Н., Полушин Ю. С. и др. Оценка состояния микроциркуляции у больных с тяжелым течением COVID-19 методом капилляроскопии ногтевого ложа // Вестник анестезиологии и реаниматологии. – 2021. – Т. 18, № 1. // doi.org/10.21292/2078-5658-2021-18-1-27-36.
2. Мамаев А. Н., Кудлай Д. А. Статистические методы в медицине. – М.: Практическая медицина, 2021. – 136 с. ISBN 978-5-98811-635-6.
3. Полушин Ю. С., Афанасьев А. А., Пивоварова Л. П. и др. Клинико-диагностическое значение уровня прокальцитонина у пострадавших с тяжелой сочетанной травмой // Вестник анестезиологии и реаниматологии. – 2015. – Т. 12, № 1. – С. 46–53. https://doi.org/10.21292/2078-5658-2015-12-1-46-53.

REFERENCES

1. Ladozhskaya-Gapeenko E.E., Khrapov K.N., Polushin Yu.S. et al. Evaluation of microcirculation disorders in patients with severe COVID-19 by nail bed capillaroscopy. *Messenger of Anesthesiology and Resuscitation*, 2021, vol. 18, no. 1. (In Russ.) doi.org/10.21292/2078-5658-2021-18-1-27-36.
2. Mamaev A.N., Kudlay D.A. *Statisticheskiye metody v meditsine*. [Statistical methods in medicine]. Moscow, Prakticheskaya Meditsina Publ., 2021, 136 p. ISBN 978-5-98811-635-6.
3. Polushin Yu.S., Afanasyev A.A., Pivovarova L.P. et al. Clinical and diagnostic value of procalcitonin level in those suffering with severe concurrent trauma. *Messenger of Anesthesiology and Resuscitation*, 2015, vol. 12, no. 1, pp. 46–53. (In Russ.) https://doi.org/10.21292/2078-5658-2015-12-1-46-53.

4. Старшинова А. А., Кушнарева Е. А., Малкова А. М. и др. Новая коронавирусная инфекция: особенности клинического течения, возможности диагностики, лечения и профилактики инфекции у взрослых и детей // Вопросы современной педиатрии. – 2020. – Т. 19, № 2. – С. 123–131. <https://doi.org/10.15690/vsp.v19i2.2105>.
5. Arunachalam P.S., Wimmers F, Mok C.K.P. et al. Systems biological assessment of immunity to mild versus severe COVID-19 infection in humans // *Science*. – 2020. – № 369 (6508). – P. 1210–1220. doi: 10.1126/science.abc6261. Epub 2020 Aug 11. PMID: 32788292; PMCID: PMC7665312. <https://science.sciencemag.org/content/369/6508/1210>.
6. Broman M.E., Hansson F, Vincent J.L. et al. Endotoxin and cytokine reducing properties of the oXiris membrane in patients with septic shock: A randomized crossover double-blind study // *PLoS One*. – 2019. – Vol. 14, № 8. – P. e0220444. doi: 10.1371/journal.pone.0220444. PMID: 31369593; PMCID: PMC6675097. <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0220444>.
7. Carcillo J.A., Shakoory B. (2019) Cytokine storm and sepsis-induced multiple organ dysfunction syndrome. In: Cron R., Behrens E. (eds) *Cytokine Storm Syndrome*. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-22094-5_27
8. Chen N., Zhou M., Dong X. et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study // *Lancet*. – 2020. – № 395. – P. 507–513. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30211-7. [https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(20\)30211-7/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(20)30211-7/fulltext).
9. Ciceri F, Beretta L., Scandroglio A.M. et al. Microvascular COVID-19 lung vessels obstructive thromboinflammatory syndrome (MicroCLOTS): an atypical acute respiratory distress syndrome working hypothesis // *Crit. Care Resusc.* – 2020. – Vol. 22, № 2. – P. 95–97. Epub ahead of print. PMID: 32294809. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32294809/>
10. Ferrara J.L., Abhyankar S., Gilliland D.G. Cytokine storm of graft-versus-host disease: a critical effector role for interleukin-1 // *Transplant. Proc.* – 1993. – Vol. 25 (1 Pt 2). – P. 1216–1217. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8442093/>
11. Favalli E.G., Ingegnoli F., De Lucia O. et al. COVID-19 infection and rheumatoid arthritis: Faraway, so close! // *Autoimmun. Rev.* – 2020. – P. 102523. doi.org/10.1016/j.autrev.2020.102523. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1568997220300781?via%3Dihub>.
12. Huang C., Wang Y., Li X. et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China // *Lancet*. – 2020. – № 395. – P. 497–506. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30183-5. [https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(20\)30183-5/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(20)30183-5/fulltext).
13. Lai C., Shih T., Ko W. et al. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) and coronavirus disease-2019 (COVID-19): the epidemic and the challenges // *Int. J. Antimicrob. Agents*. – 2020. – № 55. – P. 105924. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2020.105924. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7127800/>
14. Malard B., Lambert C., Kellum J.A. In vitro comparison of the adsorption of inflammatory mediators by blood purification devices // *Intens. Care Med. Exp.* – 2018. – Vol. 6, № 1. – P. 12. Published 2018 May 4. doi:10.1186/s40635-018-0177-2. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5935601/>
15. Nadim M.K., Forni L.G., Mehta R.L. et al. COVID-19-associated acute kidney injury: consensus report of the 25th Acute Disease Quality Initiative (ADQI) Workgroup // *Nat. Rev. Nephrol.* – 2020. – Vol. 16, № 12. – P. 747–764. doi: 10.1038/s41581-020-00356-5. Epub 2020 Oct 15. Erratum in: *Nat Rev Nephrol.* 2020 Nov 2; PMID: 33060844; PMCID: PMC7561246. <https://www.nature.com/articles/s41581-020-00356-5>.
16. Shimizu M. Clinical features of cytokine storm syndrome. In: Cron R., Behrens E. editors. *Cytokine Storm Syndrome*. Cham: Springer. – 2019. – P. 31–42. doi: 10.1007/978-3-030-22094-5_3.
17. Stenken J.A., Poschenrieder A.J. Bioanalytical chemistry of cytokines – a review // *Anal. Chim. Acta*. – 2015. – № 853. – P. 95–115. doi:10.1016/j.aca.2014.10.009. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4717841/>
18. Tanaka T., Narazaki M., Kishimoto T. IL-6 in inflammation, immunity, and disease // *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* – 2014. – Vol. 6, № 10. – P. a016295. Published 2014 Sep 4. doi:10.1101/cshperspect.a016295. <https://cshperspectives.cshlp.org/content/6/10/a016295.long>.
19. Villa G., Romagnoli S., De Rosa S. et al. Blood purification therapy with a hemodiafilter featuring enhanced adsorptive properties for cytokine removal in patients presenting COVID-19: a pilot study // *Crit. Care*. – 2020. – № 24, 605. doi.org/10.1186/s13054-020-03322-6. <https://ccforum.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13054-020-03322-6>.
20. Wright F.L., Vogler T.O., Moore E.E. et al. Fibrinolysis shutdown correlation with thromboembolic events in severe COVID-19 Infection. // *J. Am. Coll. Surg.* – 2020. – Vol. 231, № 2. – P. 193–203.e1. doi:10.1016/j.jamcollsurg.2020.05.007 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7227511/>
4. Starshinova A.A., Kushnareva E.A., Malkova A.M. et al. New coronavirus infection: specific parameters of the clinical course, diagnosis opportunities, treatment and prevention of the infection in adults and children. *Voprosy Sovremennoy Pediatrii*, 2020, vol. 19, no. 2, pp. 123–131. (In Russ.) <https://doi.org/10.15690/vsp.v19i2.2105>.
5. Arunachalam P.S., Wimmers F, Mok C.K.P. et al. Systems biological assessment of immunity to mild versus severe COVID-19 infection in humans. *Science*, 2020, no. 369 (6508), pp. 1210–1220. doi: 10.1126/science.abc6261. Epub 2020 Aug 11. PMID: 32788292; PMCID: PMC7665312. <https://science.sciencemag.org/content/369/6508/1210>.
6. Broman M.E., Hansson F, Vincent J.L. et al. Endotoxin and cytokine reducing properties of the oXiris membrane in patients with septic shock: A randomized crossover double-blind study. *PLoS One*, 2019, vol. 14, no. 8, pp. e0220444. doi: 10.1371/journal.pone.0220444. PMID: 31369593; PMCID: PMC6675097. <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0220444>.
7. Carcillo J.A., Shakoory B. (2019) Cytokine Storm and Sepsis-Induced Multiple Organ Dysfunction Syndrome. In: Cron R., Behrens E. (eds) *Cytokine Storm Syndrome*. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-22094-5_27
8. Chen N., Zhou M., Dong X. et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet*, 2020, no. 395, pp. 507–513. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30211-7. [https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(20\)30211-7/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(20)30211-7/fulltext).
9. Ciceri F, Beretta L., Scandroglio A.M. et al. Microvascular COVID-19 lung vessels obstructive thromboinflammatory syndrome (MicroCLOTS): an atypical acute respiratory distress syndrome working hypothesis. *Crit. Care Resusc.*, 2020, vol. 22, no. 2, pp. 95–97. Epub ahead of print. PMID: 32294809. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32294809/>
10. Ferrara J.L., Abhyankar S., Gilliland D.G. Cytokine storm of graft-versus-host disease: a critical effector role for interleukin-1. *Transplant. Proc.*, 1993, vol. 25 (1 Pt 2), pp. 1216–1217. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8442093/>
11. Favalli E.G., Ingegnoli F., De Lucia O. et al. COVID-19 infection and rheumatoid arthritis: Faraway, so close! *Autoimmun. Rev.*, 2020, pp. 102523. doi.org/10.1016/j.autrev.2020.102523. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1568997220300781?via%3Dihub>.
12. Huang C., Wang Y., Li X. et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet*, 2020, no. 395, pp. 497–506. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30183-5. [https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(20\)30183-5/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(20)30183-5/fulltext).
13. Lai C., Shih T., Ko W. et al. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) and coronavirus disease-2019 (COVID-19): the epidemic and the challenges. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 2020, no. 55, pp. 105924. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2020.105924. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7127800/>
14. Malard B., Lambert C., Kellum J.A. In vitro comparison of the adsorption of inflammatory mediators by blood purification devices. *Intens. Care Med. Exp.*, 2018, vol. 6, no. 1, pp. 12. Published 2018 May 4. doi:10.1186/s40635-018-0177-2. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5935601/>
15. Nadim M.K., Forni L.G., Mehta R.L. et al. COVID-19-associated acute kidney injury: consensus report of the 25th Acute Disease Quality Initiative (ADQI) Workgroup. *Nat. Rev. Nephrol.*, 2020, vol. 16, no. 12, pp. 747–764. doi: 10.1038/s41581-020-00356-5. Epub 2020 Oct 15. Erratum in: *Nat Rev Nephrol.* 2020 Nov 2; PMID: 33060844; PMCID: PMC7561246. <https://www.nature.com/articles/s41581-020-00356-5>.
16. Shimizu M. Clinical features of cytokine storm syndrome. In: Cron R., Behrens E. editors. *Cytokine Storm Syndrome*. Cham: Springer, 2019, pp. 31–42. doi: 10.1007/978-3-030-22094-5_3.
17. Stenken J.A., Poschenrieder A.J. Bioanalytical chemistry of cytokines – a review. *Anal. Chim. Acta.*, 2015, no. 853, pp. 95–115. doi:10.1016/j.aca.2014.10.009. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4717841/>
18. Tanaka T., Narazaki M., Kishimoto T. IL-6 in inflammation, immunity, and disease. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, 2014, vol. 6, no. 10, pp. a016295. Published 2014 Sep 4. doi:10.1101/cshperspect.a016295. <https://cshperspectives.cshlp.org/content/6/10/a016295.long>.
19. Villa G., Romagnoli S., De Rosa S. et al. Blood purification therapy with a hemodiafilter featuring enhanced adsorptive properties for cytokine removal in patients presenting COVID-19: a pilot study. *Crit. Care*, 2020, no. 24, 605, doi.org/10.1186/s13054-020-03322-6. <https://ccforum.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13054-020-03322-6>.
20. Wright F.L., Vogler T.O., Moore E.E. et al. Fibrinolysis Shutdown Correlation with Thromboembolic Events in Severe COVID-19 Infection. *J. Am. Coll. Surg.*, 2020, vol. 231, no. 2, pp. 193–203.e1. doi:10.1016/j.jamcollsurg.2020.05.007 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7227511/>

21. Yasuda K., Nakanishi K., Tsutsui H. Interleukin-18 in Health and Disease // *Int. J. Mol. Sci.* – 2019. – Vol. 20, № 3. – P. 649. Published 2019 Feb 2. doi:10.3390/ijms20030649. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6387150/>
22. Zhou F., Peng Z., Murugan R. et al. Blood purification and mortality in sepsis: a meta-analysis of randomized trials // *Crit. Care Med.* – 2013. – Vol. 41, № 9. – P. 2209–2220. doi: 10.1097/CCM.0b013e31828cf412. PMID: 23860248; PMCID: PMC3758418. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3758418/>
23. https://www.isicem.org/16/programme/Video_PresTop.asp?PresId=27400
21. Yasuda K., Nakanishi K., Tsutsui H. Interleukin-18 in Health and Disease. *Int. J. Mol. Sci.*, 2019, vol. 20, no. 3, pp. 649. Published 2019 Feb 2. doi:10.3390/ijms20030649. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6387150/>
22. Zhou F., Peng Z., Murugan R. et al. Blood purification and mortality in sepsis: a meta-analysis of randomized trials. *Crit. Care Med.*, 2013, vol. 41, no. 9, pp. 2209–2220. doi: 10.1097/CCM.0b013e31828cf412. PMID: 23860248; PMCID: PMC3758418. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3758418/>
23. https://www.isicem.org/16/programme/Video_PresTop.asp?PresId=27400

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ:

«Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова» МЗ РФ, 197022, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6–8.

Полушин Юрий Сергеевич

академик РАН, профессор, заведующий кафедрой анестезиологии и реаниматологии, руководитель Научно-клинического центра анестезиологии и реаниматологии.
E-mail: polushin1@gmail.com

Акмалова Регина Валерьевна

научный сотрудник группы эфферентной гемокоррекции, врач – анестезиолог-реаниматолог Научно-клинического центра анестезиологии и реаниматологии.
E-mail: regina.akmalova@gmail.com

Соколов Дмитрий Васильевич

научный сотрудник группы эфферентной гемокоррекции Научно-клинического центра анестезиологии и реаниматологии.
E-mail: sokolovdv82@gmail.com

Бовкун Игорь Викторович

заведующий отделением реанимации и интенсивной терапии № 4 для экстренной детоксикации Научно-клинического центра анестезиологии и реаниматологии, заведующий отделением реанимации и интенсивной терапии для экстренной детоксикации Центра по лечению коронавирусной инфекции.
E-mail: rean@bk.ru

Гаврилова Елена Геннадьевна

кандидат медицинских наук, доцент кафедры анестезиологии и реаниматологии, заведующая отделением реанимации и интенсивной терапии № 2 Научно-клинического центра анестезиологии и реаниматологии.
E-mail: egavrilova70@mail.ru

Шлык Ирина Владимировна

доктор медицинских наук, профессор кафедры анестезиологии и реаниматологии, заместитель руководителя Научно-клинического центра анестезиологии и реаниматологии, заместитель главного врача университетской клиники по анестезиологии и реаниматологии.
E-mail: irina_shlyk@mail.ru

INFORMATION ABOUT AUTHORS:

Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, 6-8, Lva Tolstogo St., St. Petersburg, 197022

Yury S. Polushin

Academician of RAS, Professor, Head of Anesthesiology and Intensive Care Department, Head of Research Clinical Center of Anesthesiology and Intensive Care.
Email: polushin1@gmail.com

Regina V. Akmalova

Researcher of Efferent Hemocorrection Group, Anesthesiologist and Emergency Physician of Research Clinical Center of Anesthesiology and Intensive Care.
Email: regina.akmalova@gmail.com

Dmitry V. Sokolov

Researcher of Efferent Hemocorrection Group of Research Clinical Center of Anesthesiology and Intensive Care.
Email: sokolovdv82@gmail.com

Igor V. Bovkun

Head of Intensive Care Unit no. 4 for Emergency Detoxification of Research Clinical Center of Anesthesiology and Intensive Care, Head of Intensive Care Unit for Emergency Detoxification of Coronavirus Infection Treatment Center.
Email: rean@bk.ru

Elena G. Gavrilova

Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of Anesthesiology and Intensive Care Department, Head of Anesthesiology and Intensive Care Department no. 2 of Research Clinical Center of Anesthesiology and Intensive Care.
Email: egavrilova70@mail.ru

Irina V. Shlyk

Doctor of Medical Sciences, Professor of Anesthesiology and Intensive Care Department, Deputy Head of Research Clinical Center of Anesthesiology and Intensive Care, Deputy Head Physician of University Clinic in Anesthesiology and Intensive Care.
Email: irina_shlyk@mail.ru

Паршин Евгений Владимирович

доктор медицинских наук, профессор кафедры
анестезиологии и реаниматологии, руководитель научной
группы экстракорпоральной гемокоррекции.
E-mail: parshin756@gmail.com

Лапин Сергей Владимирович

кандидат медицинских наук, заведующий лабораторией
диагностики аутоиммунных заболеваний.
E-mail: svlapin@mail.ru

Ткаченко Ольга Юрьевна

кандидат медицинских наук, врач лаборатории
диагностики аутоиммунных заболеваний.

Evgeniy V. Parshin

Doctor of Medical Sciences, Professor of Anesthesiology
and Intensive Care Department, Head of Research Group
for Extracorporeal Hemocorrection.
Email: parshin756@gmail.com

Sergey V. Lapin

Candidate of Medical Sciences,
Head of Laboratory for Diagnosis of Autoimmune Diseases.
Email: svlapin@mail.ru

Olga Yu. Tkachenko

Candidate of Medical Sciences,
Doctor of Laboratory for Diagnosis of Autoimmune Diseases.