

**АНДИЖАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
ИНСТИТУТ**

**«УТВЕРЖДАЮ»
Председатель Экспертного совета
д.м.н., профессор**

_____ **М.М.Мадазимов**
«__» _____ **2025 г.**

КАСИМОВ НОСИРБЕК АДХАМОВИЧ

**СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ СПОСОБА ПЛАЗМОСОРБЦИИ ПРИ
ПЕЧЕНОЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ НА ФОНЕ МЕХАНИЧЕСКОЙ
ЖЕЛТУХИ И ОЦЕНКА ЕГО ЭФФЕКТИВНОСТИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ**
(монография)

Андижан – 2025

Составитель:

Касимов Носирбек Адхамович – PhD, доцент кафедры общей хирургии, анестезиологии-реаниматологии и оториноларингологии ФУФ АГМИ

Рецензенты:

Хакимов Доктор медицинских наук, профессор
Мурод заведующий кафедрой факультетской и
Шавкатович госпитальной хирургии №1 Ташкентской
медицинской академии

Абдуллажонов Доктор медицинских наук, профессор
Бахром кафедры хирургических болезней АГМИ
Рустамович

Монография утверждена и рекомендована к печати Экспертным советом Андижанского государственного медицинского института, протокол № 1 от 24 марта 2025 года.

**Секретарь ученого
совета, к.м.н., доцент**

Н.А.Насирдинова

АННОТАЦИЯ

По данным Всемирной организации здравоохранения «среди причин смерти, печеночная недостаточность стабильно занимает шестое место. При этом, ежегодно регистрируются 250000 новых случаев заболевания, а показатель трехмесячной летальности достигает 70%». Являясь одним из патогномоничных синдромов, сопровождающих практически все заболевания печени и желчевыводящих путей, «печеночная недостаточность, может быть следствием механической желтухи (45%), активации вирусного гепатита или цирротического процесса (19%), токсического поражения печени (4%), послеоперационного осложнения или травмы (3%)». При этом «гипербилирубинемия более 300 мкмоль/л является независимым фактором риска смертности, а среди других критериев неблагоприятного прогноза синдрома печеночной недостаточности выделяют желтуху более чем за 7 дней до энцефалопатии, возраст > 40 лет, протромбиновое время > 50 сек». Нарушение детоксикационного статуса гепатоцитов, малоэффективность стандартной медикаментозной терапии, обуславливают необходимость подключения вариантов экстракорпорального протезирования функции печени. В этой связи, на современном этапе развития гепатологии перспективными остаются исследования, направленные на совершенствование технологий экстракорпоральной детоксикации, в частности, разработку новых гемосорбентов высокого качества на основе специальных видов сырья и технологий, позволяющих улучшить качество удаления токсических метаболитов и снизить риск развития или прогрессирования полиорганной недостаточности.

В мировой практике продолжают исследоваться в экспериментальных условиях физико-химические характеристики, гистологические и морфологические результаты использования различных гемосорбентов, которые способны расширить возможности применения сорбционных методов очистки крови при печеночной недостаточности различного генеза. Не менее важен научный поиск способов детоксикационного воздействия на

систему гомеостаза путем применения новых отечественных сорбционных материалов, что позволит предупредить возникновение опасных осложнений, которые потенциально могут потребовать повторных госпитализаций и проведения радикальных методов лечения.

В настоящее время продолжается широкомасштабная работа по социальной защите населения и совершенствованию системы здравоохранения. В этом направлении, в частности, в улучшении качества лечения печеночной недостаточности экстракорпоральными методами детоксикации достигнуты положительные результаты. Вместе с тем для улучшения оказываемой специализированной медицинской помощи требуются научно-обоснованные результаты по разработке отечественных гемосорбентов и совершенствованию способов плазмсорбции. Реализация данных задач, в том числе, улучшение результатов применения экстракорпоральной детоксикации при лечении печеночной недостаточности различного генеза путем экспериментального обоснования эффективности отечественного гемосорбента и нового способа плазмсорбции является одним из актуальных направлений.

ANNOTATION

According to the World Health Organization, "liver failure consistently ranks sixth among causes of death. At the same time, 250,000 new cases of the disease are registered annually, and the three-month mortality rate reaches 70%. Being one of the pathognomonic syndromes accompanying almost all diseases of the liver and biliary tract, "liver failure may be a consequence of mechanical jaundice (45%), activation of viral hepatitis or cirrhosis (19%), toxic liver damage (4%), postoperative complications or trauma (3%)". At the same time, "hyperbilirubinemia over 300 $\mu\text{mol/l}$ is an independent risk factor for mortality, and other criteria for an unfavorable prognosis of liver failure syndrome include jaundice more than 7 days before encephalopathy, age > 40 years, prothrombin time > 50 sec". Violation of the detoxification status of hepatocytes, the

ineffectiveness of standard drug therapy, necessitate the inclusion of options for extracorporeal prosthetics of liver function. In this regard, at the current stage of development of hepatology, promising studies are aimed at improving extracorporeal detoxification technologies, in particular, the development of new high-quality hemosorbents based on special types of raw materials and technologies that can improve the quality of removal of toxic metabolites and reduce the risk of development or progression of multiple organ failure.

In world practice, physicochemical characteristics, histological and morphological results of the use of various hemosorbents continue to be studied under experimental conditions, which can expand the possibilities of using sorption methods of blood purification in liver failure of various origins. No less important is the scientific search for methods of detoxifying effects on the homeostasis system through the use of new domestic sorption materials, which will prevent the occurrence of dangerous complications that can potentially require repeated hospitalizations and radical treatment methods. Currently, large-scale work on social protection of the population and improvement of the healthcare system is ongoing. In this direction, in particular, positive results have been achieved in improving the quality of treatment of liver failure by extracorporeal detoxification methods. At the same time, scientifically substantiated results on the development of domestic hemosorbents and improvement of plasma sorption methods are required to improve the provided specialized medical care. The implementation of these tasks, including improving the results of extracorporeal detoxification in the treatment of liver failure of various origins by experimentally substantiating the effectiveness of a domestic hemosorbent and a new plasma sorption method is one of the current areas.

ANNOTATSIYA

Jahon sog'liqni saqlash tashkiloti ma'lumotlariga ko'ra, "jigar etishmovchiligi doimiy ravishda o'lim sabablari orasida oltinchi o'rinda turadi. Shu bilan birga, har yili 250 ming yangi kasallik holati qayd etilib, uch oylik o'lim darajasi 70 foizga

yetadi". Jigar va o't yo'llarining deyarli barcha kasalliklari bilan birga keladigan patognomonik sindromlardan biri bo'lib, "jigar etishmovchiligi obstruktiv sariqlik (45%), virusli gepatit yoki siroz jarayonining faollashishi (19%), jigarning toksik shikastlanishi (4%), operatsiyadan keyingi asoratlar yoki travma (3%) oqibati bo'lishi mumkin." Shu bilan birga, "300 mkmol / l dan ortiq giperbilirubinemiya o'lim uchun mustaqil xavf omilidir va jigar etishmovchiligi sindromining yomon prognozi uchun boshqa mezonlarga ensefalopatiyadan 7 kundan ko'proq vaqt oldin sariqlik, yoshi > 40 yosh, protrombin vaqti > 50 soniya kiradi." Gepatotsitlarning detoksifikatsiya holatining buzilishi va standart dori terapiyasining samarasizligi ekstrakorporeal jigar funksiyasini protezlash variantlarini kiritishni talab qiladi. Shu munosabat bilan, gepatologiya rivojlanishining hozirgi bosqichida ekstrakorporeal detoksifikatsiya texnologiyalarini takomillashtirishga qaratilgan tadqiqotlar, xususan, toksik metabolitlarni olib tashlash sifatini yaxshilaydigan va ko'p a'zolar etishmovchiligining rivojlanishi yoki rivojlanishi xavfini kamaytiradigan maxsus turdagi xom ashyo va texnologiyalar asosida yangi yuqori sifatli gemosorbentlarni ishlab chiqish istiqbolli bo'lib qolmoqda.

Jahon amaliyotida turli xil kelib chiqadigan jigar etishmovchiligi uchun qonni sorbsion tozalash usullarini qo'llash imkoniyatlarini kengaytira oladigan turli gemosorbentlarni qo'llashning fizik-kimyoviy xususiyatlari, gistologik va morfologik natijalari eksperimental sharoitlarda o'rganilmoqda. Yangi mahalliy sorbsion materiallardan foydalanish orqali gomeostaz tizimini zararsizlantirish usullarini ilmiy izlash muhim ahamiyatga ega, bu esa takroriy kasalxonaga yotqizishni va radikal davolash usullarini talab qilishi mumkin bo'lgan xavfli asoratlar paydo bo'lishining oldini oladi.

Ayni paytda aholini ijtimoiy muhofaza qilish, sog'liqni saqlash tizimini takomillashtirish borasida keng ko'lamlı ishlar izchil davom ettirilmoqda. Bu yo'nalishda, xususan, jigar yetishmovchiligini ekstrakorporeal detoksifikatsiya usullaridan foydalangan holda davolash sifatini oshirishda ijobiy natijalarga erishilmoqda. Shu bilan birga, ixtisoslashtirilgan tibbiy yordam ko'rsatishni

yaxshilash uchun mahalliy gemosorbentlarni yaratish va plazma sorbsiya usullarini takomillashtirishda ilmiy asoslangan natijalar talab etiladi. Bu vazifalarni amalga oshirish, jumladan, mahalliy gemosorbentning samaradorligini eksperimental asoslash va plazma sorbsiyasining yangi usuli orqali turli kelib chiqadigan jigar yetishmovchiligini davolashda ekstrakorporeal detoksifikatsiyadan foydalanish natijalarini yaxshilash bugungi kunning dolzarb yo‘nalishlaridan biridir.

СПИСОК УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ

ГС	– Гемосорбция
ЛО	– Лазерное облучение
ЛД ₅₀	– Летальная доза (50% подопытных животных)
МЖ	– Механическая желтуха
МС	– Метиленовый синий
ОЖП	– Общий желчный проток
ПОЛ	– Перекисное окисление липидов
ПОН	– Полиорганная недостаточность
ПС	– Плазмсорбция
ПЭ	– Печеночная энцефалопатия
СМ	– Среднемолекулярные олигопептиды
УНПГС	– Углеродный нанопористый гемосорбент
ЭД	– Экстракорпоральная детоксикация
ЭИ	– Эндогенная интоксикация

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ (аннотация диссертации PhD)	13
ГЛАВА I. Применение сорбентов в медицине.	15
§1.1. Эндогенная интоксикация: патофизиологические основы и классифицирование.	17
1.1.1. Виды и классифицирование эндотоксинов.	21
§1.2. Сорбенты, применяемые в медицине и их классифицирование.	24
1.2.1. Сорбенты на основе полимеров	26
1.2.2. Сорбенты на основе углеродных материалов.	27
§1.3. Резюме по главе.	32
ГЛАВА II. ХАРАКТЕРИСТИКА МАТЕРИАЛА И ПРИМЕНЕННЫХ МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ	34
§2.1. Физико-химические характеристики нового углеродного сорбента изучены с использованием стандартных методик, принятых в аналитической химии, а также физико-химические исследования согласно ГОСТу.	35
§2.2. Методы медицинских исследований в эксперименте	39
§2.3. Методика морфологических исследований	46
§2.4. Методики статистической обработки материала	46
ГЛАВА III. ОЦЕНКА БИОЛОГИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ НОВОГО УГЛЕРОДНОГО ГЕМОСОРБЕНТА	47
§3.1. Оценка биосовместимости нового углеродного гемосорбента	48
§3.2. Результаты макроскопических и микроскопических морфологических исследований	54
§3.3. Изучение мутагенного действия УНПГС	61
3.4. Резюме по главе	64
ГЛАВА IV. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ НОВОГО СПОСОБА ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОЙ ДЕТОКСИКАЦИИ ПРИ ПЕЧЕНОЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ НА ФОНЕ МЕХАНИЧЕСКОЙ ЖЕЛТУХИ	65
§4.1. Изучение эффективности УНПГС в исследованиях <i>in vitro</i>	65
§4.2. Результаты доклинических исследований <i>ex vivo</i>	68
§4.3. Доклиническая оценка эффективности УНПГС в экспериментах <i>in vivo</i>	76
4.4. Резюме по главе	95
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	97
ВЫВОДЫ	110
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ	112

Предисловие

Большинство клинических исследований по органозамещению и органопротекции преследуют несколько целей: удаление токсинов с созданием условий для регенерации собственных гепатоцитов; решения вопроса о трансплантации; создание условий для восстановления функции донорской печени после трансплантации. Методики экстракорпорального протезирования функции печени в комплексе лечения печеночной недостаточности подразделены, главным образом, на два подхода: с применением биологических субстанций и без таковых. Если биологические системы включают гепатоциты или целые органы (имеющие человеческое происхождение или полученные от животных), то подход без биологических субстратов базируется на диализной, фильтрационной или адсорбционной методиках. В настоящее время для проведения гемо- и плазмсорбции широко используются макро- и микропористые углеродные, углеродно-минеральные и иммуносорбенты, которые должны отвечать всем требованиям, обусловленным их контактом с кровью пациента. По данным A.S. Morozov et al. (2016) «при сравнении сорбентов обращают внимание на их механическую прочность, сорбционную активность, гранулометрический состав, степень повреждения форменных элементов крови и отсутствие токсических свойств. При этом, эффективность адсорбции определяется степенью активности сорбционного материала к токсинам белковой структуры, химической природой их поверхности, соразмерностью молекул адсорбируемых веществ и мезопор применяемого сорбента». По мнению K. Stahl et al. (2019) «решающим преимуществом сорбционных и плазмообменных методов лечения печеночной недостаточности является их широкая доступность и относительно простая реализация».

В настоящее время поддержание функции печени при печеночной недостаточности имеет особую актуальность и остается одним из перспективных направлений в гепатологии. Недавно опубликованное проспективное рандомизированное контролируемое исследование F.S. Larsen

et al. (2019) продемонстрировало, что «терапевтический плазмообмен» не только улучшил гемодинамические и биохимические параметры крови у пациентов с печеночной недостаточностью, но и общую больничную выживаемость на 10%. J.Damsgaard et al. в 2019 году опубликовали первый в мире случай успешного лечения болезни Вильсона с применением плазмафереза и пенициллина, как промежуточной меры, которая привела к улучшению состояния пациента без необходимости в трансплантации печени. В случае острого и сверхострого течения печеночной недостаточности в некоторых клиниках используют непрерывный гемодиализ, который по мнению авторов «эффективно подвергает диализу молекулы аммиака, однако эффективность удаления напрямую зависит от потока диализата и поверхности фильтра». Различные серии случаев и исследования показали, что сорбционные методы лечения безопасны для пациентов с печеночной недостаточностью и могут значительно снизить как концентрацию аммиака, так и степень печеночной энцефалопатии. Плазмасорбция объединяет в себе два основных лечебных принципа в одном вмешательстве: замещение выделительной и метаболической функций печени и удаление вредных циркулирующих токсинов и цитокинов. Свертывание плазмы, которая часто сильно нарушена, также улучшается за счет плазмасорбции без какой-либо объемной перегрузки. К нерешенным проблемам экстракорпоральной детоксикации можно отнести совместимость адсорбентов с кровью и специфичность элиминационного эффекта. Большинство немодифицированных сорбентов «агрессивны» по отношению к форменным элементам крови и «слепы» по отношению к адсорбирующим веществам. В настоящее время определены некоторые пути решения этих проблем. Так, один из них - создание покрытий гранул сорбента или широкое применение перфузии, при которых полностью или частично исключается контакт форменных элементов крови с адсорбентами.

Проведенный анализ литературы свидетельствует о том, что наиболее актуальными исследованиями по улучшению результатов лечения синдрома

печеночной недостаточности продолжают оставаться разработка новых технологий, направленных на создание сорбционного материала для аппаратов экстракорпоральной детоксикации, особенно в плане предупреждения дальнейшего усугубления эндогенной интоксикации, связанной как с истощением общего пула белка организма, так и с присоединением бактериальной инфекции. При этом, основное внимание должно уделяться разработке и внедрению в клиническую практику отечественных сорбентов, отвечающих следующим требованиям: высокая совместимость с кровью и другими биологическими жидкостями пациента, более высокая скорость очистки от всех видов липофильных и гидрофобных веществ и инертность к тканям внутренних органов. Вышеизложенное диктует необходимость продолжения научных разработок в этом направлении.

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность и востребованность темы. По данным Всемирной организации здравоохранения «среди причин смерти, печеночная недостаточность стабильно занимает шестое место. При этом, ежегодно регистрируются 250000 новых случаев заболевания, а показатель трехмесячной летальности достигает 70%»¹. Являясь одним из патогномичных синдромов, сопровождающих практически все заболевания печени и желчевыводящих путей, «печеночная недостаточность, может быть следствием механической желтухи (45%), активации вирусного гепатита или цирротического процесса (19%), токсического поражения печени (4%), послеоперационного осложнения или травмы (3%)»². При этом «гипербилирубинемия более 300 мкмоль/л является независимым фактором риска смертности, а среди других критериев неблагоприятного прогноза синдрома печеночной недостаточности выделяют желтуху более чем за 7 дней до энцефалопатии, возраст > 40 лет, протромбиновое время > 50 сек».³ Нарушение детоксикационного статуса гепатоцитов, малоэффективность стандартной медикаментозной терапии, обуславливают необходимость подключения вариантов экстракорпорального протезирования функции печени. В этой связи, на современном этапе развития гепатологии перспективными остаются исследования, направленные на совершенствование технологий экстракорпоральной детоксикации, в частности, разработку новых гемосорбентов высокого качества на основе специальных видов сырья и технологий, позволяющих улучшить качество удаления токсических метаболитов и снизить риск развития или прогрессирования полиорганной недостаточности.

В мировой практике продолжают исследоваться в экспериментальных

¹ Byass P. The global burden of liver disease: a challenge for methods and for public health. BMC Med. 2014 Sep 18;12:159. doi: 10.1186/s12916-014-0159-5.

² Busch M, Wedemeyer HH. Acute liver failure-The importance of rapid diagnostics and early initiation of treatment. Internist (Berl). 2020;61(11):1151-1162.

³ Vollmar J, Stern F, Lackner K, Mildenerger P, et al. Urinary ethyl glucuronide (uEtG) as a marker for alcohol consumption in liver transplant candidates: a real-world cohort. Z Gastroenterol. 2020;58(1):30-38.

условиях физико-химические характеристики, гистологические и морфологические результаты использования различных гемосорбентов, которые способны расширить возможности применения сорбционных методов очистки крови при печеночной недостаточности различного генеза. Не менее важен научный поиск способов детоксикационного воздействия на систему гомеостаза путем применения новых отечественных сорбционных материалов, что позволит предупредить возникновение опасных осложнений, которые потенциально могут потребовать повторных госпитализаций и проведения радикальных методов лечения.

В настоящее время продолжается широкомасштабная работа по социальной защите населения и совершенствованию системы здравоохранения. В этом направлении, в частности, в улучшении качества лечения печеночной недостаточности экстракорпоральными методами детоксикации достигнуты положительные результаты. Вместе с тем для улучшения оказываемой специализированной медицинской помощи требуются научно-обоснованные результаты по разработке отечественных гемосорбентов и совершенствованию способов плазмосорбции.

ГЛАВА I. ПРИМЕНЕНИЕ СОРБЕНТОВ В МЕДИЦИНЕ.

Экологические катастрофы, связанные с загрязнением окружающей среды производственными ядохимикатами и бытовыми отходами и как следствие возрастание различных заболеваний, которые сопровождаются аккумуляцией в организме человека токсических веществ, потребовали кардинального изменения подходов к проблеме сохранения гомеостаза, в связи с малой эффективностью фармакотерапии (Ивашкин В.Т. , 2005; YangLi, DianaBoraschi, 2016).

В этой связи, одним из решений данной проблемы явилось, использование в медицинской практике методов сорбционной детоксикации организма, к которым относятся гемосорбция, удаление токсинов из плазмы, лимфы (плазмсорбция, лимфосорбция); энтеросорбция (детоксикация организма через желудочно-кишечный тракт), аппликационное применение сорбентов (вulnerableсорбция)(Касымов Ш.З., 1989; Корниенко В.И., 1993; Ткачев С.И., 2005; Пасечник И.Н., Кутепов Д.Е., 2009; Александрова И.В., 2009; Еремеева Л.Ф., Ямпольский А.Ф., 2010; Заривчацкий М.Ф., 2014; Титова Г.В., Фомин А.М., 2019; Kjaergard LL., 2003; Senf R. et al., 2004; Hassanein T, 2007; Pless G., 2007; Atienza Merino G., 2010; Larsen F.S., 2010; Saliba F ., 2013; Nevens F., Laleman W., 2012; Lee KC, 2016; La Manna G., 2018). Каждый из этих методов сорбционной детоксикации, основан на способности активных сорбентов удалять из организма вредные вещества различной природы при определенных заболеваниях (онкологических, аутоиммунных, инфекционных, аллергических и т. д.)(Заривчацкий М.Ф., 2014; Фомин А.М., Титова Г.В. , 2015-2018; VandeKerkhove M.P., 2002; Tritto G., 2012; Vaid A., 2012; Stutchfield VM., 2016).

Одним из способов напрямую зависящим от качественных характеристик и технологических аспектов медицинских сорбентов, является гемосорбция (ГС). Обладая способностью адсорбировать различные токсические вещества ГС получила широкое использование у больных с ОПН начиная с 60-х годов XX века, (Буянов В.С., Ковалев А.И., 1983; Лопухин Ю.М., Молоденков М.Н., 1985; Пасечник И.Н., Кутепов Д.Е., 2009; Николаев В.Г., 2011). Однако, существенными препятствиями к применению гемосорбции является травма форменных элементов крови, особенно тромбоцитов (снижение уровня тромбоцитов может составлять от 15 до 50% от исходного уровня), во время перфузии через сорбент, что создает опасность развития тяжелых осложнений и может привести к “тромбозу” сорбента (Лопухин Ю.М. с соавт., 1985).

В тоже время, ГС не утратила своих позиций и по настоящее время, так как в целях улучшения биосовместимости угольных сорбентов были предложены различные варианты модификации: гепаринизация гранул, покрытие альбумином, декстраном (Sarnatskaya VV. et al., 2002, 2003; Николаев В.Г., 2011). В настоящее время проводятся исследования по повышению эффективности этого метода детоксикации (Howell S.A. et al., 2016).

Применение сорбентов прежде всего, направлено на нейтрализацию негативного воздействия эндо- и экзотоксинов на организм человека [Маев И.В. с соавт., 2002; Александрова И.В. с соавт., 2006; Атаханов А.А. с соавт., 2010; Юнусов Х. Э., 2011; Пьянова Л. Г., 2016; Лузянина Л. С., 2018; Howell SA. et al., 2016; Нгуен Ван Хуи, 2020]. Различные нарушения «биохимического гомеостаза» не могут не отразиться на системах детоксикации, экскреции, иммунитета организма. Так называемый «токсический прессинг», приводит к каскаду последующих расстройств, с которыми организм не в состоянии справиться самостоятельно или с помощью фармакотерапии, что зачастую способствует фатальному исходу или к развитию состояния хронической интоксикации, усугубляющей течение патологических процессов.

Как известно, одним из перспективных направлений в профилактике и лечении болезней желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) различной этиологии является применение энтеросорбентов и сорбционных методов детоксикации. Применяемые на сегодняшний день энтеросорбенты, которые представляют собой комплексные соединения органических и неорганических веществ, обладают способностью связывать токсины различного происхождения и препятствовать всасыванию их из ЖКТ. [Пьянова Л. Г., 2016].

Одной из актуальных задач органопротекции при отравлении организма является разработка бионанотехнологии на основе нанодисперсного углерода (продукта термического разложения углеводородного сырья нефтяного и каменноугольного происхождения и природного газа). При этом, стартовым материалом в генезисе нефти и газа являются органические осадки крупных водоемов (планктон, водоросли, микроорганизмы, мелкие животные), которые, погибая, образуют слой донного ила. По мере его уплотнения ускоряются биохимические процессы, способствующие образованию газообразных и жидких углеводородов.

Создание широкого ассортимента сорбентов существенно облегчается разнообразием исходных углеродсодержащих материалов и методов переработки, позволяющих трансформировать их в пористые углеродные материалы [Пьянова Л. Г., 2016].

Следует особо отметить, что к сорбентам медицинского назначения, которые контактируют с биологическими жидкостями организма, предъявляются особые требования по качеству, а именно, высокая степень химической очистки, минимальное содержание примесей, нетоксичность, большая механическая прочность и гладкий рельеф поверхности гранул, отсутствие пылеобразования (выделения ультрадисперсных частиц), высокая сорбционная емкость по отношению к удаляемым веществам, совместимость с кровью и инертность по отношению к форменным элементам крови [Кугатов. П. В., 2013; Манина Т. С., 2013; Сагидуллин А. К., 2018; Нгуен Ван Хуи, 2020; Wenqiong Su, Xianting Ding, 2015; De Simone W, 2017; Donati G., 2017].

§1.1. Эндогенная интоксикация: патофизиологические основы и классифицирование.

Как известно, современное понятие об эндогенной интоксикации (ЭИ) связано, в первую очередь, с развитием полиорганной недостаточности (ПОН) на фоне ксенобиотика или активации патологического эндогенного агента и как следствие одномоментное или последовательное наступление несостоятельности сердца, легких, печени, почек, мозга, что приводит к высокой летальности — от 60 до 80% [Tugtekin I, 2001; Dubin A., 2008; Wenqiong Su, Xianting Ding, 2015; Yang Li, Diana Boraschi, 2016; Vogt A , 2016; Dullah EC, Ongkudon CM., 2017].

Считается достоверно установленным фактом, что в исходе ПОН существенную роль играют несостоятельность печени, почек, пищеварительного тракта (в 60%, 56% и 53% случаев соответственно).

Тем ни менее, следует отметить, что клиническая картина нарушений метаболизма при печеночно-почечной дисфункции, не проявляется так ярко, как нарушения дыхания и кровообращения, особенно на ранних этапах своего прогрессирования [Cook R., Cook D.J., Tilley J. et al., 2000; Wang X, 2015]. В связи с чем, диагностика нарушенного метаболизма, как правило, опаздывает и зачастую, приводит к констатации фактов при далеко зашедших или уже необратимых изменениях, определяющих исход заболеваний.

Большинством клиницистов ЭИ определяется «как неспецифический по большинству клинико-биохимических и иммунологических проявлений синдром несоответствия между образованием и выведением как продуктов «нормального» обмена, так и веществ нарушенного метаболизма» [Ince С., 2005; Wenqiong Su, Xianting Ding, 2015; Wang Z.L., 2016; Fukui Н. , 2016; Dullah ЕС, Ongkudon СМ., 2017].

С. Ince (2005) высказывает предположение, что сущность ЭИ базируется на концепции представления ее как отражения последствий нарушения макроциркуляции и микрогемолимфоциркуляции, газообмена и кислородного бюджета, иммунитета и противoinфекционной «защиты» при несостоятельности управления интеграцией этих процессов [Ince С., 2005]. При этом, по мнению автора, расстройства метаболизма протекают в соответствии с характером повреждающего фактора и ответной реакцией на него системы макро- и микроциркуляции в соответствии с нарушением транспорта и экстракцией тканями кислорода, активацией симпатико-адреналовой системы, что приводит к типичному для критического состояния синдрому гиперметаболизма- потребности тканей в различных субстратах обеспечения компенсаторно-приспособительных механизмов сохранения энергии, предотвращения распада белков, снижения утилизации жирных кислот, увеличения глюконеогенеза и толерантности к глюкозе, интенсификации проницаемости эндотелия [Ince С., 2005].

В зависимости от преобладания механизма формирования ЭИ условно выделяют такие ее формы: ретенционную, обменную, резорбционную. Ретенционный механизм предусматривает преимущественно нарушение естественного механизма удаления, как правило, конечных продуктов метаболизма низкомолекулярных соединений (размер молекул — менее 10 нм, молекулярная масса [ММ] — менее 500 дальтон). Основным путем их элиминации является почечная фильтрация и экскреция. Обменный механизм характеризуется накоплением промежуточных продуктов метаболизма (размер молекул — более 10 нм, ММ — менее 500 дальтон), элиминация которых осуществляется печенью и через пищевой канал [Саенко В.Ф. с соавт., 2003].

Резорбционная ЭИ сопровождается накоплением токсинов с ММ более 500 дальтон и размером молекул более 200 нм вследствие всасывания продуктов разрушения тканей и клеток. Инфекционный компонент ЭИ обусловлен микробными токсинами, включающими молекулы до 200 нм с ММ до 500 дальтон [Саенко В.Ф. с соавт., 2003].

По мнению П.И. Миронова, В.Ф. Альес (2000) ЭИ развивается или как результат разбалансировки составляющих систему детоксикации, или при несостоятельности одного из звеньев, или одновременно всех ее составляющих. Это определяет сущность ЭИ, ее общие и отличительные черты в зависимости от основной причины, т.е. этиологии заболевания, а также степень ее тяжести соответственно числу органов и составных частей детоксикации, вовлеченных в патологический процесс [Миронов П.И., Альес В.Ф., 2000].

Изучение токсичности и потенциальных рисков созданных наночастиц имеет особое значение в наномедицине (YangLi, DianaBoraschi, 2016). По мнению авторов, эндотоксин, распространенный контаминант бактериального происхождения, обладает биологическими эффектами, которые могут маскировать истинные биологические эффекты наночастиц, если его присутствие не учитывается. В своих публикациях, авторы сообщают об особенностях загрязнения наночастиц эндотоксином и различных биологических эффектах наночастиц, загрязненных эндотоксином. Авторы провели анализ различных способов устранения эндотоксинового загрязнения наночастиц. Хотя универсального метода эффективного удаления эндотоксина из наночастиц не существует, в каждом конкретном случае можно найти конкретные решения.

Основным органом детоксикации организма (участие в обезвреживании эндогенных токсических продуктов клеточного метаболизма или веществ, которые образуются микробами в кишечнике), является печень, которая помимо этой функции осуществляет и множество других по поддержанию гомеостаза. Как известно, при повреждении печени происходит накопление токсических веществ и продуктов распада органа, представленных водорастворимыми (аммиак, фенилаланин, тирозин) и альбумин связанными токсинами (жирные кислоты, эндогенные бензодиазепины, желчные кислоты, билирубин, ароматические соединения, эндогенные вазодилататоры) (Семёнов В.Б., 2012; Натальский А. А., 2014; Синьков С.В., 2017; Nadalin S. et al., 2007; Li R, 2016; Sarin SK, 2016; Yan BZ, 2016). Данные вещества являются причиной развития токсического холестаза, ангиохолита и как следствие прогрессирования печеночной энцефалопатии (ПЭ), гепаторенального синдрома (ГРС), сердечно-сосудистой дисфункции и во многих случаях ПОН (Назыров Ф.Г. с соавт., 2002-2011; Пасечник И.Н., Кутепов Д.Е., 2009; Радченко В.Г. с соавт., 2005; Шерлок Ш. 2002; Gerber T., Schomerus H., 2000; Nadalin S. et al., 2007; Ibadov R. A., 2011; Lee WM., 2012; He L., 2015; Onodera M., 2015; Edmark C. 2016; González-Navajas J.M., 2016).

Патогенетические аспекты ПЭ и острой печеночной недостаточности недостаточно изучены. Наибольшее распространение получили теории, связанные с дисфункцией нейромедиаторных систем: токсическая, теория ложных нейротрансмиттеров, теория нарушения обмена γ -аминомасляной кислоты (ГАМК) (Надинская М.Ю., 2004; Топорков А.С., 2005; Butterworth R.F., 2008; Häussinger D., 2010; Felipo V., 2012).

Так, токсическая теория связывает развитие ПЭ за счет чрезмерного образования аммиака в толстой кишке из продуктов белкового распада под действием микрофлоры. В норме, аммиак по воротной вене поступает в печень, где образуется мочевины, в результате же поражения последней, метаболическая активность аммиака значительно снижается и свободный аммиак попадая в общий кровоток по порто – кавальным соустьям и проникает через гематоэнцефалический барьер, способствует проникновению нейротоксических ароматических кислот в центральную нервную систему, приводя к отеку и повреждению астроцитов (Пасечник И.Н., Кутепов Д.Е., 2009; Радченко В.Г. соавт., 2005; Шерлок Ш. 2002; Надинская М.Ю., 2004; Топорков А.С., 2005; Nadalin S. et al., 2007; Butterworth R.F., 2008; Häussinger D., 2010).

Другая теория ложных нейротрансмиттеров объясняет развитие ПЭ и фульминантной печеночной недостаточности снижением аминокислот в результате повышенного катаболизма белка и накопления в крови ароматических аминокислот (фенилаланина, тирозина, триптофана), которые поступая в головной мозг вызывая торможение ферментной системы. В результате происходит угнетение нервной системы и развитие ПЭ (Felipo V. et al., 2012; Méndez M. et al., 2011).

Следующей теорией является гипотеза об усиленной ГАМК – эргической передачи. В результате печеночной недостаточности ГАМК, образуемая в кишечнике, по шунтам попадает в кровоток, а затем в головной мозг, приводя к развитию ПЭ (Felipo V. et al., 2012; Méndez M. et al., 2011).

Таким образом, одномерные и многомерные исследования, проводимые в рамках развития полиорганной дисфункции показали, что инфекция или токсические продукты распада или недостаточной утилизации в печени, являются независимыми предикторами неблагоприятного исхода (т.е. смерти или трансплантации) (Fernández J. et al., 2016; Kandiah PA., 2016; Shen Y , 2016; Shi X.L. 2016; Zider et al., 2016).

1.1.1. Виды и классифицирование эндотоксинов.

Токсическая концентрация в организме может составлять десятки наименований, а перечень веществ аутоинтоксикации может быть увеличен в сотни тысяч раз [YangLi, DianaBoraschi, 2016; Chen HL, 2018].

Условно можно выделить 5 классов эндотоксинов: вещества нормального метаболизма в нефизиологических концентрациях (мочевина, лактат, глюкоза, креатинин, билирубин и др.); продукты нарушенного метаболизма (альдегиды, кетоны, кислоты); иммунологически чужеродные вещества (глико- и липопротеиды, фосфолипиды); ферменты; медиаторы воспаления, в том числе цитокины, биогенные амины, антитела, циркулирующие иммунные комплексы, молекулы адгезии, продукты деградации белков и другие (Dullah EC, Ongkudon CM., 2017).

Также классифицировать эндотоксины можно по причинно-следственной связи приводящей к эндогенной интоксикации, а именно:

Бактериальные эндотоксины.

Продукты нормального обмена веществ в высокой концентрации.

Активированные ферменты, которые способны повреждать ткани.

Медиаторы воспаления.

Продукты перекисного окисления.

Среднемолекулярные вещества различной природы.

Ингредиенты нежизнеспособных тканей.

Таким образом, клиницисты выделяют ряд состояний, при которых возможно поражение организма эндотоксинами. К ним относятся: все виды шока, ожоговая болезнь, тиреотоксикоз, перитонит и др.

Интересной является гипотеза влияния эндотоксина на нейродегенерацию, в которой высказывается предположение, что эндотоксин вызывает или способствует нейродегенерации (Guy C Brown, 2019). Эндотоксин - это липополисахарид (ЛПС), составляющий большую часть внешней мембраны грамотрицательных бактерий, присутствующий в высоких концентрациях в кишечнике, деснах, коже и других тканях во время бактериальной инфекции. Уровни эндотоксина в плазме крови обычно низкие, но повышаются во время инфекций, воспаления кишечника,

заболеваний десен и нейродегенеративных заболеваний. Добавление эндотоксина в таких количествах в кровь здоровых людей вызывает системное воспаление и активацию микроглии мозга. Добавление высоких уровней эндотоксина в кровь или тело грызунов вызывает активацию микроглии, прайминг и / или толерантность, дефицит памяти и потерю синапсов и нейронов мозга. Эндотоксин способствует агрегации β -амилоида и тау-белка и невропатологии, предполагая возможность того, что эндотоксин синергетически взаимодействует с различными агрегируемыми белками, вызывая различные нейродегенеративные заболевания. Уровни эндотоксинов в крови и головном мозге повышаются при болезни Альцгеймера, которая ускоряется из-за системных инфекций, включая заболевание десен. Эндотоксин связывается напрямую с АРОЕ, а вариант АРОЕ4 повышает чувствительность к эндотоксину и предрасполагает к болезни Альцгеймера. Проницаемость кишечника увеличивается на ранних стадиях болезни Паркинсона, а инъекция эндотоксина мышам вызывает выработку и агрегацию альфа-синуклеина, а также потерю дофаминергических нейронов в черной субстанции. Изменения микробиома кишечника при болезни Паркинсона и изменение видов бактерий, продуцирующих эндотоксины, могут повлиять на болезнь у пациентов и мышей. Эндотоксин крови повышен при боковом амиотрофическом склерозе, а эндотоксин способствует агрегации TDP-43 и невропатологии. Периферические заболевания, повышающие уровень эндотоксина в крови, такие как сепсис, СПИД и печеночная недостаточность, также приводят к нейродегенерации. Эндотоксин прямо и косвенно активирует микроглию, которая повреждает нейроны через оксид азота, оксиданты и цитокины, а также за счет фагоцитоза синапсов и нейронов. Гипотеза эндотоксина не доказана, но если она верна, то нейродегенерация может быть уменьшена за счет снижения уровня эндотоксина или вызванного эндотоксином нейровоспаления. Эндотоксин прямо и косвенно активирует микроглию, которая повреждает нейроны через оксид азота, оксиданты и цитокины, а также за счет фагоцитоза синапсов и нейронов. Гипотеза эндотоксина не доказана, но если она верна, то нейродегенерация может быть уменьшена за счет снижения уровня эндотоксина или вызванного эндотоксином нейровоспаления (Guy C Brown, 2019).

Условно показатели, отражающие состояние системы детоксикации, можно разделить на:

- биохимические маркеры ЭИ;

- иммунологические маркеры ЭИ;
- интегральные маркеры ЭИ.

Важнейшей закономерностью формирования нарушений метаболизма при ПОН следует считать комбинированную гипоксию и ее последствия как отражение нарушения взаимосвязи важнейших систем гомеостаза: дыхательной, циркуляторной, метаболической [Ince С., 2005; Ma Н., 2016].

Поэтому маркером ЭИ является парциальное давление кислорода как критерий соответствия объемного кровотока потребностям тканей в кислороде. Причем умеренный ацидоз оказывает защитное действие, угнетая активность фосфолипаз, образование цАМФ, активируя окисление сукцината в митохондриях мышц, печени, почек, мозга [Ince С., 2005]. Выраженный ацидоз оказывает повреждающее действие на клеточные процессы, в том числе ингибирование ферментов гликолиза, увеличение энергодефицита, активацию перекисного окисления липидов (ПОЛ) с последующим ухудшением сократимости миокарда.

Универсальными маркерами ЭИ, отражающими уровень энергодефицита и недостаток кислорода, являются молочная кислота (МК), пировиноградная кислота (ПВК) и аденозотрифосфатаза (АТФ) клеток. Так, накопление МК от 2,1 ммоль/л и выше считают прогностически неблагоприятным признаком. Триада: повышение концентрации сахара, лактата и пирувата отражает энергетическую несостоятельность клетки. Увеличение концентрации МК без повышения ПВК — свидетельствует о повреждении ферментативных клеточных процессов [Ince С., 2005].

Следствием гипоксии является целая цепь патологических событий нарушения сопряжения метаболизма белков, углеводов, липидов. Среди этих процессов центральное место занимает нарушение обмена белков, поскольку белок обеспечивает онкотическую, транспортную, осмотическую, эстеразную, эндопептидазную функции, а также регуляцию активности ферментных систем (Colomina-Climent F., 2016).

Поэтому концентрацию плазматического альбумина можно рассматривать как важный маркер ЭИ, а уменьшение концентрации общего белка за счет альбуминовой фракции — как отражение использования альбумина, как важнейшего фактора плазматической детоксикации, связывания и удаления токсинов. Снижение общего уровня белка до 45 г/л (65080 г/л в контроле) считают неблагоприятным прогностическим признаком, что свидетельствует о тяжелой эндогенной интоксикации.

Универсальными маркерами эндогенной интоксикации считают среднемолекулярные олигопептиды (СМ) — вещества массой от 500 до 5000 дальтон. По своей природе СМ относятся к белковым токсинам с высоким содержанием дикарбоновых и низким — ароматических кислот. Особенностью токсического действия средних молекул является то, что они обладают прямым мембранотоксическим действием и инициируют проявление пептидов, по структуре близких к биорегуляторам. Среди них выделяют «гепатоцеребральные», «уремические», «ишемические», «ожоговые» СМ[Саенко В.Ф. с соавт., 2003].

В 80% случаев СМ — это белки и продукты их нарушенного метаболизма, в том числе продукты гидролиза фибриногена, глобулинов, катаболизма гликопротеидов, олигосахара, нуклеотиды, а также гормоны и их фрагменты (АКТГ, ангиотензин, эндорфины, энкефалины). В состав СМ входит ряд биологически активных веществ, таких как паратгормон, нейротоксины X, ингибиторы фагоцитоза, гемопоэза, хрупкости мембран эритроцитов; утилизации глюкозы и транспорта аминокислот; факторы разобщения дыхания и фосфорилирования. Этим определяется токсичность средних молекул в результате нарушения эритропоэза, снижения розеткообразования и ингибирования дыхания митохондрий; нарушения синтеза ДНК в гепатоцитах и лимфоцитах; нарушения синтеза и утилизации глюкозы, активности ферментов, выведения креатинина. Нейро- и психотоксические эффекты СМ связаны с образованием ложных нейромедиаторов (в контроле концентрация СМ составляет 0,15–0,24 условных единиц)(Саенко В.Ф. с соавт., 2003).

Таким образом, ЭИ как составная часть критического состояния любого происхождения развивается вследствие несостоятельности основных составляющих систем детоксикации: монооксигеназной, выделительной и иммунной — по утилизации и устранению как продуктов нормального и нарушенного метаболизма, так и токсинов микроорганизмов (Taniguchi T., 2009; Castellano G, 2014; Dullah EC, Ongkudon CM., 2017; Guy C Brown, 2019).

§1.2. Сорбенты, применяемые в медицине и их классифицирование.

Сорбенты, разгружая органы естественной детоксикации, извлекают из биологических сред различные экзо- и эндотоксины:

- продукты естественного обмена в высоких концентрациях,

- активированные ферменты, способные повреждать ткани,
- медиаторы воспаления, биологически активные вещества,
- среднемолекулярные пептиды различной массы,
- перекисные продукты,
- неоднородные по составу ингредиенты нежизнеспособных тканей,
- агрессивные компоненты комплемента,
- бактериальные токсины (экзо- и эндотоксины).

Так, конкретно при патологиях печени сорбенты выводят из организма – билирубин, аммиак, желчные кислоты, бактериальные токсины, средние молекулы и другие; при заболеваниях почек – продукты белкового и пуринового обмена (мочевина, мочевая кислота, креатинин), средние молекулы, электролиты, биогенные амины, катехоламины и др; при бронхолегочных заболеваниях – кинины, катахоламины, биогенные амины, регуляторные пептиды, гормоны, простагландины и другие БАВ; при заболеваниях ЖКТ – бактериальные токсины, индол, скатол, желчные кислоты, регуляторные пептиды, гормоны, конечные и промежуточные продукты основных видов обмена, газы и др. (Ким О.В., 2015; Морозов А. С., 2016; Taniguchi T., 2009; Morozov A.S., 2016; Alekseeva Olga V., 2017).

При контакте сорбента с биологической жидкостью происходит взаимодействие удаляемого вещества (сорбата) с поглотителем-сорбентом. Большинство используемых сорбентов не являются специфическими по отношению к конкретным токсинам и метаболитам (Candel FJ, 2010). В их пористой структуре фиксируются все вещества, имеющие тропность к поверхности сорбента и соответствующие размеры молекул, позволяющие проникнуть в поры разного размера (Tarn D., 2013; Minoru Kimura, 2014). Эти вещества отличаются по относительной молекулярной массе – от сотен до миллиона дальтон, гидрофильным и гидрофобным свойствам, особенностям циркуляции в крови, транспорта через мембраны, путям выведения из организма. Для их эффективного удаления нужно подбирать соответствующие сорбенты по размеру и объему пор, по величине и химическому составу поверхности и другим показателям. Перечень заболеваний, при которых показаны сорбционные технологии, обширен – острые отравления, аллергические заболевания, болезни печени и желчных путей, болезни почек, болезни легких, острые воспалительные и гнойно-септические заболевания, психоневрологические и психические заболевания,

абстинентные синдромы у наркоманов и алкоголиков, иммунозависимые заболевания, последствия травм, острые нарушения основных видов обмена, онкозаболевания, лучевые поражения, кожные заболевания, эндокринные заболевания и другие.

При регулярном и длительном приеме сорбентов снижается кишечная абсорбция, что ведет к уменьшению энергетической ценности компонентов пищи и в итоге - к уменьшению массы тела. Отмеченная способность пищевых волокон вызывать более длительное чувство насыщения, замещать высокоэнергоемкие продукты, также является основанием к применению сорбентов при лечении ожирения. Одновременно при этом восстанавливаются показатели холестеринового обмена, отмена сорбента ведет к увеличению содержания в крови холестерина, триглицеридов, холестеринового индекса атерогенности.

Эти наблюдения внушают предположение о том, что подобная структура представляет собой одну из форм взаимодействия сорбента с биологической тканью, формируя новую, биоминеральную среду, способствующий эффективности сорбционной терапии (Расулов М.М., 2016).

1.2.1. Сорбенты на основе полимеров

К этому виду сорбентов (в основном для перорального приема) относятся материалы на основе растительного сырья (Касымова Х.К., 2011; Геньш К.В., Базарнова Н.Г., 2013). Например, мелкодисперсный порошок белого цвета Микроцел - препарат микрокристаллической целлюлозы, полученной из хлопковой и древесной целлюлозы (на его клиническое применение получено разрешение МЗ РФ, Рег. N 97/128 /5).

К энтеросорбентам на основе растительного сырья относится «Полифепан», получаемый в виде вторичного сырья после гидролиза лиственных и хвойных пород древесины (Пьянова Л.Г., 2016). Он состоит в основном из собственного лигнина (на 80%) и гидролизованной целлюлозы, выпускается в промышленном масштабе, структурным элементом полифепана являются производные фенилпропана. Полифепан обладает удельной поверхностью до 20 м²/г, на его поверхности имеется набор функциональных групп: метаксильных, карбоксильных, карбонильных, гидроксильных и других. По показателю сорбции низко- и среднемолекулярных токсинов Полифепан не уступает углям. Однако данных по содержанию различных металлов в сорбенте не имеется. Можно полагать, что Полифепан относится и к числу сорбентов, которые трудно

стандартизировать и, прежде всего, по сырью, из которого его получают. Развитие производства полимерных материалов позволило создать на их базе интересные сорбционные материалы для медицинского назначения с регулируемым составом, размером пор и набором функциональных групп. Известен Энтеросгель, представляющий собой гидрогель метилкремневой кислоты ($\text{CH}_3\text{SiO}_{1,5} \cdot n\text{H}_2\text{O}$). После удаления всей влаги при температуре 1200°C препарат превращается в ксерогель с поверхностью 150-250 м²/г, с объемом пор 2,7-3 см³/г, размером пор 100 нм. Сорбент эффективен в отношении среднемолекулярных токсинов, не связывает электролиты.

Кремний органические сорбенты характеризуются гидрофобностью и достаточной сорбционной способностью по отношению к органическим веществам.

Пищевые добавки на основе пектинов, целлюлозы, древесной хвой, водорослей часто позиционируют как сорбенты [Martina V, et al., 2009; Milichovsky M., 2014; Mirzahmatova D.R., 2016].

1.2.2. Сорбенты на основе углеродных материалов.

На сегодняшний день, основным сырьем для промышленных методов получения пористых углеродных материалов являются древесные отходы (36% пористых углеродных материалов производится из коры и лигнина), каменноугольные некоксуемые материалы (28% - из каменных и 14% - из бурых углей), а также некоторые полимерные материалы, скорлупа орехов (кокоса и т.д.), фруктовые косточки (маслины, персик), технический углерод, пеки, коксы (продукты нефте- и коксохимии) и т.д. [Кугатов. П. В., 2013; Манина Т. С., 2013; Пьянова Л.Г. , 2016; Лузянина Л. С., 2018; Сагидуллин А. К., 2018; Нгуен Ван Хуи, 2020; Kalia, S., 2011; He J. et al. , 2011; Hatem Abushammala, 2017; Maria Gunnarsson, 2017].

Как известно, одним из основных видов сырья для получения углеродных сорбентов являются продукты пиролиза углеводородного сырья нефтяного, каменноугольного происхождения и природного газа [Кугатов. П. В., 2013; Манина Т. С., 2013; Пьянова Л.Г. , 2016; Лузянина Л. С., 2018; Сагидуллин А. К., 2018; Нгуен Ван Хуи, 2020]. Наибольший интерес представляет нефтяное и коксохимическое сырье, полученное в процессе каталитического крекинга, пиролизом бензиновых и газойлевых фракций, процессом дистилляции и переработки каменноугольной смолы [Кугатов. П. В., 2013; Манина Т. С., 2013; Пьянова Л.Г. , 2016; Лузянина Л. С., 2018; Сагидуллин А. К., 2018; Нгуен Ван Хуи, 2020]. Помимо этого, одним из

ценных углеродсодержащим сырьем являются синтетические материалы (пористый стирол-дивинилбензольный сополимер, фурфурол и др.) [Кугатов. П. В., 2013; Манина Т. С., 2013; Пьянова Л.Г. , 2016; Лузянина Л. С., 2018; Сагидуллин А. К., 2018; Нгуен Ван Хуи, 2020].

На сегодняшний день, получение гранул углеродного сорбента сферической формы осуществляется путем жидкостного формирования гранул фурфурола и их карбонизации и парогазовой активации с последующей отмывкой материала дистиллированной водой. Технология производства сорбента может включать также стадии деминерализации углей с использованием растворов кислот и щелочей и инновационными технологиями обеспыливания путем обработки растворами поверхностно-активных веществ [Кугатов. П. В., 2013; Манина Т. С., 2013; Пьянова Л.Г. , 2016; Лузянина Л. С., 2018; Сагидуллин А. К., 2018; Нгуен Ван Хуи, 2020].

Гемосорбенты условно разделяют, в зависимости от преобладающего типа связей в системе извлекаемое вещество – сорбент, на два основных класса: 1) нейтральные сорбенты (активированные угли, силикагели, алюмогели, нейтральные сополимеры, не обладающие ионогенными группами); 2) ионообменные сорбенты (органические и неорганические иониты синтетического и минерального происхождения).

Для сорбционной медицины широко используются углеродные, углерод-минеральные, специфические и иммуносорбенты.

Особый интерес для сорбции токсических веществ различной молекулярной массы и природы представляют углеродные сорбенты, отвечающие требованиям медицины.

Следует отметить, что основные свойства традиционных промышленных марок активных углей, используемых в сорбционной медицине, определяются как природой исходного сырья, так и технологией их производства. [Кугатов. П. В., 2013; Манина Т. С., 2013; Пьянова Л.Г. , 2016; Лузянина Л. С., 2018; Сагидуллин А. К., 2018; Нгуен Ван Хуи, 2020].

Так, наиболее эффективным компонентом любого угольного сорбента является пористость их поверхности, которая и определяет направления их применения в сорбционной медицине. Например, микропористые углеродные сорбенты целесообразно использовать для удаления из биологических жидкостей продуктов с небольшой молекулярной массой, например креатинина, алифатических оксикислот, аминокислот, мочевой кислоты и т. д. (Пьянова Л. Г., 2016).

Развитая мезопористая структура сорбентов удовлетворяет большинству задач гемосорбции. При удалении токсических веществ углеродным сорбентом с гидрофобной поверхностью основным механизмом сорбции выступает физическая адсорбция, обусловленная действием дисперсионных сил. При этом эффективность адсорбции определяется соразмерностью молекул адсорбируемых веществ и пор (мезопор) сорбента.

Регулирование адсорбционной активности сорбента до недавнего времени производилось в основном путем изменения пористости поверхности, т. е. геометрической модификации их структуры. Но. это приводит к уменьшению прочности гранул сорбента.

Другой путь регулирования адсорбционных свойств сорбентов - изменение химии поверхности сорбентов, создание на поверхности сорбента химически связанных функциональных групп, способных к сорбции патологических веществ различной природы.

В настоящее время актуален вопрос повышения эффективности сорбции патологических веществ с целью разработки селективных сорбентов для последующего использования их в сорбционной медицине и протеомики-науке о разработке методов выделения и разделения белков из биологических сред и их идентификации.

Особый интерес представляют исследования Л.Г. Пьяновой (2016) по применению полиаргина и бетулина, которые, по мнению автора, являются приоритетными модификаторами углеродной поверхности, обеспечивающими экологическую безопасность сорбентов(лицензия Федеральной службы по ветеринарному и фитосанитарному надзору РФ на производство лекарственных средств ветеринарного применения № 00-15-1-002530 от 02.09.2015 г.).

По данным автора, бифункциональность новых сорбентов с бетулином («Бетулин в углеродной микросфере» содержит не менее 98,5% углерода, не менее 1% бетулина и не более 0,5% глицерина) и полиаргином («Энтеросорбент углеродный с полиаргином» содержит не менее 97,5% углерода, не менее 2,5% общего азота), обусловлена адсорбционными свойствами нанопористой углеродной матрицы и иммунокорректирующими свойствами биологически активного компонента. По мнению автора, модифицирование поверхности углеродного энтеросорбента бетулином и полиаргином приводит к повышению их адсорбционных свойств по

отношению к маркерам токсических веществ (метиленовому голубому и витамину В12).

Автором доказано, что «при использовании углеродного энтеросорбента «Бетулин в углеродной микросфере» в дозе 200 мг/кг в течение 3-х дней после противопаразитарной обработки крыс препаратом Аверсект-2 установлено увеличение показателей спонтанного и активированного НСТ-тестов на 11% и 15% соответственно, преобладание ЦИК средних размеров у крыс по сравнению с группой интоксцированных животных».

Что касается энтеросорбента, модифицированного полиаргинином, то последний «обладает значительно бõльшей адсорбционной способностью по отношению к белкам, моделирующим токсичные соединения белковой природы (степень извлечения лизоцима $70\pm 4\%$, α -лактальбумина $63\pm 2\%$), по сравнению с исходным углеродным сорбентом (степень извлечения лизоцима $59\pm 2\%$, α -лактальбумина $57\pm 1\%$)».

В исследованиях показано, что углеродный сорбент, модифицированный полиаргинином, «снижает содержание провоспалительных цитокинов (интерлейкина 6, интерлейкина 8, фактора некроза опухоли) в плазме крови крыс с острым 253 экспериментальным перитонитом. Уровни их после сорбции снижаются: для интерлейкина 6 до $22,20\pm 0,50$ пг/мл, интерлейкина 8 - до $0,95\pm 0,06$ пг/мл, фактора некроза опухоли - до $1,20\pm 0,03$ пг/мл. До введения сорбентов уровни цитокинов составляли соответственно: $26,40\pm 1,20$, $3,10\pm 0,20$ и $2,25\pm 0,75$ пг/мл».

Значительный интерес к разработке и усовершенствованию углеродных сорбентов, стал причиной большого количества диссертационных исследований, выполненных в Российской Федерации за последние 10 лет (Кугатов. П. В., 2013; Манина Т. С., 2013; Пьянова Л.Г. , 2016; Лузянина Л. С., 2018; Сагидуллин А. К., 2018; Нгуен Ван Хуи, 2020).

Так, например, Нгуен Ван Хуи (2020) предложил окислительную активацию углеродных материалов «рассматривать как топохимическую реакцию, включающую стадии адсорбции (хемосорбции) окисляющего агента на активных центрах подложки (поверхности исходного углеродного материала) и последующего взаимодействия с подложкой, приводящего к образованию пор». Автором установлено, что «на пористое пространство образующегося углеродного сорбента существенно влияют графитированность и размеры кристаллитов исходного материала». Изменяя

размеры кристаллитов можно усовершенствовать характеристики пор сорбента.

В другом диссертационном исследовании Л. С. Лузяниной (2018), была разработана технология получения мезопористого углеродного сорбента медицинского назначения на основе материала Сибунит™, который по данным автора, «превосходит известные углеродные сорбенты медицинского назначения по гемосовместимости и адсорбционной активности по отношению к соединениям со средней молекулярной массой. По итогам клинических испытаний рекомендовано его применение при лечении заболеваний, протекающих с образованием и накоплением именно токсинов данной молекулярной массы».

§1.3. Резюме по главе.

Причинно-следственной связью нарушения синтетической, метаболической и детоксицирующей функций печени при ее остром или хроническом поражении, является накопление различных токсических субстанций, таких как воспалительные цитокины, медиаторы оксидативного стресса, продукты деградации аммиака, желчные кислоты, оксид азота, лактат, продукты метаболизма арахидоновой кислоты, эндогенные бензодиазепины, индолы, меркаптаны, которые приводят к системным поражениям организма — нарушениям микроциркуляции, коагуляционным и иммунологическим расстройствам.

В течение нескольких последних десятилетий исследователями проводился поиск методов временного эффективного замещения функций поврежденного органа. На сегодняшний день, большинство клинических исследований по органозамещению и органопротекции преследуют несколько целей: удаление токсинов для создания условий для регенерации собственных гепатоцитов; решения вопроса о трансплантации; создание условий для восстановления функции донорской печени после трансплантации.

В настоящее время методики экстракорпорального протезирования функции печени в комплексе лечения печеночной недостаточности подразделены, главным образом, на два подхода: с применением биологических субстанций и без таковых. Если биологические системы включают гепатоциты или целые органы (имеющие человеческое происхождение или полученные от животных), то подход без биологических субстратов базируется на диализной, фильтрационной или адсорбционной методиках.

Наиболее распространенными адсорбционными методами детоксикации являются гемо- и энтеросорбция, очищение плазмы и лимфы (плазмасорбция, лимфосорбция), аппликационное применение сорбентов (вульнеросорбция).

К нерешенным проблемам экстракорпоральной детоксикации можно отнести совместимость адсорбентов с кровью и специфичность элиминационного эффекта. Большинство немодифицированных сорбентов "агрессивны" по отношению к форменным элементам крови и "слепы" по отношению к адсорбирующим веществам. В настоящее время определены некоторые пути решения этих проблем. Так, один из них - создание

покрытий гранул сорбента или широкое применение перфузии, при которых полностью или частично исключается контакт форменных элементов крови с адсорбентами.

Принятым постулатом при использовании сорбентов и технологий с их применением является положение о том, что сорбенты не должны оказывать собственного фармакологического действия, и выявляемые на фоне их использования изменения связаны с явлениями адсорбции метаболитов, микроорганизмов, биологически активных веществ и т.д, образующихся во внутренних средах

Разработка и исследование новых, эффективных, нетоксичных сорбентов для профилактики и лечения болезней ЖКТ, регуляции обмена веществ, повышения резистентности, является актуальной задачей медицины.

В настоящее время в медицинской практике наибольший интерес представляют углеродные сорбенты, обладающие высокой эффективностью и безопасностью применения.

При этом, создание углеродных материалов с повышенной адсорбционной активностью по отношению к токсичным веществам определенной природы, с детоксикационными и корригирующими свойствами путем регулирования химической природы их поверхности (химического модифицирования) представляет значительный интерес, тем самым расширяя спектр сорбентов биоспецифического действия. На основании этого были определены указанные выше задачи исследования и проведены соответствующие эксперименты.

ГЛАВА II. ХАРАКТЕРИСТИКА МАТЕРИАЛА И ПРИМЕНЕННЫХ МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Фундаментом данного диссертационного исследования послужили результаты использования нового отечественного гранулированного углеродного сорбента (УНПГС) с преимущественным содержанием нано- и мезопор в экспериментальных условиях.

Разработчиком данного продукта явился коллектив авторов АО «УЗКИМЁСАНОАТ» общество с ограниченной ответственностью Ташкентский Научно-Исследовательский Институт Химической Технологии(ООО«ТНИИХТ») (Ортиков Н.Т., Каримов М.У., Джалилов А.Т., Садыков Р.А. Способ получения углеродного сорбента//Universum: Химия и биология:электрон.научн. журн. 2020. № 11 (75) URL).

Экспериментальные и морфологические исследования выполнены на 138 белых лабораторных крысах породы «Вистар» и 16 беспородных собаках и проведены с соблюдением правил, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или иных научных целей (ETS N 123), Страсбург (1986 г.).

Все эксперименты по применению нового угольного сорбента выполнены на базе ГУ «РСНПМЦХ имени акад. В.Вахидова», отделении экспериментальной хирургии в 2020году.

Методика операции на собаках по моделированию механического блока холедоха выполнена по авторской методике и описана в главе собственных исследований.

Предварительная премедикация осуществлялась введением внутримышечно растворов 2%промедола (2-5мг/кг), димедрола (2мг/кг), седуксена (0,4 мг/кг). Базовый наркоз осуществляли ингаляционным анестетиком изофлюраном. Режим вентиляции: частота 24 в минуту, объем 300мл. После завершения операции животное переводилось в изолятор с последующим обезболиванием с использованием ненаркотических анальгетиков.

На 5 сутки после операции, в момент нивысших значений билирубина с нарастанием патологических метаболитов, свидетельствующих о признаках печеночной недостаточности проводили плазмсорбцию с использованием нового угольного сорбента УНПГС. Проводили забор крови поэтапно по 200мл с замещением 200 мл физиологического раствора. Полученную кровь помещали во флакон с цитратом натрия и проводили центрифугирование в шадящем режиме. Отделенную плазму оставляли для проведения плазмсорбции, а эритроцитарную массу возвращали в кровяное русло собаки. Сорбцию плазмы проводили на аппарата Унирол в режиме рециркуляции в течение 20 минут. Сорбент использовался в количестве 50г на 200мл плазмы. В последующем плазма возвращалась в кровяное русло с предварительным забором 200 мл крови для очередного сеанса плазмсорбции. Процедура плазмсорбции выполнялась за один сеанс двухкратно с сорбцией до 400мл крови. Кровь для биохимических исследований брали у животных на высоте патологического процесса, плазмы до начала и после плазмсорбции, а также кровь животного после завершения сеансов плазмсорбции через 120минут.

Контроль гемодинамики осуществляли на кардиомониторе с оценкой параметров артериального давления, пульса, насыщения кислорода по данным сатурации.

§2.1. Физико-химические характеристики нового углеродного сорбента изучены с использованием стандартных методик, принятых в аналитической химии, а также физико-химические исследования согласно ГОСТу.

На Рис. 2.1 представлено микрофото гранул сорбента УНПГС. Обращает внимание четкая соразмерность гранул, абсолютно гладкая поверхность, шарообразная форма. Отсутствие мелких частиц и пыли свидетельствует о низкой зольности УНПГС.

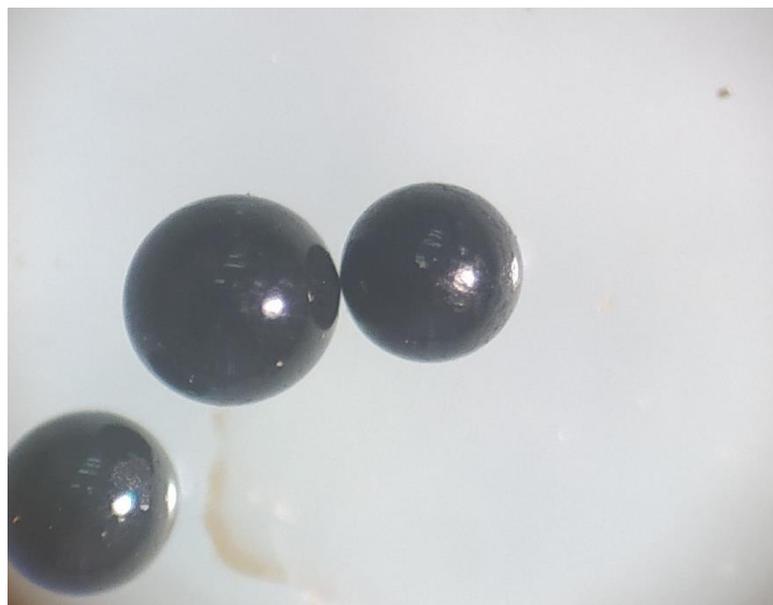


Рис. 2.1 Микрофото гранул сорбента УНПГС

Необходимые ингредиенты и аппаратура для получения углеродного сорбента УНПГС: вода, кислоты азотная, сжатый воздух использованы согласно установленным ГОСТ.

§2.1.1. Технология получения углеродного сорбента

Технология получения углеродного сорбента – состоит из следующих процессов:

- В качестве сырья использован химически чистый полимерный сорбент КАО в виде гранул размером до 0,5мм.

- Термическая обработка полимерных гранул при температуре 400° с постепенным повышением температуры и поддержанием в необходимых пределах в течение 12 часов непрерывного цикла.

- Термоокислительная реакция углеродных гранул водяным паром при температуре 800-900 °С. При этом происходит вымывание недоокисленных ингредиентов с увеличением пор углеродного сорбента.

§2.1.2. Характеристика УНПГС.

1. Название препарата – Гемосорбент УНПГС предназначенный для сорбции плазмы в целях экстракорпоральной детоксикации

организма.

2. Форма выпуска – гранулированный порошок.

3. Область применения: - медицина;

4. Физико-химическая характеристика готовой продукции «УНПГС»:

Гидрофобные гранулы размером до 0,5мм , в растворителях не растворим.. рН 6-7.. Спецификация приведена в таблице №2.1.

Таблица 2.1

Спецификация сорбента « УНПГС»

Характеристики	Значения
Внешний вид	Черного цвета гранулы
Цвет раствора с сорбентом	Раствор прозрачный
Водородный показатель рН 1% раствора	6,5-7
Размер, см: диаметр	0,5-0,6 мм
Зольность	3%
Йодное число	120
Размеры пор	Мезо- и нанопоры
Содержание примесей %	≤ 0,001
Стерильность	Стерильно
Хранение	В растворе спирта
Массовая доля углерода, %, не менее	99,5
Массовая доля общей серы, %, не более	0,3
Зольность, %, не более	0,50
Насыпная плотность, кг/м ³	600-750

5. Действующие вещества:

Углеродный сорбент с нано- и мезопорами

Химические свойства :углеродные гранулы полученные при термической обработке полимеров. Йодное число -120.

Не растворяется в органических растворителях, хранение в 70% спирте.

5.1.2. Агрегатное состояние: черные гранулы без цвета и запаха.

5.1.3. Органолептические свойства : Без запаха,

5.1.4. 5.2.2. Химические свойства

Черный гранулированный порошок без вкуса и запаха, не растворяется в воде.

5.2.3. Агрегатное состояние: Порошок гранулированный

5.2.4. Органолептические свойства : Без запаха, черный.

6. Способ применения «УНПГС»: гранулы углеводорода предназначены для использования в качестве гемосорбента для экстракорпоральной детоксикации организма от токсических веществ и токсических метаболитов.

§2.1.3. Методика изучения сорбции метаболитов.

В качестве испытуемых веществ для оценки степени поглощения сорбентом выбраны: мурексид (низкая молекулярная масса); метиленовая синь, витамин В 12, конго-красный (средней молекулярной массы), билирубин, альбумин (высокая молекулярная масса). Адсорбция исследована при комнатной температуре (22- 25 оС). Концентрацию веществ до и после инкубации с угольным сорбентом определяли фотоколориметрическим методом на приборе КФК-2 при соответствующей длине волны:

метиленовый синий - 663 нм,

витамин В 12 - 360 нм,

мурексид - 546 нм

конго-красный 580 нм.

Для изучения сорбционных свойств УНПГС готовились исследуемые растворы с заданной концентрацией красителей (метиленовая синь, конго-красный, мурексид). В пробирку помещали исследуемое вещество в 1% концентрации в количестве 1,0мл. Далее в исследуемую пробирку насыпали 500мг сорбента. Перед этим сорбент промывали в физиологическом растворе для удаления спирта, используемого для хранения сорбента. Промывку

производили 10мл физиологического раствора в течение 10 минут. Далее обезвоживали сорбент с использованием сита в течение 10 минут. Пробирки с исследуемым веществом помещали в термошейкер при температуре 22 о С. Пробы надосадочной жидкости забирали для исследований каждые 10 минут. Время инкубации до 30 минут.

§2.1.4. Методики стандартных исследований сорбента:

- определение массовой доли углерода;
 - определение содержания серы;
 - оценка зольности;
 - исследование йодного числа;
 - определения насыпной плотности;
 - определение рН.(Методика исследований рН заключается в инкубации гранул углеродного сорбента в физиологическом растворе в соотношении ½ в течение 2 часов. Значения рН раствора измеряли рН-метром при комнатной температуре.
- определение углеродной пыли. Исследование проводили с использованием углеродного сорбента в количестве 1 г и помещенного в 4мл физиологического раствора. Пробирку помещали в шейкер и инкубировали в течение 20 минут при комнатной температуре. В последующем надосадочную жидкость переливали в кювету толщиной 1 см и измеряли показания на спектрофотометре КФК-2 при длине волны 440 нм. Измеряли значение коэффициента светопропускания раствора;
- Определение прочности единичной гранулы по силе раздавливания ;
 - Определение прочности гранул при истирании.

§2.2. Методы медицинских исследований в эксперименте

1. Исследования in vitro. В задачи исследований входила оценка эффективности нового углеродного сорбента по элиминации красителей и метаболитов известной концентрации из заранее приготовленных растворов

различной концентрации. Учитывая характер пор угля сорбента исследованы вещества с различной молекулярной массой. Всего изучено 10 видов химических веществ по 5 исследований каждый. В задачи исследований также входила оценка степени сорбции в зависимости от времени инкубации с сорбентом с использованием термошейкера. Наибольшая длительность инкубации составила 60 минут. Всего проведено 50 исследований.

2. Исследования *ex vivo*. В этих исследованиях использована консервированная плазма человека для изучения сорбционных характеристик УНПГС. Проведено 30 исследований с использованием сыворотки крови пациентов с различной степенью механической желтухи. Максимальное время сорбции составило 30 минут.

3. Исследования *in vivo*. Задачей этих исследований явилось оценка эффективности плазмсорбции с использованием УНПГС при экспериментальной механической желтухе у собак. Всего выполнено 16 исследований у б\п собак в условиях моделирования острой механической желтухи и печеночной недостаточности.

4. Токсикологические исследования нового отечественного сорбента УНПГС согласно стандартным протоколам оценки токсичности сорбентов при экстракорпоральной детоксикации ISSN 2011

Исследования проведены на 138 белых половозрелых беспородных крысах первого года жизни массой 190 – 300 г и 5 белых кроликах-альбиносах обоего пола, различной массы тела. Животных содержали в условиях вивария в соответствии с требованиями ГОСТ ISO 10993-11-2011 о надлежащих условиях подготовки и наблюдения за подопытными животными. Для определения параметров острой и хронической токсичности использованы методики и критерии ISSN 2011.

После последнего введения водной суспензии препарата (растворенный в физиологическом растворе сорбент) у всех групп животных из хвостовой вены была взята кровь для развернутого анализа

гематологических показателей, которые проводили на гематологическом анализаторе BC-3000 (Mindray, P.R.China. 2006). Затем под общим обезболиванием забирали кровь для развернутых биохимических исследований у животных из полости сердца путем прокола кожи в проекции сердца. В последующем извлекали внутренние органы для морфологических исследований.

Биохимические исследования сыворотки крови: общий белок – биуретовым методом, альбумин –бромкрезоловым, АСТ и АЛТ- методам Райтмана-Франкеля, креатинин – по методу Яффе, щелочную фосфатазу –с нитрофенилфосфатом, γ -гамма-глутамил-трансферазу с γ -гамма-глутамил-п-нитроанилидом, холестерин -методом колориметрии, билирубин – способом Ендрассика на биохимическом анализаторе (Mindray 2014 Изучение острой токсичности при внутрижелудочном и внутрибрюшинном введении проводилось в соответствии с указаниями ISSN 2011 " изучение общетоксического действия фармакологических веществ".

Для оценки цитотоксичности применялся лимфоцитотоксический тест. Метод основан на оценке повреждающего действия исследуемого вещества при проведении исследований *invitro*. В отличие от известных методик, где для исследования токсичности берется кровь из русла и из нее путем цитоанализатора выделяются лимфоциты в достаточном количестве, чтобы оценить достоверность результатов. Для выполнения известной методики требуется большое количество крови, что трудно осуществимо у мелких лабораторных животных. Наша модификация заключается в заборе лимфоузлов брюшной полости крыс с последующем выделением изолированных клеток лимфоцитов. Методика осуществляется следующим образом.

Под общей анестезией парами изофлюорана выполняется лапаротомия длиной до 2 см. В рану выводятся петли тонкого и толстого кишечника. Далее острым и тупым путем практически бескровно выделяются и удаляются лимфоузлы брыжейки кишечника в количестве 2-3 узлов

размером 2x3мм. На предметном стекле с использованием капель физиологического раствора и осторожной препаровке лимфоузлы выделяются и собирается ткань, содержащая свободные лимфоциты в виде жидкой кашицы. Полученную массу помещают в пробирку с физиологическим раствором и выдерживают в термостате. Методика позволяет получить до 90% живых лимфоцитов в поле зрения с достаточно большим количеством, чтобы обеспечить достоверность результатов теста.

Экспериментальные исследования проведены с соблюдением правил, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или иных научных целей (ETS N 123), Страсбург, 18.03.1986 г.

1. Острую токсичность при внутрижелудочном введении препарата изучали на 42 белых крысах-самцах с массой тела 190-240 г.

Экспериментальные животные содержались в одинаковых условиях вивария и на сбалансированном по содержанию белков, жиров и углеводов рационе питания со свободным доступом к воде и пище.

Животные были разделены на 7 групп по 6 особей в каждой. Животным 6 опытных групп натошак вводили физиологический раствор (в котором в течение 2 суток выдерживали испытуемый угольный сорбент «УНПГС») в желудок при помощи шприца с металлическим зондом в дозах: 5000, 5500, 6000, 6500, 7000 и 7500 мг/кг массы тела. Изучаемые дозы сорбента вводили через 3- и 4- часовым интервалом в течение суток. Животные находились под наблюдением в течение первого дня и на протяжении 2-3 недель эксперимента. 7-ая группа животных служила контролем.

Учитывали внешний вид и поведение животных, состояние шерстяного покрова и видимых слизистых оболочек, отношение к пище, подвижность, ритм и частоту дыхания. Обращали внимание на время возникновения и характер интоксикации, оценивали её тяжесть, обратимость, определяли срок гибели животных. Аппетит у животных не нарушался, шерсть не

взъерошенная. Психосоматические показатели животных не изменялись. Гибели животных и симптомов интоксикации не было выявлено. Животные были активны, охотно поедали корм, активно реагировали на раздражители. Определена максимально-переносимая доза препарата на уровне 7500 мг/кг м.т. В связи с отсутствием гибели животных рассчитать уровень ЛД50 не представилось возможным.

2. Острую токсичность при внутрибрюшинном введении препарата изучали на 30 белых крысах-самцах массой тела 200-240 г. Животных разделили на 5 групп по 6 особей в каждой. Стерильный сорбент «УНПС» животным вводили внутрибрюшинно в дозах 5000, 5500, 6000, 6500 и 7000 мг/кг.

Наблюдение за животными проводилось в течение 14 суток. Для определения параметров острой токсичности был использован метод Литчфилда и Уилкоксона.

3. Изучение кожно-резорбтивного действия

Исследования кожно-резорбтивного действия препарата проводили на 6 белых крысах с массой тела 190-200 гр., которых фиксировали в специальных станках, хвосты животных погружали в пробирки с исследуемым препаратом на 2/3 длины хвоста. Пробирки помещали в водяную баню с температурой 28-32° С. Время экспозиции 4 часа. После окончания эксперимента кожу хвостов обмывали теплой водой с мылом. За животными проводили наблюдение в течение 3-х недель.

Критериями токсичности служили: поведение животных, выживаемость, время наступления смертельных исходов, появление симптомов интоксикации, местные изменения на коже, динамика массы тела.

4. Изучение местно-раздражающего действия на кожу

Исследования проведены на 6 белых крысах-самцах с массой тела 200-230 грамм и 5 кроликах-альбиносах с массой тела от 2,0 до 2,5 кг. На выстриженный участок кожи животных площадью 15x10 см аппликацию исследуемого вещества в виде геля наносили на участок размером 2x2 см, по

обоим бокам, сверху покрывали 4-слойной салфеткой и перевязывали. Контролем служили выстриженные участки, на которые наносили дистиллированную воду в том же объеме. Животных фиксировали в течении 4-х часов. Реакция кожи регистрировалась по окончании экспозиции через 1 и 16 часов после аппликации. Реакцию кожи учитывали по шкале кожных проб в баллах. Оценку и методику определения местно-раздражающего действия производили соответственно ГОСТ ISO 10993-11-2011 по показателям, приведенным в таблице №2.2.

Таблица №2.2

Показатели реакции кожных покровов	Оценка в баллах
Эритема и образование струпа	
Отсутствие эритемы	0
Очень слабая эритема (слегка заметная)	1
Заметная эритема	2
Умеренная эритема	3
Выраженная эритема (ярко-красная с образованием струпа)	4
Образование отека	
Отсутствие отека	0
Очень слабый отек (слегка заметный)	1
Заметный отек	2
Умеренный отек	3
Выраженный отек	4
Максимальное количество баллов	8

5. Изучение кумулятивного действия

Исследования кумулятивного действия исследуемого вещества проводились на 24 белых крысах-самцах с массой тела 200-240 гр. Для оценки кумулятивных свойств учитывалась малая токсичность препарата, установленная в остром эксперименте, а также предполагаемая длительность курса лечения (одноразовое внутрибрюшинное введение), поэтому выбран срок семь дней в соответствии с "Методическими указаниями по изучению общетоксического действия фармакологических веществ" ("Руководство по

экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ",- ЗАО "ИИА "Ремедиум" ,- М., 2005).

«УНПГС» внутрибрюшинно вводили 1-ой группе в дозе 300 мг/кг, 2-ой группе в дозе 150 мг/кг, 3-ой группе в дозе 50 мг/кг. Животным интактной группы вводилась 1%-ная крахмальная слизь из расчета 1 мл на 100 г. массы тела.

Критериями токсичности служили: поведение животных, выживаемость, время наступления смертельных исходов, появление симптомов интоксикации, местные изменения на коже, динамика массы тела, частота дыхания, частота сердечных сокращений, по содержанию общего белка, альбумина, активности аспартат-аминотрансферазы (АСаТ) и аланинаминотрансферазы (АЛаТ), креатинина, щелочной фосфатазы, γ -гамма-глутамил-трансферазы, холестерина, общего билирубина и их фракций в сыворотке крови. Исследования физиологических и биохимических показателей проводили после завершения эксперимента.

После окончания хронического эксперимента часть животных опытной и контрольной групп забивалась путем декапитации под легким эфирным наркозом и проводились макроскопические и микроскопические исследования внутренних органов. Объектами изучения были: головной мозг, легкие, сердце, печень, почки, надпочечники, селезенка, желудок, поджелудочная железа, тонкий и толстый кишечник, матка, яичники, яичко. Материал фиксировали в 12% формалине с последующей, стандартной проводкой по спиртам восходящей концентрацией и заливкой парафином. Срезы из органов толщиной 6-7 мкм окрашивали гематоксилином и эозином.

Стандартным методом изучения адсорбционной способности гемосорбентов признаны тесты, проводимые с известными химическими веществами с различной молекулярной массой в стандартных условиях.

Методика: к навеске сорбента весом 500мг добавляли 1 мл физиологического раствора. В пробирку с сорбентом добавляли 1 мл 1%

раствора красителя и помещали в термошейкер на 30 минут. Каждые 10 минут брали образцы надосадочной жидкости и проверяли коэффициент поглощения с использованием спектрофотометра КФК-2 (Рис. 2.2).



Рис. 2.2. Спектрофотометр КФК-2

§2.3. Методика морфологических исследований

Для морфологических исследований биоптаты печени и почек тотчас после иссечения из органа фиксировали 10% забуференном растворе формалина (рН-7,4), обезвоживали в растворах этанола в возрастающей концентрации и заливали в парафиновые блоки. Срезы толщиной 4мкм окрашивали гематоксилином и эозином. Исследовали под световым микроскопом при увеличении $\times 70$, $\times 90$.

§2.4. Методики статистической обработки материала

Полученные результаты подвергали статистической обработке с использованием стандартного пакета программ StatistikaforWindows методом вариационной статистики с оценкой значимости показателей ($M \pm m$) и различий рассматриваемых выборок по t-критерию Стьюдента. Различия в сравниваемых группах считались достоверными при уровне значимости 95% ($P < 0,05$).

ГЛАВА III. ОЦЕНКА БИОЛОГИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ НОВОГО УГЛЕРОДНОГО ГЕМОСОРБЕНТА

Для клинического внедрения любой новой технологии по международным стандартам требуется проведение серии исследований по двум основным направлениям – безопасность с определением возможности влияния на специфические клинико-функциональные параметры и эффективность в плане предполагаемых результатов применения. Основной задачей данного исследования является экспериментальное обоснование эффективности применения усовершенствованной методики плазмсорбции с применением нового отечественного биосовместимого сорбента (углеродный нанопористый гемосорбент – УНПГС) с заданными свойствами (адсорбирующая способность, апирогенный и детоксикационный эффект) для экстракорпоральной детоксикации при печеночной недостаточности хирургического генеза на фоне механической желтухи. Физико-химические характеристики предложенного сорбента подробно изложены в главе материалов и методов. Перспективы применения предлагаемой методики плазмсорбции намного шире, чем повышение качества лечения механической желтухи. Основным результатом первичных исследований, представленных в данной диссертации, будет разработка нового способа плазмсорбции с экспериментальным обоснованием эффективности детоксикационной терапии при осложненном течении механической желтухи. Научно-практическое значение внедрения этой методики для хирургии заключается не только в возможности коррекции проявлений печеночной недостаточности, этиологическим фактором которой является нарушение желчеоттока обтурационного доброкачественного или злокачественного генеза, но и других причин. К ним относятся системные осложнения после различных вмешательств, которые потенциально имеют риск развития полиорганных функциональных нарушений с преимущественным проявлением печеночной недостаточности. Если рассматривать различные области хирургии, то это относится не только к

хирургии печени и поджелудочной железы, но и к другим направлениям абдоминальной хирургии, а также к кардиохирургическим вмешательствам, особенно к операциям в условиях искусственного кровообращения, которые нередко осложняются печеночной дисфункцией и т.д. Безусловно, данное исследование может стать перспективным научным направлением для внедрения и в другие области медицины, связанные с терапевтическим лечением печеночной недостаточности различного генеза (гепатиты, циррозы, токсические поражения, инфекционные заболевания, сепсис и т.д.).

§3.1. Оценка биосовместимости нового углеродного гемосорбента

Оценка острой внутрижелудочной токсичности УНПГС.

Проведенный эксперимент показал, что у животных после введения водной суспензии препарата в дозах 5000, 5500, 6000, 6500, 7000 и 7500 мг/кг изменений в поведении и функциональном состоянии не наблюдалось. Аппетит у животных не нарушался, шерсть гладкая, блестящая. Психосоматические показатели животных не изменялись. Гибели животных и симптомов интоксикации не выявлено. Животные были активны, охотно поедали корм, активно реагировали на раздражители. Определена максимально-переносимая доза имплантата на уровне 7500 мг/кг. В связи с отсутствием гибели животных рассчитать уровень ЛД₅₀ не представилось возможным.

Оценка острой токсичности УНПГС при внутрибрюшинном введении. Экспериментальные исследования показали, что при однократном внутрибрюшинном введении препарата в дозах 5000, 5500, 6000, 6500 и 7000 мг/кг через 24 часа у крыс отмечены признаки угнетения центральной нервной системы, отказ от корма и воды.

В 1 группе животных, получавших дозу 5000 мг/кг, отсутствовали признаки интоксикации. К исходу 2-х суток во 2 группе после введения дозы 5500 мг/кг отмечена гибель одной крысы из шести, в 3-ей и 4-ой группах (дозы 6000 и 6500 мг/кг соответственно) погибли по две, а в 5-ой группе (доза

7000 мг/кг) -погибли четыре. По результатам острой токсичности при внутрибрюшинном введении ЛД₅₀ «УНПГС»составила 6654,0 (6005,8÷7302,2) мг/кг.

Таким образом,ЛД₅₀«УНПГС»по результатам острой токсичности при внутрибрюшинном введении установлена на уровне 6654,0 мг/кг и препарат относится к 4 классу опасности – практически нетоксичным веществам.

Оценка однократного местно-раздражающего действия на кожу.

При однократном нанесении на кожу белых крыс на выстриженный участок исследуемого вещества установлено, что «УНПГС»не вызывает раздражения кожных покровов, симптомов интоксикации и гибели животных не отмечено.

Полученные данные показали, что «УНПГС»не вызывают раздражения, покраснения, отека или других видимых изменений на коже и действие препарата оценивается в 0 баллов по шкале кожных проб (таблица оценки данных приведена в главе 2).

Таким образом, определено, что «УНПГС»не обладает местно-раздражающим действием.

Оценка кожно-резорбтивного действия. Исследования кожно-резорбтивного действия «УНПГС» проводили на 6 белых крысах с массой тела 190-200 гр., которых фиксировали в специальных станках, хвосты животных погружали в пробирки с исследуемым препаратом на 2/3 длины хвоста. Пробирки помещали в водяную баню с температурой 28-320С. Время экспозиции 4 часа. После завершения эксперимента кожу хвостов обмывали теплой водой с мылом. За животными проводили наблюдение в течение 3-х недель.

Критериями токсичности служили: поведение животных, выживаемость, время наступления смертельных исходов, появление симптомов интоксикации, местные изменения на коже, динамика массы тела.

Результаты проведенных исследований показали, что за время наблюдения в течение 3-х недель симптомов интоксикации у опытных

животных и их гибели не выявлено. Животные оставались активными, охотно поедали корм, адекватно реагировали на внешние раздражители.

Следовательно, «УНПГС» не обладает кожно-резорбтивным действием.

Оценка хронической токсичности при внутрибрюшинном введении. Исследования многократного внутрибрюшинного действия «УНПГС» проводились на 24 белых крысах с массой тела 250-300 грамм в течение 7 дней. При оценке хронической токсичности при внутрибрюшинном введении учитывалась низкая токсичность препарата, установленная в остром эксперименте, а также предполагаемая длительность курса лечения – одна неделя. На основании этого срок хронического эксперимента составил семь дней в соответствии с международными требованиями по оценке токсичности медицинских препаратов (2013г). Исследуемое вещество вводили внутрибрюшинно 3-м группам опытных белых крыс. 4 группа служила контролем. Введение исследуемого вещества осуществлялось в следующих дозах:

1-я группа (300 мг/кг);

2-я группа (150 мг/кг);

3-я группа (50 мг/кг);

4-я группа (1% крахмальная слизь из расчета 1 мл на 100 г. массы тела).

Показателями токсичности служили: поведение животных, выживаемость, время наступления смертельных исходов, появление симптомов интоксикации, местные изменения на коже, динамика массы тела, частота дыхания, гематологические и биохимические показатели крови.

За время эксперимента общее состояние опытных животных не нарушалось, симптомов интоксикации и гибели животных не выявлено. На коже местные изменения не обнаружены, мест очагового облысения и язв не отмечалось. Животные были опрятны, активны, шерстяной покров гладкий, блестящий, корм поедали охотно, адекватно реагировали на внешние раздражители. Динамика массы тела у белых крыс при многократном внутрибрюшинном воздействии представлена в табл. 3.1.

Таблица 3.1

**Показатели массы тела (г) у белых крыс после многократного
внутрибрюшинного введения исследуемого вещества**

Статистический показатель	Группа животных			
	1	2	3	4 (контроль)
М	227	221	208	211
±m	11,7	10,1	15,6	13,3
P	>0,05	>0,05	>0,05	-

Результаты исследований показали, что прирост массы тела опытных животных не отличался от контрольных значений.

ЧД определяли путем помещения животных в тесные обменные клетки со специально сконструированными окошками. Окошки покрывались эластичной резиной из хирургических перчаток и подсоединялись через систему ниток и рычагов к щелевому спектрофотометру и электрическому кимографу. Скорость движения ленты составляет 100 мм/мин. ЧД вычисляли по формуле:

$$\text{ЧД} = \text{кол-во колебаний} / \text{мин};$$

Например, 1 мин равна 100 мм, а число колебаний (ЧД) составляет от 80 до 110-120, т.е. ЧД равно 80-120/мин. Результаты подсчета частоты дыхания (ЧД) у белых крыс после многократного внутрижелудочного воздействия исследуемого вещества представлены на табл. 3.2.

Таблица 3.2

**Частота дыхания (ЧД/мин) у белых крыс после многократного
внутрибрюшинного воздействия «УНПГС»**

Статистический показатель	Группы животных			
	1	2	3	4(контроль)
М	88,0	89,0	87,0	89,0
±m	2,6	2,9	1,9	2,6
P	>0,05	>0,05	>0,05	-

Динамика массы тела подопытных животных через 10 дней и 1 месяц эксперимента не отличалась от контроля. Животные на протяжении всего эксперимента были активны, опрятны, корм поедали нормально, пили воду, шерсть у них была гладкая, блестящая. Поведение подопытных крыс не отличалось от поведения контрольных групп животных.

Анализ показателей периферической крови через сутки после последнего введения различных доз исследуемого препарата не выявил существенных изменений. Динамика показателей периферической крови у исследуемых животных при исследовании хронической токсичности представлена в табл. 3.3.

Таблица 3.3

Гематологические показатели у крыс, получавших различные дозы «УНПС»

Показатели/группы, дозы	1 группа, доза 300 мг/кг	2 группа, доза 150 мг/кг	3 группа, доза 50 мг/кг	4 группа (контроль)
Эритроциты, г/л	7,96±0,61	7,80±0,46	7,62±0,59	7,91±0,57
Средняя концентрация гемоглобина в эритроците г/л	421,33±24,54	467,50±65,98	413,00±13,91	428,00±31,51
Среднее содержание гемоглобина в отдельном эритроците, пг	19,50±1,05	19,82±1,09	20,36±0,93	19,50±1,32
Относительное содержание смеси моноцитов, базофилов и эозинофилов %	7,13±0,59	7,40±0,52	7,75±0,70	7,37±0,68
Относительное содержание лимфоцитов %	51,72±1,72	49,60±2,29	49,95±2,61	49,87±2,87
Тромбоциты, 10 ⁹ /л	767,17±27,80	764,33±30,55	765,67±35,29	767,17±32,14
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	11,12±0,64	11,77±0,49	10,98±0,43	11,25±0,55
Количество гранулоцитов, %	60,13±1,54	59,95±1,41	59,18±2,88	59,00±2,83
Гемоглобин г/л	148,83±8,01	144,17±9,21	142,17±10,35	142,83±11,53
Гематокрит, %	96,48±58,92	37,75±1,22	36,00±1,92	37,90±1,26

Анализ результатов гематологических показателей позволил установить недостоверное увеличение изученных показателей ($P > 0,05$) по отношению к контрольным значениям.

Изучение биохимических показателей сыворотки крови через 24 часа после последнего введения различных доз исследуемого препарата не выявило существенных изменений. Динамика показателей крови у исследуемых животных приведена в табл 3.4.

Таблица 3.4
Биохимические показатели у крыс, получавших различные дозы УНПС

Группы, дозы	1 группа, доза 300 мг/кг	2 группа, доза 150 мг/кг	3 группа, доза 50 мг/кг	4 группа (контроль)
Общий белок, г/л	76,55±1,32	77,38±1,58	76,97±1,45	77,43±2,16
Альбумин г/л	45,05±1,16	42,38±1,18	43,83±1,54	43,22±1,27
Щелочная фосфатаза, Е/л	311,00±26,46	311,50±11,58	324,83±13,91	326,67±24,05
Креатинин мкмоль/л	69,80±2,10	68,88±5,99	71,93±13,91	72,30±6,68
Холестерин, ммоль/л	1,27±0,11	1,28±0,14	1,33±1,92	1,30±0,13
АСТ, Е/л	25,88±1,37	25,62±1,50	26,22±1,70	24,32±1,50
АЛТ, Е/л	28,43±1,93	27,32±1,46	29,55±2,12	28,92±2,01
Гамма-глутамил-транфераза, Е/л	5,72±0,51	5,85±0,79	6,37±1,00	6,25±0,56
Билирубин общий мкмоль/л	12,22±0,97	13,77±0,56	13,55±13,91	11,55±1,58
Прямой билирубин мкмоль/л	3,12±0,25	3,43±0,21	3,65±0,33	3,45±0,22
Непрямой билирубин мкмоль/л	9,10±0,81	10,33±0,57	9,90±0,72	9,27±0,50

Данные, представленные в таблице 3.4, не выявили статистически достоверных изменений у животных в опытных и контрольных группах.

Полученные данные позволили сделать вывод о том, что исследуемое вещество не оказывает отрицательного эффекта на биохимические показатели крови.

Наблюдение за животными в течение 14 дней после отмены изучаемого вещества показали, что общее состояние и поведение опытных животных не отличались от интактных групп. Гибели среди подопытных крыс не наблюдалось, что позволяет сделать вывод об отсутствии кумулятивного свойства исследуемого вещества.

§3.2. Результаты макроскопических и микроскопических морфологических исследований

При макроскопическом исследовании выявлено правильное расположение внутренних органов, отсутствие свободной жидкости в плевральной и брюшной полостях. Ткани легких, желудка и кишечника также характерного цвета, без признаков отека, кровоизлияний и изъязвлений. Поджелудочная железа, почки и надпочечники без изменений.

Результаты общего осмотра тел животных, длительно получавших исследуемое вещество, показали отсутствие макроскопических распознаваемых отклонений по сравнению с контрольной группой. Все животные имели правильное телосложение, опрятный вид, блестящий шерстяной покров, очагов облысения и язв не обнаружено. Видимые слизистые влажные, бледно-розового цвета, блестящие и гладкие на вид. Грудные железы самок без опухолевидных образований и уплотнений, равномерно мягкие на ощупь. Наружные половые органы самцов не имели видимых деформаций или отклонений от контроля.

В грудной клетке – висцеральный и париетальный листки плевры и органы грудной клетки без видимых изменений. **Лёгкие** бледно-розового цвета воздушные, без уплотнений или деструктивных изменений. Ткань легких опытных крыс сохраняла свою гисто-архитектонику. Признаков

патологических изменений воспалительного или деструктивного характера не обнаружено. Стенка внутри легочных бронхов состоит из соответствующих тканевых компонентов, присущих большим, средним и малым бронхам. Респираторные бронхиолы и альвеолярные ходы без патологических изменений. Альвеолярные эпителиоциты I и II типов имеют характерные для них структуру и тканевые свойства. Меж альвеолярная соединительная ткань без патологических изменений, в ней и в просвете альвеол выявляются единичные макрофаги с характерными плотными включениями в цитоплазме. В целом, микроскопическая структура всех отделов лёгкого существенных отличий от контроля не имеет.

Сердце. Сердце обычных размеров, без признаков ишемии или гипертрофии. Аорта и легочные артерии гладкие, аномалий развития или аневризмы не обнаружены. В полостях сердца содержалось небольшое количество жидкой крови. Мышцы миокарда коричневой окраски, тургор сохранен.

У опытных групп животных, также как и у контрольных, четко различаются эндокардиальная, миокардиальная и эпикардиальная оболочки сердца. Эндотелиальная выстилка эндокарда не нарушена, местами выявляются набухшие и увеличенные в размерах эндотелиоциты. Миокард содержит кардиомиоциты, которые формируют ориентированные мышечные волокна. Волокна равномерно окрашены, поперечная исчерченность их хорошо сохранена. Ядра кардиомиоцитов овальные или вытянутые, гиперхромные и имеют центральную локализацию. Вставочные диски между кардиомиоцитами определяются достаточно отчетливо. Признаков гипоксии и ишемии миокарда не выявлено. Как и в контроле, между мышечными волокнами располагается множество кровеносных капилляров. Морфологические признаки патологических изменений в эпикарде и перикарде не определены.

Печень не увеличена в размерах, обычной формы, имеет мягкую консистенцию и гладкую поверхность. Глиссонова капсула тонкая,

прозрачная, не напряжена. На разрезе – гистоархитектоника печени не изменена, паренхима умеренно полнокровная. У опытных животных, получавших препарат, в ткани печени выраженных патогистологических изменений не обнаружено. Капсула печени не утолщена, содержит продольно ориентированные пучки коллагеновых волокон. Паренхима печени образована классическими печеночными дольками, состоящими из радиально ориентированных к центральной вене печёночных пластинок или балок. Междольковая соединительная ткань развита слабо, признаки воспалительной инфильтрации и фиброза печени не обнаружены. Гепатоциты полигональной формы, с центрально расположенным ядром, нередко определяется ядрышко. Довольно часто встречаются двуядерные гепатоциты. Синусоидные капилляры обычных размеров. В просвете определяются единичные эритроциты и лейкоциты. В стенке синусоидных гемокапилляров и в пространствах Диссе при больших увеличениях выявляются единичные клетки Купфера, имеющие интактную структуру. В некоторых случаях отмечено умеренное расширение и кровенаполнение синусоидных гемокапилляров, центральных и поддольковых вен. Эндотелиальная выстилка без деструктивных изменений, местами отмечаются набухшие эндотелиоциты с гиперхромными ядрами. Структура холангиол и междольковых желчных протоков без патологических изменений. Все это указывает на то, что изучаемый препарат не оказывает отрицательного влияния на микроскопические структуры печени.

Почки. Гистоархитектоника почек у опытных животных без изменений. Капсула тонкая, без признаков отека и деструкции. В корковом веществе определяются многочисленные почечные тельца. Сосудистые клубочки содержат в основном капиллярные петли открытого типа. Полость капсулы Шумлянского обычных размеров, не содержит форменных элементов крови или каких-либо других патологических отложений. Отмечаются единичные почечные тельца с расширенными полостями капсулы и умеренным кровенаполнением капилляров клубочка. Эпителий

проксимальных, тонких и дистальных отделов нефрона имеет характерную для этих отделов структуру, без признаков деструктивных изменений. Эпителий собирательных трубочек представлен главным образом вставочными клетками в обычном соотношении. В просветах канальцев нефрона и собирательных трубочек не обнаружены преципитаты или другие патологические отложения. Соединительная ткань коркового и мозгового вещества почки нежная, без признаков отека и воспалительных инфильтратов. Микроскопических изменений почек у опытных животных по сравнению с контролем не выявлено.

Селезенка. Капсулы и трабекулы хорошо развиты, содержат достаточно мощные пучки гладкомышечных клеток. В паренхиме отчетливо дифференцированы красная и белая пульпы, которые имеют обычное соотношение, характерное для взрослых животных. Белая пульпа представлена лимфатическими фолликулами различных размеров, по периферии которых определяется центральная артерия. Структурные зоны белой пульпы достаточно разграничены, часть лимфатических фолликулов содержит герминативный или реактивный центр. В реактивных центрах часто обнаруживаются клетки, находящиеся на различных стадиях митотического деления. Красная пульпа богата эритроцитами, там же выявляются макрофаги, в цитоплазме которых содержится пигмент – гемосидерин. Патологических изменений в селезенке в целом не обнаружено.

Поджелудочная железа. Капсула тонкая, в паренхиме четко разграничены срезы долек различных размеров. Основную часть долек занимают ацинусы, состоящие из ацинарных клеток. Гомогенная и зимогенная зоны ациноцитов четко различимы. В каждой долеке определяется островок Лангерганса, размер и топография которого варьирует в достаточно широких пределах. Островки в основном представлены базофильными клетками и расположенными между ними кровеносными сосудами. Междольковая соединительная ткань содержит выводные протоки

и кровеносные сосуды. Поджелудочная железа опытных животных не имела существенных различий по сравнению с контролем.

Надпочечники. На гистологических срезах капсула органа не изменена. Дистрофические изменения в железистых клетках коркового и мозгового вещества надпочечников отсутствуют. Типичное соотношение клубочковой, пучковой и сетчатой зон полностью сохранено. В мозговой части надпочечника хроматинные клетки сохраняют характерную структуру и размеры. Венозные синусы не изменены или слегка расширены.

Желудок. Покровный эпителий покрыт слоем слизи, в которой определяются слущенные клетки. В собственной пластинке обнаруживаются отдельные лимфоциты, плазматические клетки, лимфоидные фолликулы. Сосуды умеренно полнокровны. Железы желудка имеют обычное строение.

Тонкий кишечник. Ворсинки покрыты однослойным призматическим эпителием, среди клеток которого в большом количестве – бокаловидные клетки. В собственной пластинке слизистой оболочке встречаются лимфоциты и плазматические клетки, а также лимфоидные фолликулы. Отмечается умеренно выраженное полнокровие сосудов.

Толстый кишечник без каких-либо патологических особенностей. Крипты довольно правильной формы, располагаются плотно. Соотношение призматических и бокаловидных клеток на поверхности крипт соответствует норме. Местами в подслизистом слое встречаются лимфоидные системы. Кровеносные сосуды заполнены кровью, отмечены периваскулярные отёки.

Таким образом, состояние архитектоники слизистой и подслизистой оболочек ЖКТ у крыс опытных групп соответствует контрольным животным.

Матка. Эндометрий выстлан однослойным призматическим эпителием. Хорошо различается функциональный и базальный слои эндотелия. Встречаются различной длины маточные железы, некоторые из них расширены, эпителий желез низкий цилиндрический, цитоплазма базофильна. Ядра удлиненной формы, занимают большую часть клетки,

окрашены интенсивно и гомогенно. Митозы отсутствуют. Строма богата клетками и аргирофильными волокнами. Слизистая оболочка переходит в подслизистый слой мышечной оболочки, за которым следует сосудистый и надсосудистый слои.

Яичники. Кортикальный и мозговой слои хорошо различимы. Последний образован грубыми соединительнотканными воронками, магистральными сосудами, нервами. В корковой части яичника располагаются премордиальные фолликулы. Фолликулы находятся на разных стадиях развития вплоть до разрывов граафовых пузырьков. Дегенеративных изменений не выявлено. Кровоизлияний и атрофий нет. Растущие фолликулы разной степени зрелости без патологических изменений. В мозговой части яичника соединительная ткань с магистральными сосудами и нервами, склероз, коллагенизация и фрагментация не отмечены.

Яичко. Микроскопия ткани яичек не выявила каких-либо патологических изменений в канальцах и строме. В семенниках извитые канальцы содержат эпителий всех стадий сперматогенеза. Хорошо дифференцируются сперматогонии, спермациты 1 и 11 порядков, пресперматиды и сперматиды. Выявлены в большом количестве сперматозоиды на различных стадиях созревания. Базальные мембраны тонкие. Фолликулярные клетки Сертоли и интерстициальные клетки Лейдига без признаков дегенерации, количество их соответствует контролю. Внутренний диаметр семенных канальцев не уменьшен, склероза и ишемизации базальной мембраны не отмечено. Извитые канальцы выстланы как у контрольных животных многоядерным эпителием, включающим в себя сперматоциты первого и второго порядков, пресперматоциты, сперматиды. Дистрофических изменений в цитоплазме эпителиальных клеток не отмечено. Клетки Сертоли встречаются в небольшом количестве в толще сперматогенного эпителия. Численность их примерно одинакова во всех исследованных случаях. Интерстициальные клетки Лейдига видны в

виде сплошной группы вблизи капилляров. Последние расширены и кровенаполнены.

В заключение следует отметить, что дистрофических, некробиотических и воспалительных изменений у опытных животных, а также достоверных отличий в структуре внутренних органов между опытными и контрольными группами не обнаружено. Выявленные структурные особенности исследованных тканей отражают нормальную функциональную активность внутренних органов.

На основании сравнительного гистоморфологического исследования органов и тканей контрольных и опытных животных можно сделать заключение о том, что при длительном многократном внутрибрюшинном воздействии УНПГС не вызывает патологических изменений в организме.

Головной мозг серовато-белого цвета, влажный, без признаков выраженного отека. Мягкая мозговая оболочка плотно прилежит к веществу мозга, местами наблюдается умеренное расширение и полнокровие венул и мелких вен. Желудочки мозга не увеличены в размерах, содержат умеренное количество прозрачного, бесцветного ликвора.

Цитоархитектоника коры больших полушарий и мозжечка хорошо сохранена, плотность расположения нейронов, и толщина отдельных слоев коры не имеют отличительных особенностей по сравнению с контролем. Нейроциты коры больших полушарий в целом окрашены равномерно. Некоторые клетки несколько увеличены в объеме. Цитоплазма нейроцитов в основном мелкозернистая, с различным распределением хроматофильной субстанции Ниссля. Ядра нейроцитов округлой формы, гиперхромные, с четко выраженным, интенсивно окрашенным ядрышком. В некоторых нейроцитах отмечено умеренное набухание ядер. Часто вокруг сосудов, пирамидных и корзинчатых клеток мозжечка обнаруживались узкиенеокрашенные участки. Нейроны ядер головного мозга, грушевидные клетки Пуркинье мозжечка, а также глиоциты серого вещества мозга в целом имели характерную для них структуру. Не отмечено также и каких-либо

патологических изменений со стороны структурных компонентов гематоэнцефалического барьера. Масса внутренних органов после месячного воздействия препарата исследуемого вещества представлена в табл.3.5.

Таблица 3.5

Масса внутренних органов белых крыс (г) при многократном хроническом воздействии УНПС в различных дозах

Группы животных	Головной мозг	Печень	Почки	Сердце	Легкие	Селезенка
1 группа, 300 мг/кг	11,0±1,3	53,1±6,1	8,0±0,6	5,2±0,4	12,0±1,1	6,4±0,7
2 группа, 150 мг/кг	10,3±1,4	52,6±7,0	8,4±0,8	5,3±0,5	12,3±0,9	6,1±0,8
3 группа, 50 мг/кг	11,0±1,6	53,2±5,8	8,2±0,5	5,1±0,7	12,1±1,4	6,2±0,7
Контроль	10,9±1,2	54,3±6,5	8,5±0,7	5,4±0,6	12,5±1,6	6,3±0,8

Как видно из представленных в таблице данных значимых изменений массы внутренних органов опытных белых крыс по сравнению с контролем не установлено.

§3.3. Изучение мутагенного действия УНПС

«УНПС», используемый в качестве гемосорбента, необходимо всесторонне изучать с точки зрения безопасности его применения.

Одним из основных вопросов в этом отношении является оценка мутагенной активности, которая, как показано в ряде лабораторий мира, в высокой степени коррелирует с канцерогенной активностью и значительно - с тератогенезом (развитием уродств). Следствием мутаций в зародышевых клетках является гибель зигот, эмбрионов, плодов на ранних стадиях развития и передача мутаций из поколения в поколение. Мутации в соматических клетках неизбежно приводят к нарушению генетического

гомеостаза и могут вызывать ускорение процессов старения, повышение общей заболеваемости и образование злокачественных опухолей.

Нами было проведено исследование препарата «УНПГС» на предмет проявления мутагенной активности при воздействии на культуру клеток лимфоцитов человека. Для этого было определено количество хромосомных aberrаций при воздействии «УНПГС» на культуру клеток лимфоцитов человека в течение 72 ч, лимфоциты человека были получены из периферической крови здоровых доноров. Всего был использован 1 образец крови доноров, на образец проводили воздействие препаратом. Результаты определения мутагенной активности представлены в табл. 3.6.

Таблица 3.6

Определение мутагенной активности «УНПГС» при воздействии на культуру клеток лимфоцитов человека

Наименование препарата	Доза воздействия препарата, мг/10 ⁶ клеток (время – 72 ч)	Количество исследованных метафазных пластинок	Количество метафазных пластинок с aberrациями	Aberrации хромосом, %
«УНПГС»	150,0	250	0	0
Контроль	0 (контроль)	250	1	0,4±0,39

«УНПГС» при воздействии на культуру клеток лимфоцитов человека в исследованной дозе 150,0/10⁶ клеток в течение 72 ч, не обладает мутагенной активностью в изученной дозе.

Проведенный комплекс токсикологических, физиологических и биохимических исследований позволяет сделать вывод о том, что предложенный отечественный вариант углеродного гемосорбента по параметрам острой токсичности при внутрибрюшинном воздействии относится к 4 классу – практически нетоксичное вещество. Он не обладает кожно-резорбтивным, местно-раздражающим действием на кожу. Препарат не обладает кумулятивным эффектом. При хроническом внутрибрюшинном

воздействию в дозах 300 мг/кг, 150 мг/кг и 50 мг/кг массы тела не вызывает интоксикацию и гибель животных. В изученных дозах УНПС не обладает мутагенным действием. На основании сравнительного гистоморфологического исследования органов и тканей контрольных и опытных животных сделан вывод о том, что изучаемый гемосорбент не вызывает патологических изменений в организме.

Резюме

Проведенные исследования позволили сделать следующее заключение:

Отечественный углеродный нанопористый гемосорбент характеризуется четкой соразмерностью гранул, абсолютно гладкой поверхностью, шарообразной формой и отсутствием мелких частиц и пыли, что свидетельствует о низкой зольности.

По результатам исследования острой токсичности при внутрибрюшинном введении раствора с гемосорбентом установлен уровень ЛД₅₀ - 6654,0 мг/кг, что характеризует его как практически нетоксичное вещество (относится к 4 классу опасности).

Полученные данные позволили сделать вывод о том, что исследуемое вещество не оказывает отрицательного эффекта на гематологические и биохимические показатели крови, по которым получено недостоверное увеличение изученных показателей ($P > 0,05$) по отношению к контрольным значениям.

Не обнаружено дистрофических, некробиотических и воспалительных изменений у опытных животных, а также достоверных отличий в структуре внутренних органов между опытными и контрольными группами. Выявленные структурные особенности исследованных тканей отражают нормальную функциональную активность внутренних органов.

Таким образом, проведенный комплекс токсикологических, физиологических и биохимических исследований свидетельствует о том, что предложенный отечественный вариант углеродного гемосорбента по параметрам острой токсичности при внутрибрюшинном воздействии относится к 4 классу – практически нетоксичное вещество, не обладает кожно-резорбтивным, местно-раздражающим действием на кожу и кумулятивным эффектом, а также при хроническом внутрибрюшинном воздействии в дозах 300 мг/кг, 150 мг/кг и 50 мг/кг массы тела не вызывает интоксикацию и гибель животных.

ГЛАВА IV. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ НОВОГО СПОСОБА ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОЙ ДЕТОКСИКАЦИИ ПРИ ПЕЧЕНОЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ НА ФОНЕ МЕХАНИЧЕСКОЙ ЖЕЛТУХИ

§4.1. Изучение эффективности УНПГС в исследованиях *in vitro*

Стандартным методом изучения адсорбционной способности гемосорбентов признаны тесты, проводимые с известными химическими веществами с различной молекулярной массой в стандартных условиях.

Наиболее часто используются химические красители: метиленовый синий, нейтральный красный, мурексид, конго красный, витамин В₁₂, метаболиты крови. Адсорбцию изучали в статических условиях при комнатной температуре.

Метиленовый синий (молекулярная масса 319 Да), спектр поглощения в диапазоне 640нм. Методика: к навеске сорбента весом 500 мг добавляли 1 мл физиологического раствора. МС готовили в концентрации 1% в физиологическом растворе. В пробирку с сорбентом добавляли 1 мл 1% раствора МС и помещали в термошейкер на 40 минут. Каждые 10 минут брали образцы надосадочной жидкости и проверяли коэффициент поглощения с использованием спектрофотометра КФК-2.

Концентрацию красителя в растворе определяли до и после проведения адсорбции на спектрофотометре при длине волны 663 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. Рассчитывали значения статической обменной емкости сорбента по формуле:

$$A = \frac{(C_{\text{исх}} - C_{\text{равн}}) \cdot V}{m}, \text{ мг/г}$$

где: $C_{\text{исх}}$, $C_{\text{равн}}$ – исходная и равновесная концентрация вещества в растворе, мг/мл, V - объем раствора, мл; m – масса навески, г.

Изучена адсорбция УНПГС из водных растворов стандартных красителей с различной молекулярной массой: метиленовая синь, мурексид, нейтральный красный, конго красный. Концентрацию веществ в растворе, исходную и после контакта с сорбентом, измеряли на спектрофотометре в

кювете толщиной слоя 10 мм при длине волны: 640 (метиленовая синь), 546 нм (нейтральный красный) и 580 нм (мурексид, конго красный).

Поэтапное определение концентрации красителя в растворе (каждые 10 мин) показало, что степень адсорбции сорбентом в большей степени связана с размером молекул, то есть красители с большой молекулярной массой поглощались через поры сорбента меньше, чем красители с меньшей массой. Так, концентрация Мурексида в надосадочной жидкости через 10 мин после взаимодействия с углеродным гемосорбентом уже достигала 58,2±0,4%, через 30 мин - 76,3±0,6% и 40 мин - 84,2±0,5%, то есть в растворе осталось неадсорбированным около 16% красителя (табл. 4.1).

Таблица 4.1

Динамика показателя коэффициента поглощения красителей с различной молекулярной массой при изучении адсорбционных свойств углеродного гемосорбента (%)

Краситель	Исходно	10 мин	20 мин	30 мин	40 мин
Мурексид	0	58,2±0,4	66,3±0,1	76,3±0,6	84,2±0,5
t-критерий	-	-101,83	-18,04	-15,31	-12,90
P	-	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Метиленовая синь	0	46,2±0,4	50,8±0,2	72,8±0,3	74,5±0,4
t-критерий	-	-80,83	-9,39	-41,45	-2,97
P	-	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Нейтральный красный	0	71,6±0,2	76,8±0,6	87,1±0,4	91,2±0,4
t-критерий	-	-146,15	-7,96	-18,02	-7,17
P	-	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Конго-красный	0	24,9±0,1	32,5±0,7	36,4±0,7	41,0±0,3
t-критерий	-	-55,45	-10,95	-5,62	-8,67
P	-	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

Примечание: t-критерий приведен к предыдущему значению

При этом все конечные показатели концентрации (на 40 мин) достоверно отличались ($P < 0,001$) друг от друга, от минимального поглощения - Конго-красный краситель (41,0±0,3%) до максимального поглощения - Нейтральный красный краситель (91,2±0,4%).

Соответственно, если степень концентрации Мурексида в исходном растворе составляла 100%, то через 10 мин она снизилась до 41,8%, а через 40 мин составляла всего 15,8% (рис. 4.1).

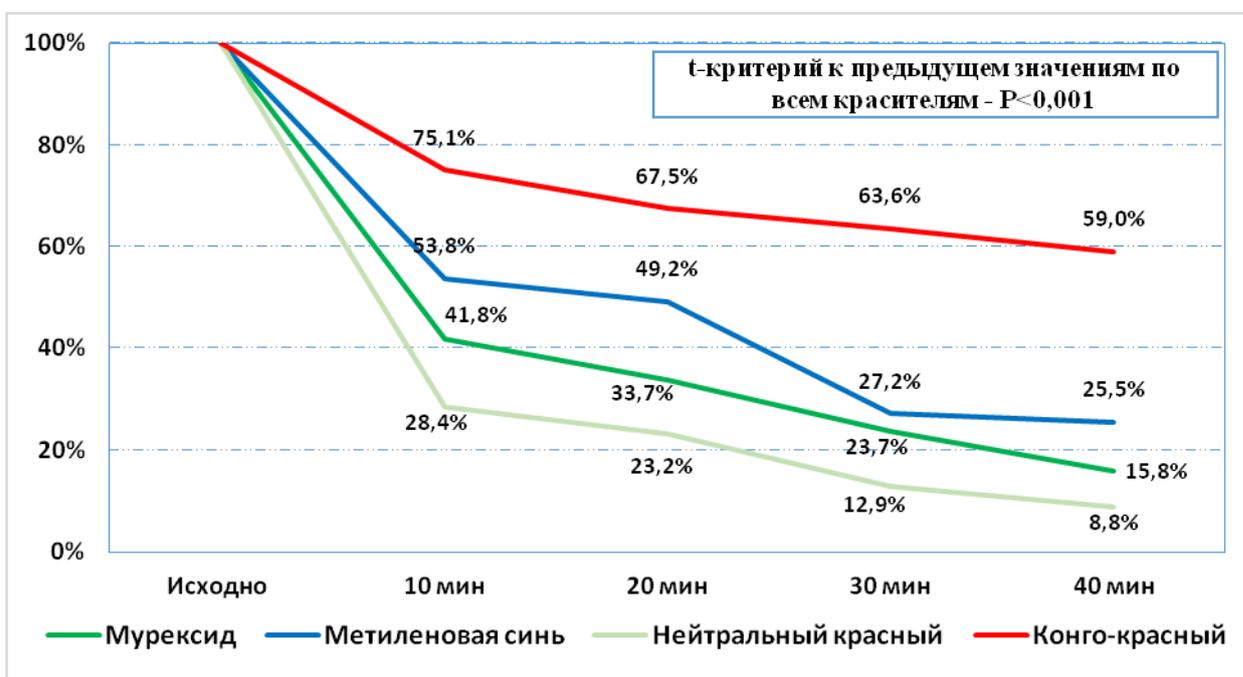


Рис. 4.1. Динамика снижения концентрации исследуемых красителей с различной молекулярной массой (%) при инкубации с углеродным гемосорбентом

Степень адсорбции красителя сорбентом в большей степени связана с размером молекул. Красители с большой молекулярной массой, не соизмеримой с порами сорбента, демонстрируют меньшее поглощение (мол. масса 696, рН 7,65)

Мурексид с молекулярной массой 349,0 рН 7,4 в наибольшей степени соответствует размеру пор сорбента и поэтому в большей степени адсорбируется.

Адсорбция нейтрального красного с молекулярной массой 289 и рН 3,11 также высокая, что связано с соответствием молекулярной массы и формой молекул.

Степень извлечения из раствора метиленовой сини составила несколько меньшую величину - порядка 60%, хотя и существенно превышала показатели адсорбции конго-красного.

Исследования, проведенные для изучения степени поглощения крупномолекулярных соединений, входящих в состав плазмы крови, продемонстрировали слабое поглощение альбумина – менее 8% и не оказывает влияние на концентрацию гамма-глобулинов (менее 5%).

Отсутствие адсорбционной способности УНПГС к иммуноглобулинам может иметь положительное значение при проведении сорбции пациентам с вторичным иммунодефицитным состоянием.

Результаты испытаний подтвердили биологическую совместимость и биоэффективность разработанного отечественного гемосорбента УНПГС в соответствии с существующими требованиями к медицинским препаратам. Мезо- и нанопористая структура сорбента характеризует его высокую активность по отношению к патологическим метаболитам крови при заболеваниях печени и почек.

§4.2. Результаты доклинических исследований ex vivo

Сорбционная активность сорбентов проверялась сначала на модельных растворах, а затем плазме. На модельных растворах в качестве сорбируемой жидкости применяли 10 мл буферного раствора (рН-7,4), в котором содержались: билирубин-200,0мкмоль/л, мочевины – 50,0мкмоль/л, аммиак-150,0 мкмоль/л, лактат -25,0мкмоль/л, креатинин- 150,0 мкмоль/л.

Оценивалось степень снижения концентрации исследуемых метаболитов после инкубации сорбентом в течение 30 минут в термошейкере.

В результате исследований было установлено, при инкубации 10мл исследуемого раствора с сорбентом УНПГС в количестве 200мг концентрация изучаемых метаболитов снижается: билирубина в 5 раз, мочевины в 4 раза, аммиака в 3,7 раз, лактата в 1,5 раз и креатинин в 4,5 раз (табл. 4.2)

Таблица 4.2

Изменение концентрации метаболитов в исследуемом растворе в результате сорбции УНПС

Метаболит	Исходная концентрация	Конечная концентрация	P
Билирубин	200,0±1,2	43,5±2,8	<0,001
Мочевина	50,0±0,8	12,5±2,3	<0,001
Аммиак	150,0±1,9	40,5±2,8	<0,001
Лактат	25,0±0,6	16,7±0,4	<0,001
Креатинин	150,0±1,3	33,3±3,1	<0,001

Максимальная адсорбция метаболитов приходится в первые 10 минут сорбции. Крупномолекулярные соединения адсорбируются дольше в сравнении с низкомолекулярными (креатинин, мочеви́на, лактат) (рис. 4.2)

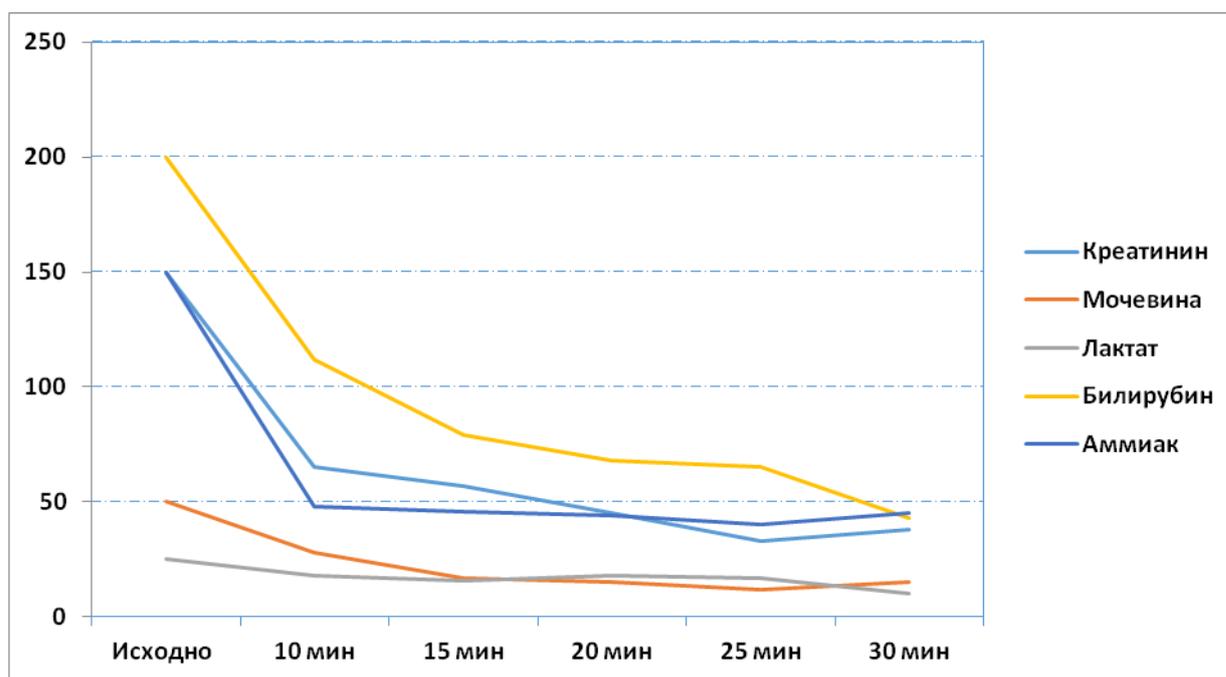


Рис. 4.2. Динамика снижения метаболитов в исследуемом растворе при сорбции УНПС

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что углеродный гемосорбент характеризуется необходимым комплексом свойств и отвечает требованиям, предъявляемым к материалам, предназначенным для взаимодействия с биологическими средами, гемосовместим, обладает

хорошей сорбционной емкостью и высокими кинетическими параметрами по ряду метаболитов при различных видах эндогенной интоксикации.

Влияние гемосорбции на форменные элементы крови. Испытания УНГПС показали, что уровень гемолиза в разбавленной суспензии эритроцитов составил $31 \pm 0,1\%$ против $2,3 \pm 0,1\%$ в контроле, что статистически незначимо ($p > 0,05$).

Исследование параметров гемограммы при инкубации с УНГПС в стендовых опытах *in vitro* (при температуре 25°C , $P=730$ мм.рт.ст.) показало, что инкубация цельной крови с УНГПС приводила к недостоверным ($p > 0,05$) изменениям содержания гемоглобина ($133,7 \pm 0,9$ г/л в контроле против $129,1 \pm 0,5$ г/л в опытной пробе) и форменных элементов крови (табл. 4.3).

Таблица 4.3

Параметры гемограммы при использовании сорбента УНГПС

Показатель	Референс интервал	Контроль (до)	Опыт (после инкубации с КП)	T критерий Стьюдента	P
Нб, г/л	130-160	$133,7 \pm 0,9$	$119,1 \pm 2,2$	1,11	$p > 0,05$
RBC, $10^{12}/\text{л}$	3,5-5,5	$4,62 \pm 0,08$	$4,12 \pm 0,11$	1,11	$p > 0,05$
MCV, фл	82-95	$81,9 \pm 1,2$	$79,1 \pm 2,2$	1,02	$p > 0,05$
MCH, пг	27-32	$28,9 \pm 0,4$	$27,6 \pm 1,1$	1,03	$p > 0,05$
MCHC, г/л	320-360	$352,6 \pm 2,5$	$342 \pm 4,4$	1,02	$p > 0,05$
WBC, $10^9/\text{л}$	4-9	$7,1 \pm 0,5$	$6,9 \pm 0,4$	0,95	$p > 0,05$
PLT, $10^9/\text{л}$	180-400	$266,9 \pm 16,2$	$220,1 \pm 12,1$	1,18	$p > 0,05$

Так, количество эритроцитов было недостоверно снижено относительно исходного на 11,1% ($p > 0,05$), количество тромбоцитов (PLT) – на 17,3%, количество лейкоцитов (WBC) – на 3%. Эритроцитарные индексы также снижались незначительно: среднее содержание гемоглобина в эритроците – на 4,5%, средняя концентрация гемоглобина в эритроците (MCHC) – на 2,8%, средний объем эритроцитов (MCV) - на 3,4%, что достоверно не отличались от таковых показателей до инкубации ($p > 0,05$).

Для изучения морфологических форм эритроцитов в нашей работе мы придерживались классификации Козинец, 1987. Согласно этой классификации, выделяют следующие морфологические формы эритроцитов: дискоциты (85%), дискоциты с одним выростом (3-3,5%), дискоциты с гребнем (5-6%), дискоциты с множественными выростами (3-4%), эритроциты в виде тутовой ягоды (0-0,5%), купулообразные эритроциты (1-1,5%), сферические гладкие эритроциты (0,01-0,1%), сферические эритроциты с выростами (0,01-0,1%), эритроциты в виде спущенного мяча (0-1%), дегенеративно измененные эритроциты (0-0,5%). Морфологическая характеристика форм эритроцитов по Козинец (1987) изображена на рис. 4.3.



Рис. 4.3. Мазок крови, окрашенный по Май-Грюнвальду (контроль). Морфологические формы эритроцитов в пределах нормы: дискоцитов 90%, переходных форм – 9%, дегенеративных форм – 1%.

Изучение нативных и окрашенных мазков крови здоровых доноров до инкубации с УНГПС (контроль) показало, что содержание дискоцитов составило $88,3 \pm 0,6\%$; переходных форм эритроцитов – $9,8 \pm 0,3\%$; прегемолитических дегенеративных форм – $1,8 \pm 0,1\%$. (рис. 4.3).

Инкубация цельной крови в течение 20 минут с гемосорбентом УНГПС не привела к значимым изменениям морфологии эритроцитов (рис. 4.4).

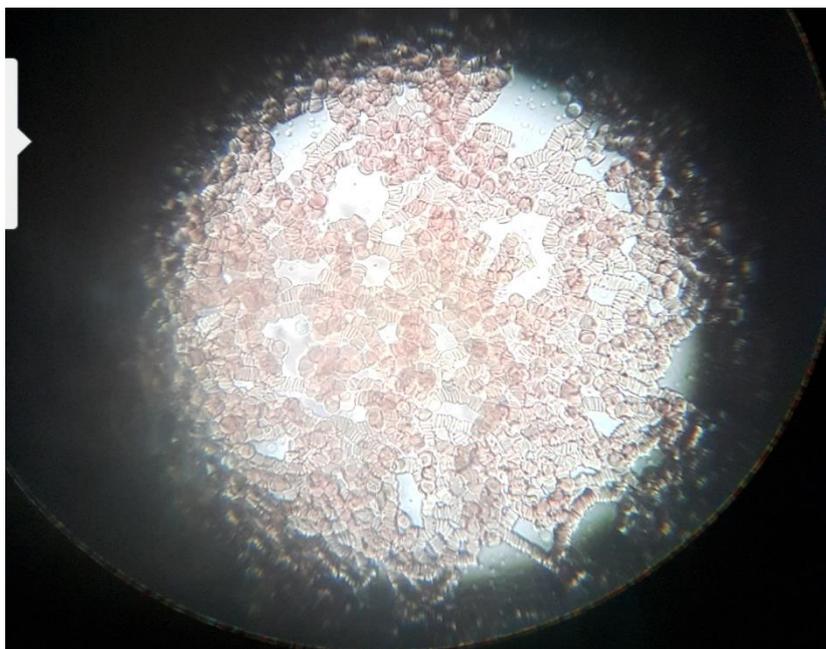


Рис. 4.4 Микроскопия нативного мазка после инкубации с УНГПС 20 минут, увеличение 10х1. Имеются в небольшом количестве измененные эритроциты – гемолизированные (тени) - менее 3%, дегенеративные прегемолитические формы эритроцитов - 12%, дискоцитов – 85%.

В окрашенном мазке крови после инкубации с УНГПС морфологические формы эритроцитов, лейкоцитов – палочкоядерные, сегментоядерные нейтрофилы, а также лимфоциты не изменялись ни качественно, ни количественно, отмечено снижение количества тромбоцитов на $17,3 \pm 1,2\%$ относительно контроля, отметим, что эти отличия статистически незначимы ($p > 0,05$). Возможно, снижение количества тромбоцитов обусловлено адсорбцией и объемной/поверхностной агрегацией тромбоцитов на КП.

Количество дискоцитов после инкубации с УНГПС в среднем составило $83,6 \pm 1,4\%$, переходных форм – $10,2 \pm 1,6\%$, прегемолитических форм – $5,1 \pm 1,0\%$, что достоверно не отличалось от показателей до инкубации. Морфологические формы эритроцитов после инкубации с УНГПС представлены ниже (рис. 4.5).

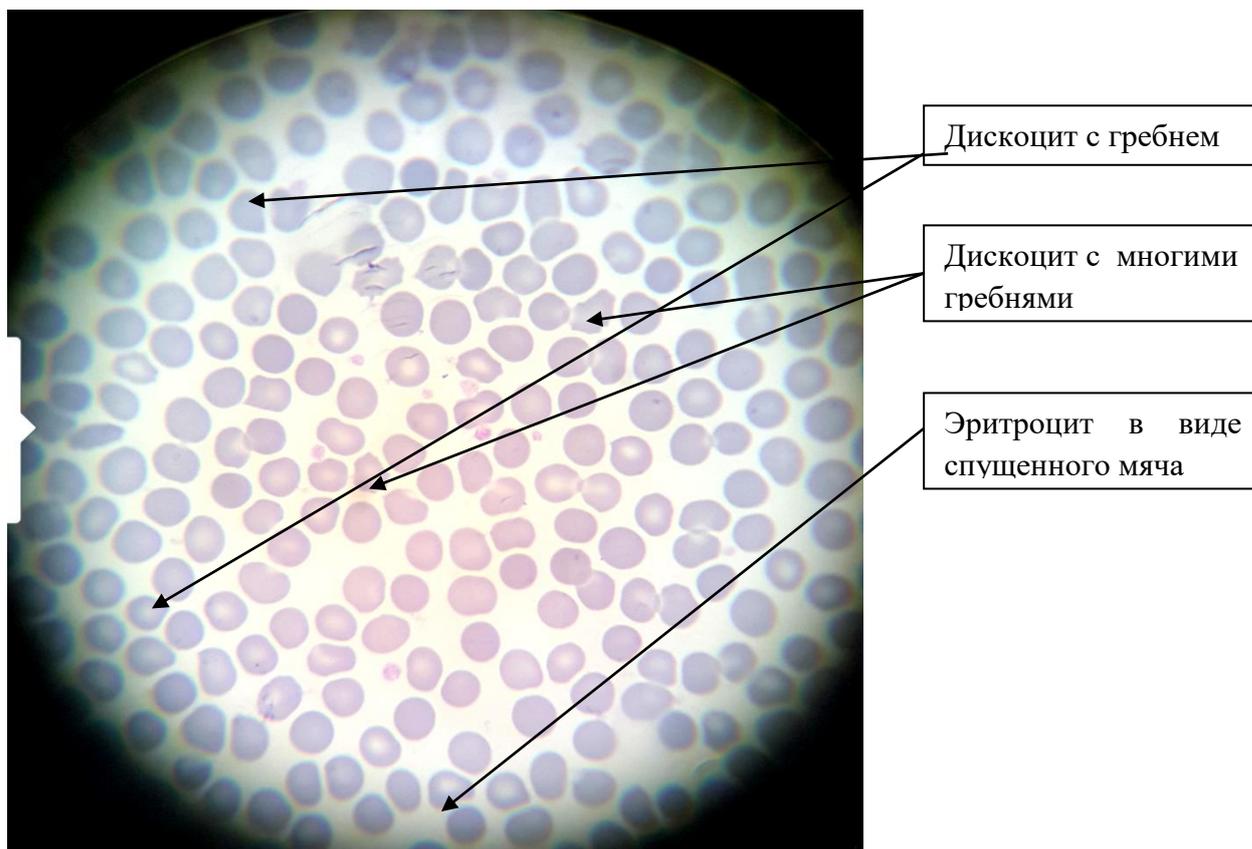


Рис. 4.5. Мазок крови, окрашенный по Май-Грюнвальду (инкубация с УНПГС). Морфологические формы эритроцитов в пределах нормы: 86% дискоцитов, дискоцитов с одним гребнем – 6,%, дискоцитов с множественными гребнями – 5%, прегемолитических форм – 2%

Согласно требованиям международного стандарта ISO10993-1 от 2016 года, «гемосовместимость» означает, что контактирующий с кровотоком фильтр не вызывает существенного изменения содержания форменных элементов крови и не нарушает состав крови. Исходя из этого положения, УНПГС, как показали вышеизложенные результаты, является перспективным материалом для создания фильтров для ЭД, т.к. она не вызывает изменений гемограммы и морфологии форменных элементов крови. Требуется дальнейшее изучение коагуляционных свойств УНПГС.

Влияние нового сорбента УНПГС на систему свертывания крови.

Согласно международному стандарту ISO10993-1 от 2016 года, для оценки компонентов систем для ЭД, относящимся к изделиям, имплантируемым извне и контактирующим с непрямой кровотоком, необходимо провести

тесты на гемосовместимость, частью которых является оценка параметров коагуляции.

Проведены стандартные тесты исследования системы гемостаза: частичное тромбопластиновое время (ЧТВ); протромбиновое время (ПВ), фибриноген. Тесты на оценку степени развития тромбоза и адгезии тромбоцитов к гранулам сорбента не проведены, т.к. методика экстракорпоральной детоксикации предусматривает исключительно использование плазмы пациента, т.е. непосредственного контакта с форменными элементами крови не происходит.

Частичное тромбопластиновое время – это время образования сгустка в рекальцифицированной цитратной плазме при добавлении частичного тромбопластина - фосфолипидная взвесь мозга или легких млекопитающих (сокращение показателя ЧТВ, возникающее при контакте с материалом, указывает на гиперкоагуляцию, рассматривается как фактор опасности тромбозов).

ПВ – время свертывания плазмы при добавлении тромбопластина с известной активностью (в присутствии тромбопластина время образования сгустка зависит от концентрации протромбина, V, VII, X факторов свертывания);

Проведены стендовые опыты с гранулами УНПГС, которые инкубировали с 40-50-ти кратным объемом сливной донорской плазмы от здоровых добровольцев в течение 10 минут (краткосрочный контакт); 60 минут (среднесрочный контакт) и 120 минут (длительный контакт), моделируя процедуру плазмосорбции, которая, в среднем занимает 2-4 часа. Согласно полученным нами результатам, в стендовых опытах *in vitro* при использовании большого объема плазмы (1:40), после инкубации донорской плазмы с сорбентом параметры гемостазиограммы: ПВ, ЧТВ, фибриноген статистически достоверно не отличаются от контроля ($p < 0,05$) (табл. 4.4).

Таблица 4.4**Параметры гемостазиограммы после инкубации УНГПС с донорской плазмой в течение 10 минут**

Группа	Параметр гемостазиограммы		
	ЧТВ, сек	ПВ, сек	ФБ, мг
Контроль (сливная донорская плазма без подложек)	124,5 ±0,7	13,76± 0,13	2658± 36
УНГПС	123,2± 0,65	15,64 ±0,12	2646 ±68
P	p>0,05	p>0,05	p>0,05

Время инкубации с УНГПС также не влияет на динамику показателей ЧТВ, ПВ и фибриногена (табл. 4.5).

Таблица 4.5**Параметры свертывания крови после длительной инкубации УНГПС с донорской плазмой**

Название сорбента	Параметры свертывания крови Время инкубации = 60 мин			Параметры свертывания крови Время инкубации = 120 мин		
	ЧТВ,сек	ПВ,сек	ФБ,мг	ЧТВ,сек	ПВ,сек	ФБ,мг
Контроль	106,7 ±2,7	15,6± 0,2	2643± 24	113,3 ±1,2	15,2± 0,8	2676± 29
УНГПС	102,8± 5,32	15,7 ±0,3	2675± 36	109,7± 1,7	15,1 ±0,4	2276± 47

Отсутствие существенных отклонений ПВ при контакте с УНГПС свидетельствует об отсутствии влияния сорбента на исследуемый фактор свертывания крови. ЧТВ – свидетельствует об усилении активности протромбиназы, связанной с факторами XII, XI, IX, VIII, а также с протромбиназой (Ха, Va, IIa). Влияет также уровень антитромботической активности плазмы. Следует отметить, что изменения ЧТВ наблюдаются при сдвиге даже одного из факторов свертывания крови.

Таким образом, гемосорбент УНГПС не оказывает влияния на гемокоагуляцию. Доклинические испытания показали, что морфология форменных элементов крови и гемокоагуляция при использовании сорбента УНГПС не нарушаются.

Интересные результаты получены по исследованию концентрации общего белка и белковых фракций сыворотки крови, которые выявили, что

после сорбции УНПГС происходит несущественное снижение общего белка на 4,2%, при этом не отмечается изменения соотношения фракций альбумина и глобулина (табл. 4.6).

Таблица 4.6
Изменение концентрации белковых фракций при сорбции УНПГС

Белки	До ГС	После ГС	t (p)
Общий белок (г/л)	7,2+0,2	6,9+0,3	1,47 (>0,05)
Альбумин (%)	59,6+2,5	56,2+3,1	1,39 (>0,05)
Глобулин (%)	41,4+1,9	43,8+2,3	1,07 (>0,05)

Таким образом, определено, что одним из положительных свойств УНПГС наряду с высоким сорбционным эффектом желчных пигментов является несущественное влияние на сорбционную активность в отношении показателя общего белка и соотношения его фракций (альбумина и глобулина) по значениям которых не было получено достоверных различий до и после ГС.

§4.3. Доклиническая оценка эффективности УНПГС в экспериментах *in vivo*

Исследования выполнены на модели МЖ у беспородных собак. Модель эксперимента заключалась в формировании обтурации общего желчного протока. С целью обеспечения выживания животных в эксперименте применена усовершенствованная модель формирования механической желтухи (МЖ). На данный способ подана заявка на изобретение в Агентство интеллектуальной собственности Республики Узбекистан («Способ моделирования механической желтухи в эксперименте»).

Изобретение относится к экспериментальной медицине, а именно к экспериментальной хирургии, и может быть использовано для моделирования регулируемой обструкции общего желчного протока для формирования МЖ.

Наиболее близким к предлагаемому является способ моделирования МЖ в эксперименте у млекопитающего, включающий лапаротомию и

выделение общего желчного протока, отличающийся тем, что обходят выделенный проток синтетической нитью на расстоянии 2-2,5 см от латерального края двенадцатиперстной кишки, проводят концы нити через полихлорвиниловую трубку с внутренним диаметром 0,5 см, введенную в брюшную полость между желчным протоком и кожным покровом, и осуществляют компрессию желчного протока дозированным натяжением нити, которую фиксируют узлом на трубке подкожно (Патент ВУ 11088 С1 от 30.08.2008).

Недостатками прототипа являются: сложность предложенной конструкции; высокий риск повреждения желчного протока за счет возможности полной перевязки и отсутствия наглядного мониторинга силы натяжения нити; высокий риск инфицирования через полихлорвиниловую трубку находящейся в брюшной полости в связи с частым открыванием кожной раны для контроля силы натяжения нити.

Задачами предложенного нами способа является упрощение осуществления, создание дозированной компрессии общего желчного протока и обеспечение возможности моделирования желтухи различной степени выраженности.

Для решения поставленных задач предлагается способ моделирования механической желтухи в эксперименте, включающий лапаротомию и выделение общего желчного протока, отличающийся тем, что общий желчный проток выделяют на протяжении 1,0-1,5 см, подводят под выделенный проток сосудистый тefлоновый протез диаметром 10-12 мм и длиной 5-10 мм, продольно рассеченный по всей длине, далее фиксируют протез поверх протока сшиванием рассеченной части протеза 3-4 узловыми швами нитью Пролен 3/0, вводят баллонную часть катетера Фогарти между общим желчным протоком и сосудистым протезом, выводят дистальную часть катетера Фогарти через контраппертуру, послойное ушивают брюшную полость животного, и осуществляют компрессию желчного протока дозированным раздуванием баллона катетера Фогарти.

Сопоставительный анализ с наиболее близким аналогом показывает, что способ отличается тем, что общий желчный проток выделяют на протяжении 1,0-1,5 см, подводят под выделенный проток сосудистый тефлоновый протез диаметром 10-12 мм и длиной 5-10 мм, продольно рассеченный по всей длине, далее фиксируют протез поверх протока сшиванием рассеченной части протеза 3-4 узловыми швами нитью Пролен 3/0, вводят баллонную часть катетера Фогарти между общим желчным протоком и сосудистым протезом, выводят дистальную часть катетера Фогарти через контрапертуру, послойно ушивают брюшную полость животного, и осуществляют компрессию желчного протока дозированным раздуванием баллона катетера Фогарти.

Эти отличительные признаки позволяют сделать вывод о новизне технического решения. Причинно-следственная связь:

Использование сосудистого тефлонового протеза позволяет фиксировать баллонную часть катетера Фогарти в необходимом для компрессии желчного протока месте не локально, как при перевязке или лигатурной обструкции, а на протяжении.

Эластичный баллон катетера Фогарти исключает повреждение стенок общего желчного протока и близлежащих органов. В отличие от лигатурного пережатия, при котором формируется локальная странгуляционная обтурация холедоха с вероятностью острой ишемии этого участка и последующим формированием стриктуры, предложенный способ обеспечивает сдавление протока на протяжении, а возможность регулирования степени обструкции позволит избежать повреждения ОЖП.

Раздуванием баллона катетера Фогарти, расположенного между сосудистым тефлоновым протезом и общим желчным протоком, обеспечивается компрессия последнего на протяжении 5-10 мм.

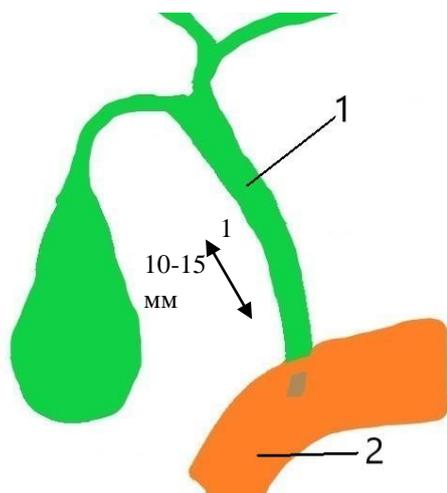
Дозированное раздувание баллона катетера Фогарти позволяет моделировать механическую желтуху различной степени тяжести и регулировать степень обструкции.

После окончания эксперимента баллон сдувается и катетер удаляется без дополнительного хирургического вмешательства на животном.

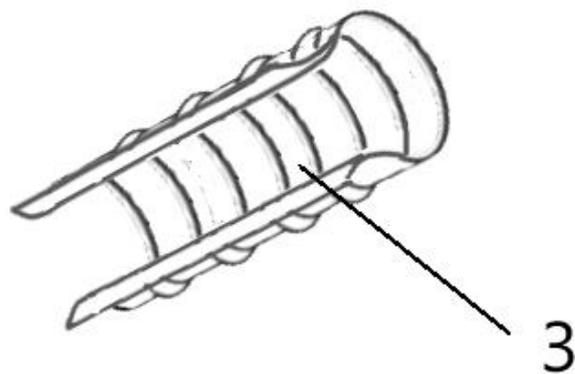
Исключение перевязки и/или пересечения общего желчного протока упрощает осуществление методики без необходимости в восстановлении пассажа желчи повторным реконструктивно-восстановительным хирургическим вмешательством.

Таким образом, предлагаемый способ обладает новизной и может быть применен в экспериментальной хирургии.

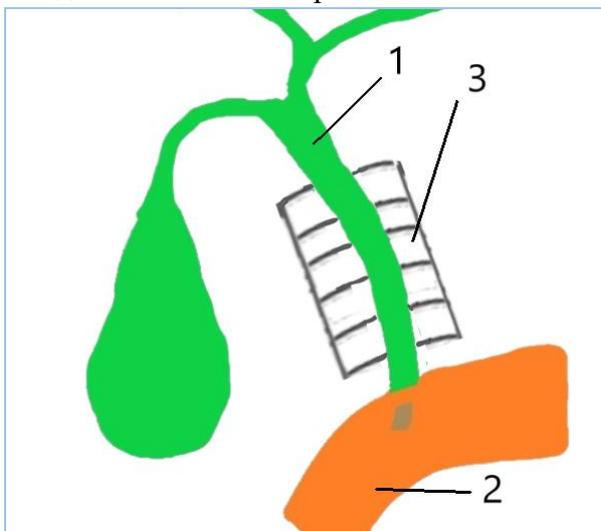
Способ осуществляют следующим образом: Беспородным собакам (самцы и самки) средней массой от 9000 г под внутривенным наркозом производят лапаротомию в правом подреберье, выделяют общий желчный проток (1) (ОЖП) на расстоянии 1,0-1,5 см от двенадцатиперстной кишки (2) на протяжении 1,0-1,5 см. Под ОЖП подводят сосудистый тefлоновый протез (3) диаметром 10-12 мм и длиной 5-10 мм, продольно рассеченный по всей длине. Фиксацию протеза поверх желчного протока выполняют сшиванием рассеченной части протеза 3-4 узловыми швами. В пространство между ОЖПи сосудистым протезом вводят баллонную часть катетера Фогарти (4). Широкий диаметр протеза обеспечивает свободное проведение в просвет протеза с проходящим ОЖП баллона катетера Фогарти. Дистальную часть катетера Фогарти (5) выводят через контраптертуру. Производят послойное ушивание брюшной полости животного. Далее при раздувании баллона катетера Фогарти (4) происходит компрессия общего желчного протока (1). В зависимости от объема раздувания моделируется степень сужения просвета ОЖП и МЖ различной интенсивности (рис. 4.6).



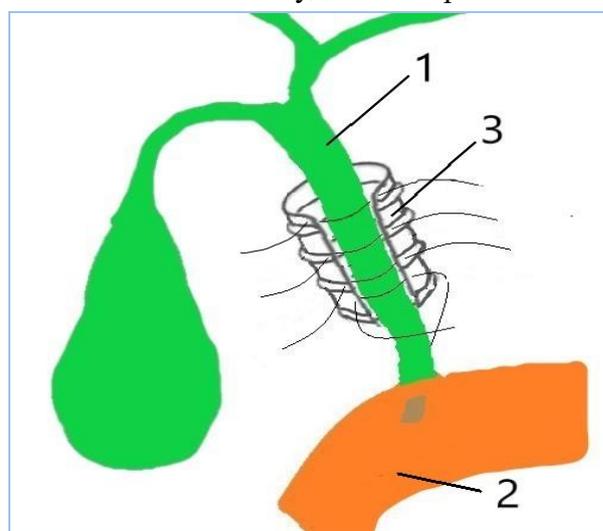
Выделение ОЖП на протяжении 10-15 мм



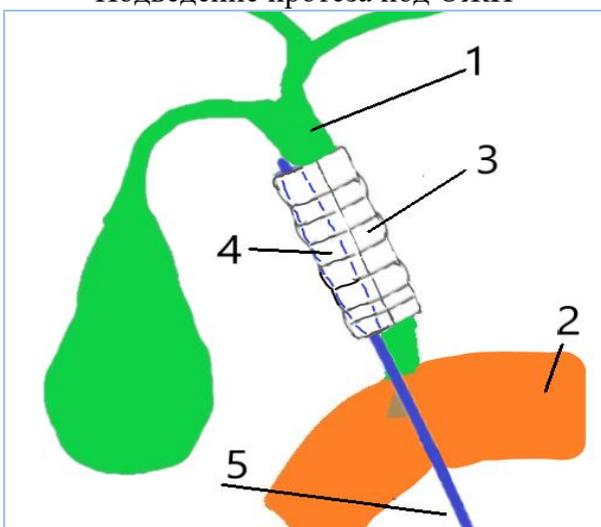
Рассечение сосудистого протеза



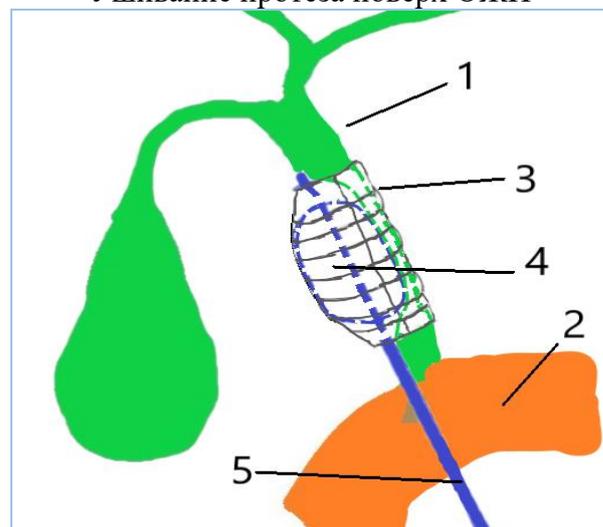
Подведение протеза под ОЖП



Ушивание протеза поверх ОЖП



Введение в просвет протеза баллона катетера Фогарти



Раздувание в просвете протеза баллона катетера Фогарти

Примечание: 1 – ОЖП; 2 – двенадцатиперстная кишка; 3 – Сосудистый протез; 4 – Баллон катетера Фогарти; 5 – Дистальная часть катетера Фогарти

Рис. 4.6. Схематичное отображение этапов выполнения способа моделирования механической желтухи в эксперименте

После окончания эксперимента нарушение пассажа желчи, следовательно, и механическая желтуха ликвидируется в результате сдувания баллона и удаления катетера Фогарти из брюшной полости животного без дополнительного хирургического вмешательства.

Из вышесказанного видно, что предлагаемый способ моделирования механической желтухи в эксперименте позволяет создать адекватную модель механической желтухи, которая позволяет провести клинико-биохимические исследования возникших при этом нарушений гомеостаза и оценить эффективность коррекции функции печени (например, при проведении различных методов экстракорпоральной детоксикации).

Приводим пример, подтверждающий возможность использования предлагаемого способа.

Четырем беспородным собакам, сходным по возрасту и весу под внутривенным кетаминным наркозом выполняли лапаротомию в правом подреберье. Выделялся общий желчный проток, после чего выполнялась компрессия последнего по предложенной нами методике (рис. 4.7).

Через 24 часа оценивалась клиническая картина механической желтухи у животных и лабораторные изменения, проводили морфологические исследования. При этом обнаруживалось, что у всех животных наблюдалось интенсивное желтушное окрашивание слизистых и кожного покрова, в биохимическом анализе крови отмечался значительный рост общего билирубина за счет прямой фракции.

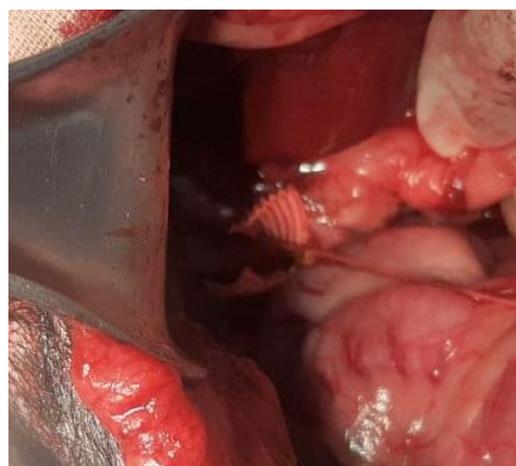
На 5 сутки баллон катетера Фогарти распускался и катетер удалялся. Проводились необходимые клинико-биохимические исследования. После удаления катетера Фогарти явления механической желтухи регрессировали.

Таким образом, использование предложенного способа позволило создать дозированную компрессию общего желчного протока и добиться возможности моделирования желтухи различной степени выраженности за

счет возможности регулирования объема введенного воздуха в баллон катетера Фогарти, при этом удалось избежать перевязки желчного протока, требующей в последствии выполнения повторной реконструктивной желчеотводящей операции, отличающейся сложностью и возможностью осложнений и обеспечить выживание экспериментальных животных.



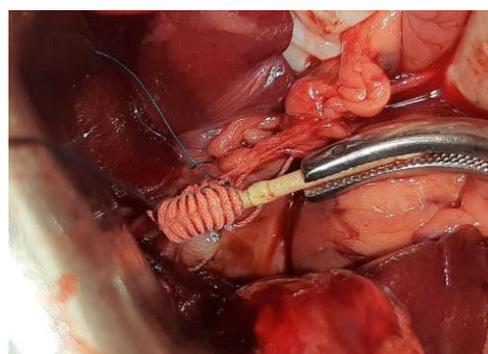
Выделенный ОЖП



Подведение протеза под ОЖП



Ушивание протеза поверх ОЖП



Раздувание в просвете протеза баллона катетера Фогарти

Рис. 4.7. Этапы выполнения способа моделирования механической желтухи в эксперименте

Таблица 4.7

Показатели тяжести развития МЖ на 5 сутки и снижение биохимических показателей после окончания эксперимента

Показатель	5 сутки эксперимента	2 сутки после эксперимента	5 сутки после эксперимента
Общий билирубин (мкмоль/л)	216,0±13,2	146,0±10,5	82,5±9,0
Мочевина (ммоль/л)	11,8±,9	10,3±0,6	8,3±0,5
Креатинин (мкмоль/л)	154,8±15,1	134,5±8,6	99,0±5,8
Аммиак (мкмоль/л)	61,0±1,5	51,3±2,0	35,0±2,2
Общий белок (г/л)	69,0±1,3	62,8±1,0	66,0±1,9

В наших исследованиях в этой стадии эксперимента формирование МЖ выполнено у 12 животных, максимальная клиническая картина патологического процесса проявилась на 5 сутки после операции. С этого времени экспериментальные животные были разделены на 3 группы по 4 животных:

Контрольная группа №1 – животные, которым после восстановления пассажа желчи (на 5 сутки) лечебные процедуры в виде экстракорпоральной детоксикации не проводились.

Контрольная группа №2 – животные, которым на 5 сутки после формирования патологического процесса и восстановления пассажа желчи плазмасорбция (2 сеанса) проводилась с применением угольного сорбента на основе анионообменной смолы - АН-221 (производитель ООО «Химимпэкс», Украина).

Опытная группа - животные, которым на 5 сутки после формирования патологического процесса и восстановления пассажа желчи выполнялось 2 сеанса экстракорпоральной детоксикации с отечественным гемосорбентом.

Основной задачей эксперимента была оценка сорбционной эффективности отечественного гемосорбента в сравнении с другим средством, при этом исходно мы не преследовали цель улучшения сорбционных свойств, так как исследовался первый отечественный углеродный сорбент, который в первую очередь не должен уступать по заданным свойствам зарубежным аналогам.

Контрольной точкой для определения эффективности применения плазмасорбции с новым отечественным гемосорбентом были 5 сутки после начала формирования экспериментальной модели МЖ. В обеих группах баллон катетера Фогарти сдувался и последний удалялся. Оценивалась динамика снижения основных биохимических показателей крови у экспериментальных животных. Животным, которым проводилась ПС с различными сорбентами, выполнялось 2 сеанса детоксикации по 1 сеансу в день с повторными заборами плазмы за один сеанс до 3-х раз.

Методика заключалась в следующем. Канюлировалась бедренная вена. Производился забор 200мл крови из вены, с последующим замещением 150мл физиологического раствора. Кровь забиралась в стерильный контейнер с цитратом натрия. Полученная кровь центрифугировалась со скоростью 3000об/мин в течение 15 минут. Плазма крови забиралась для процедуры, эритроцитарная масса возвращалась в русло. Плазма крови подключалась к аппарату УНИРОЛ и пропусклась через гемосорбент УНПГС. В количестве 100г в контейнере. В режиме рециркуляции под давлением 100см.вод.ст. проводилась сорбция при комнатной температуре в течение 20 минут. В последующем плазма возвращалась в русло. Процедура плазмосорбции проводилась с повторными заборами плазмы до 3-х раз с целью максимального снижения концентрации метаболитов в крови животного. Осложнений не было.

Клиника прогрессирования МЖ приводила к учащению пульса на 32%, возрастанию АД на 18%(систола) и 28%(диастола) (табл. 4.8). При этом гемодинамические параметры во всех группах расходились незначительно, поэтому приведены средние значения по всем группам.

Таблица 4.8

Гемодинамические показатели животных при МЖ

Показатель	Исходно норма	МЖ	После 2-3 сеансов ПС
ЧСС	134±4,2	168±5,8	145±6,7
АД (систола.)	118±3,1	132±6,2	131±4,3
АД (диастол.)	82±3,5	87,0±3,7	98,2±5,4

Интересные данные получены при динамической оценке биохимических показателей. Так, если исходно после моделирования МЖ на 5 сутки уровень общего билирубина не отличался в группах сравнения, то в дальнейшем проведение 2 сеансов ПС позволило более существенно снизить этот показатель. В контроле без ПС общий билирубин за двое суток снизился с $216,0 \pm 13,2$ до $146,0 \pm 10,5$ мкмоль/л, тогда как при проведении ПС с угольным сорбентом (контроль №2) эти значения изменились с $213,8 \pm 8,0$ до

100,5±6,1 мкмоль/л, что достоверно ($p<0,05$) отличалось от контроля №1. Применение отечественного углеродного гемосорбента привело к снижению уровня билирубина после 2 сеанса ПС с 217,3±6,6 до 90,3±5,4 мкмоль/л, что также достоверно ($p<0,05$) отличалось от контроля №1, но при этом по отношению к угольному сорбенту получено не существенное различие ($p>0,05$).

Уровень мочевины в контроле без ПС за двое суток снизился с 11,8±0,9 до 10,3±0,6 ммоль/л, тогда как при проведении ПС с угольным сорбентом (контроль №2) эти значения изменились с 11,5±1,2 до 8,3±0,5 ммоль/л, что достоверно ($p<0,05$) отличалось от контроля №1. Применение отечественного углеродного гемосорбента привело к снижению уровня мочевины после 2 сеанса ПС с 11,0±1,1 до 8,3±0,3 ммоль/л, что также достоверно ($p<0,05$) отличалось от контроля №1, но при этом по отношению к угольному сорбенту получено не существенное различие ($p>0,05$).

В контроле без ПС креатинин за двое суток снизился с 154,8±15,1 до 134,5±8,6 мкмоль/л, тогда как при проведении ПС с угольным сорбентом (контроль №2) эти значения изменились с 151,8±7,7 до 104,5±3,9 мкмоль/л, что достоверно ($p<0,05$) отличалось от контроля №1. Применение отечественного углеродного гемосорбента привело к снижению уровня креатинина после 2 сеанса ПС с 151,3±10,3 до 107,8±7,1 мкмоль/л, что также достоверно ($p<0,05$) отличалось от контроля №1, но при этом по отношению к угольному сорбенту получено не существенное различие ($p>0,05$).

В контроле без ПС аммиак за двое суток снизился с 61,0±1,5 до 51,3±2,0 мкмоль/л, тогда как при проведении ПС с угольным сорбентом (контроль №2) эти значения изменились с 59,3±1,7 до 45,5±1,2 мкмоль/л, что достоверно ($p<0,05$) отличалось от контроля №1. Применение отечественного углеродного гемосорбента привело к снижению уровня креатинина после 2 сеанса ПС с 60,3±2,3 до 44,0±1,5 мкмоль/л, что также достоверно ($p<0,05$) отличалось от контроля №1, но при этом по отношению к угольному сорбенту получено не существенное различие ($p>0,05$) (табл. 4.9).

Таблица 4.9

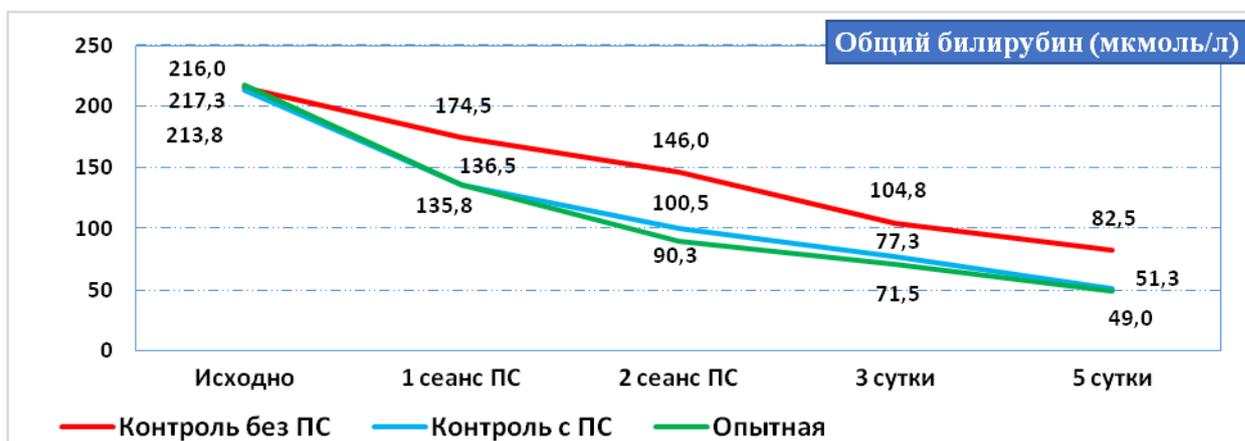
**Изменения концентрации метаболитов в крови у животных в динамике
после проведения ПС**

Показатель	Период	Значение	Контроль без ПС	Контроль с ПС	Опытная
Общий билирубин (мкмоль/л)	Исходно	М	216,0	213,8	217,3
		m	13,2	8,0	6,6
	После ПС	М	146,0	100,5	90,3
		m	10,5	6,1	5,4
t к контролю без ПС			-	-3,75 (p<0,05)	-4,74 (p<0,05)
t к контролю с ПС			-	-	-1,26 (p>0,05)
Мочевина (ммоль/л)	Исходно	М	11,8	11,5	11,0
		m	0,9	1,2	1,1
	После ПС	М	10,3	8,3	8,3
		m	0,6	0,5	0,3
t к контролю без ПС			-	-2,53 (p<0,05)	-2,95 (p<0,05)
t к контролю с ПС			-	-	0,00 (p>0,05)
Креатинин (мкмоль/л)	Исходно	М	154,8	151,8	151,3
		m	15,1	7,7	10,3
	После ПС	М	134,5	104,5	107,8
		m	8,6	3,9	7,1
t к контролю без ПС			-	-3,19 (p<0,05)	-2,41 (p<0,05)
t к контролю с ПС			-	-	0,40 (p>0,05)
Аммиак (мкмоль/л)	Исходно	М	61,0	59,3	60,3
		m	1,5	1,7	2,3
	После ПС	М	51,3	45,5	44,0
		m	2,0	1,2	1,5
t к контролю без ПС			-	-2,46 (p<0,05)	-2,90 (p<0,05)
t к контролю с ПС			-	-	-0,79 (p>0,05)
Общий белок (г/л)	Исходно	М	69,0	68,5	67,3
		m	1,3	1,3	2,3
	После ПС	М	62,8	55,8	60,5
		m	1,0	1,1	0,9
t к контролю без ПС			-	-4,62 (p<0,05)	-1,67 (p>0,05)
t к контролю с ПС			-	-	3,38 (p<0,05)

Что касается показателя общего белка, то проведение ПС с угольным сорбентом привело к достоверному снижению за счет сорбционного осаждения белковых фракций в порах сорбента. Если в контроле без ПС показатель белка в крови за двое суток изменился незначительно - с $69,0 \pm 1,3$ до $62,8 \pm 1,0$ мкмоль/л, то при проведении ПС с угольным сорбентом (контроль №2) эти значения изменились с $68,5 \pm 1,3$ до $55,8 \pm 1,1$ мкмоль/л, что достоверно ($p < 0,05$) отличалось от контроля №1.

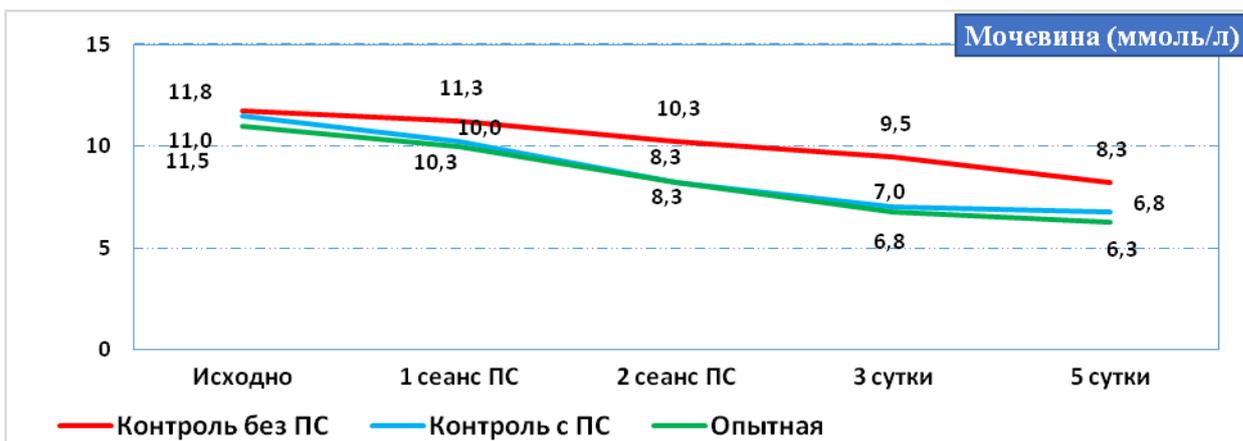
Применение отечественного углеродного гемосорбента за счет заданного размера пор не привело к существенному снижению уровня общего белка в крови и после 2 сеанса ПС этот показатель изменился с $67,3 \pm 2,3$ до $60,5 \pm 0,9$ мкмоль/л, что достоверно ($p > 0,05$) не отличалось от контроля №1, но при этом по отношению к угольному сорбенту получено существенное различие ($p < 0,05$) (табл. 4.9).

Более наглядная динамика биохимических показателей представлена на рис. 4.7-4.11. Отмечено, что после проведения ПС происходило более быстрое восстановление рассматриваемых биохимических маркеров синдрома печеночной интоксикации.



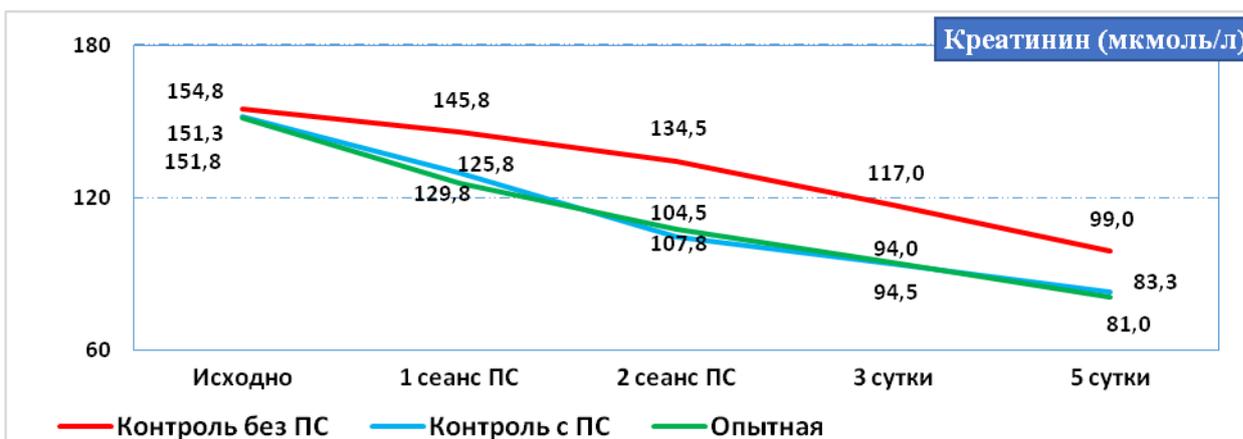
Достоверность различий					
Сутки	0	1	2	3	5
Контроль без ПС к контролю с ПС	0,15	2,69	3,75	3,00	3,26
Опытная к контролю с ПС	0,34	0,09	1,26	1,22	0,43
Опытная к контролю без ПС	0,08	2,66	4,74	3,95	3,41
Примечание:	$p < 0,05$	$p > 0,05$			

Рис. 4.7. Динамика снижения показателя общего билирубина (мкмоль/л) в исследуемых группах



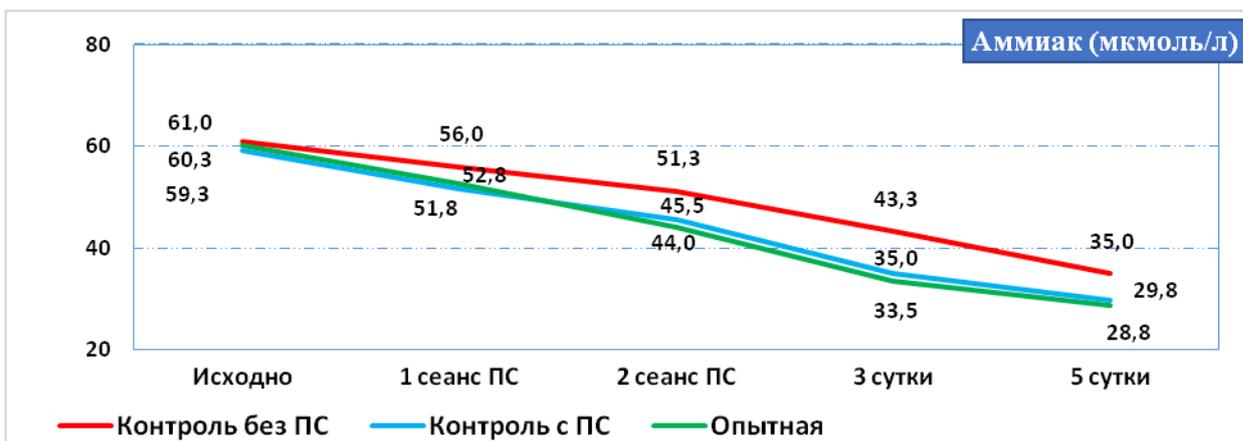
Достоверность различий					
Сутки	0	1	2	3	5
Контроль без ПС к контролю с ПС	-0,17	-0,83	-2,53	-3,87	-2,78
Опытная к контролю с ПС	-0,31	-0,19	0,00	-0,52	-1,41
Опытная к контролю без ПС	-0,54	-0,87	-2,95	-4,92	-3,70
Примечание:	p<0,05	p>0,05			

Рис. 4.8. Динамика снижения показателя мочевины (ммоль/л) в исследуемых группах



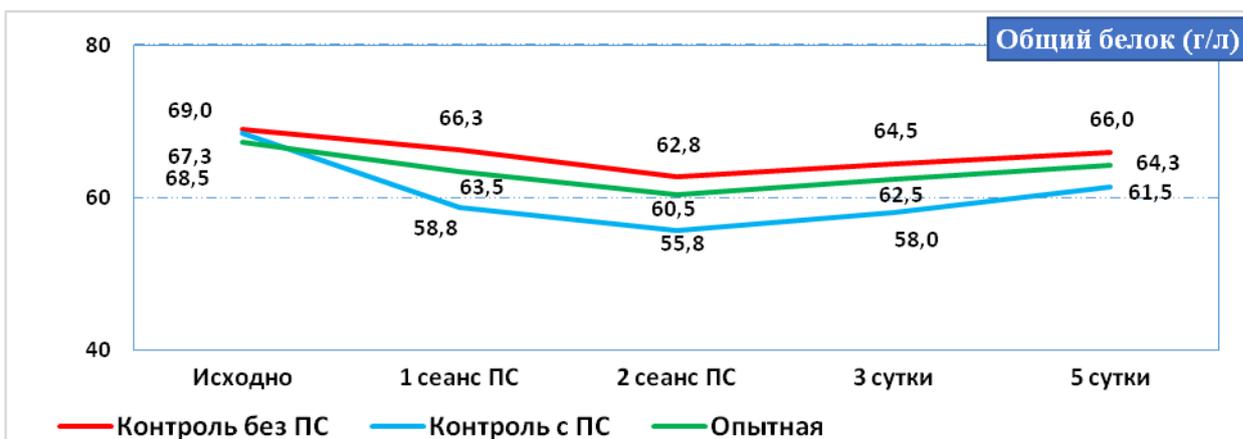
Достоверность различий					
Сутки	0	1	2	3	5
Контроль без ПС к контролю с ПС	-0,18	-1,01	-3,19	-2,55	-2,31
Опытная к контролю с ПС	-0,04	-0,31	0,40	0,10	-0,51
Опытная к контролю без ПС	-0,19	-1,32	-2,41	-2,33	-2,84
Примечание:	p<0,05	p>0,05			

Рис. 4.9. Динамика снижения показателя креатинина (мкмоль/л) в исследуемых группах



Достоверность различий					
Сутки	0	1	2	3	5
Контроль без ПС к контролю с ПС	-0,79	-1,83	-2,46	-2,88	-2,26
Опытная к контролю с ПС	0,35	0,44	-0,79	-1,00	-0,58
Опытная к контролю без ПС	-0,28	-1,20	-2,90	-3,42	-2,38
Примечание:	p<0,05	p>0,05			

Рис. 4.10. Динамика снижения показателя аммиака (мкмоль/л) в исследуемых группах



Достоверность различий					
Сутки	0	1	2	3	5
Контроль без ПС к контролю с ПС	-0,27	-6,60	-4,62	-5,17	-3,25
Опытная к контролю с ПС	-0,47	2,68	3,38	3,12	2,40
Опытная к контролю без ПС	-0,67	-1,59	-1,67	-1,73	-1,70
Примечание:	p<0,05	p>0,05			

Рис. 4.11. Динамика изменений показателя общего белка (г/л) в исследуемых группах

Таким образом, наибольший эффект наблюдался после 2 сеансов плазмосорбции с общим (поэтапным) использованием 400 мл плазмы. Достигнуто достоверное снижение уровня практически всех патологических

уровней метаболитов: билирубина, мочевины, креатинина, аммиака. Тогда как уровень белка в опытной группе оставался без достоверных изменений. Каждый сеанс ПС сопровождался использованием новой сорбционной колонки. Для УНПГС ПС была наиболее эффективна в течение 10 минут (в соотношении 50 г/100мл плазмы).

Полученные результаты, свидетельствующие о высокой сорбционной активности отечественного гемосорбента, показали фактически идентичную его эффективность в сравнении с угольным сорбентом. В связи с чем, следующей задачей настоящего исследования явилась оценка возможности усиления сорбционной активности гемосорбента. Для этого было решено использовать воздействие на поры гемосорбента лазерного излучения. Данный способ осуществляется следующим образом: при пропускании плазмы через углеродный гемосорбент осуществляется адсорбция патологических метаболитов гранулами сорбента. Для лучшего поглощения метаболитов порами сорбента используется импульсное ИК-лазерное излучение в диапазоне 890-950нм. Лазерное излучение осуществляется в импульсном режиме, с параметрами не менее 7 Вт в импульсе, частотой 80-100Гц. Лазерное облучение начинается через 10 минут после начала сорбции и продолжается в течение еще 20 минут. Всего сеанс плазмсорбции с использованием одного сорбента продолжается 30 минут. Использование лазера должно способствовать повышению сорбционной емкости сорбента вследствие эффекта ударной световой волны на границе сред: жидкость-гранулы сорбента. ИК- излучение в этом диапазоне обладает максимальной проникающей способностью в биологических средах организма. Использование частоты 80 Гц обосновывается оптимальным биологически эффектом в этом диапазоне частоты излучения.

Использован отечественный, сертифицированный лазерный аппарат Согдиана. Излучение в диапазоне 890нм, частотный режим от 80Гц до 1500Гц. Мощность в импульсе до 10Вт.

Следует отметить, что все углеродные сорбенты имеют наибольшую поглощающую способность в течение 10 мин воздействия. В последующем происходит снижение сорбционной активности вследствие закрытия пор сорбента метаболитами. При использовании нанопористых сорбентов наблюдается наименьшие сдвиги уровня белков плазмы, что имеет большое значение при сниженном уровне белковых фракций в крови на фоне нарушения функции жизненно важных органов: печени, почек, и др. В то же время нанопористые сорбенты «работают» в течение более короткого времени из-за меньшего размера пор. В связи с чем рекомендуется подключение лазерного излучения через 10 минут после начала сорбции.

Для оценки эффективности предложенного способа плазмсорбции с дополнением лазерного облучения были выполнены экспериментальные исследования на 4 беспородных собаках. Модель формирования МЖ соответствовала ранее описанной методике. Результаты этой части эксперимента сопоставлялись с данными, полученными при использовании плазмсорбции с отечественным гемосорбентом без подключения лазерного облучения (ЛО).

Исходно после моделирования МЖ на 5 сутки уровень общего билирубина не отличался в группах сравнения. В дальнейшем проведение 2 сеансов ПС с гемосорбентом без ЛО отмечено изменение общего билирубина с $217,3 \pm 6,6$ до $90,3 \pm 5,4$ мкмоль/л, тогда как сочетание ПС с ЛО позволило снизить эти показатели с $216,5 \pm 11,0$ до $63,8 \pm 6,4$ мкмоль/л, что достоверно ($p < 0,05$) отличалось. По другим метаболитам в эти сроки достоверных отличий получено не было, однако все же имелась тенденция к их более быстрому снижению (табл. 4.10).

Таблица 4.10

Изменения концентрации метаболитов в крови у животных после проведения ПС в сочетании с ЛО

Показатель	Период	Значение	ПС без ЛО	ПС с ЛО
Общий билирубин (мкмоль/л)	Исходно	М	217,3	216,5
		m	6,6	11,0
	После ПС	М	90,3	63,8
		m	5,4	6,4
t критерий (p)				-3,17(p<0,05)
Мочевина (ммоль/л)	Исходно	М	11,0	11,3
		m	1,1	1,0
	После ПС	М	8,3	7,3
		m	0,3	0,6
t критерий (p)				-1,48 (p>0,05)
Креатинин (мкмоль/л)	Исходно	М	151,3	158,5
		m	10,3	10,2
	После ПС	М	107,8	96,8
		m	7,1	1,8
t критерий (p)				-1,51 (p>0,05)
Аммиак (мкмоль/л)	Исходно	М	60,3	60,8
		m	2,3	1,5
	После ПС	М	44,0	41,0
		m	1,5	1,1
t критерий (p)				-1,64 (p>0,05)
Общий белок (г/л)	Исходно	М	67,3	68,3
		m	2,3	2,4
	После ПС	М	60,5	60,8
		m	0,9	1,0
t критерий (p)				0,19 (p>0,05)

Общая динамическая картина по биохимическим показателям отражена на рис. 4.12-4.16.

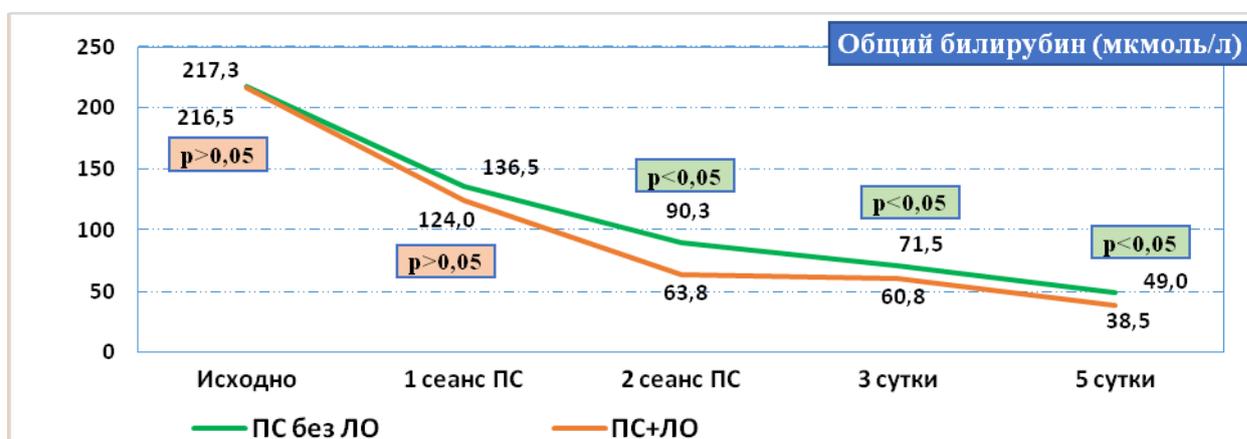


Рис. 4.12. Динамика снижения показателя общего билирубина (мкмоль/л) при воздействии ЛО

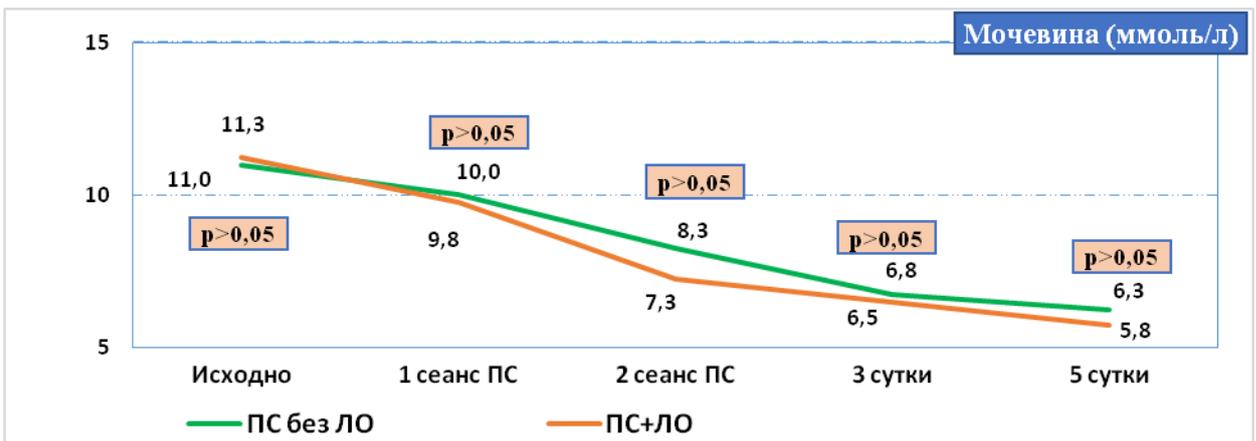


Рис. 4.13. Динамика снижения показателя мочевины (ммоль/л) при воздействии ЛО

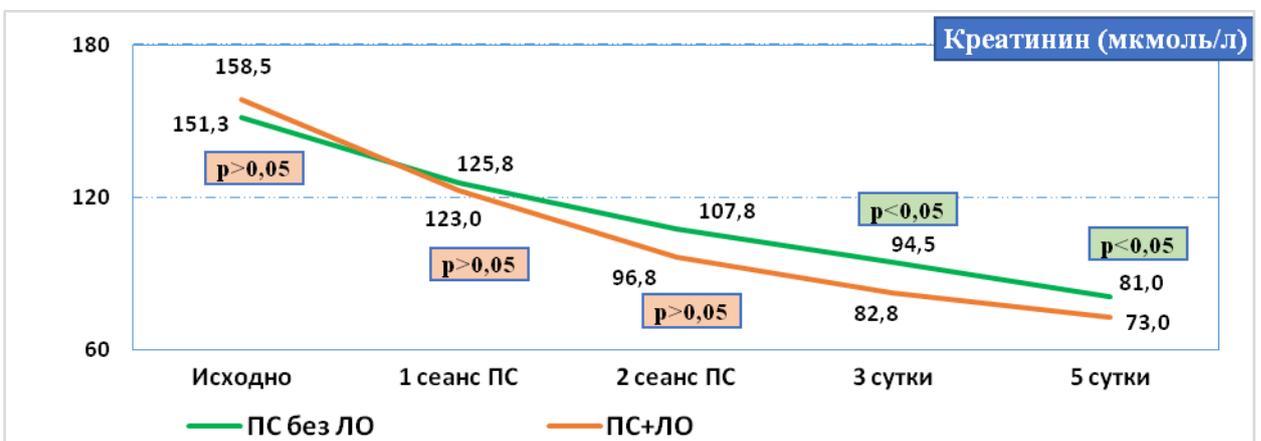


Рис. 4.14. Динамика снижения показателя креатинина (мкмоль/л) при воздействии ЛО

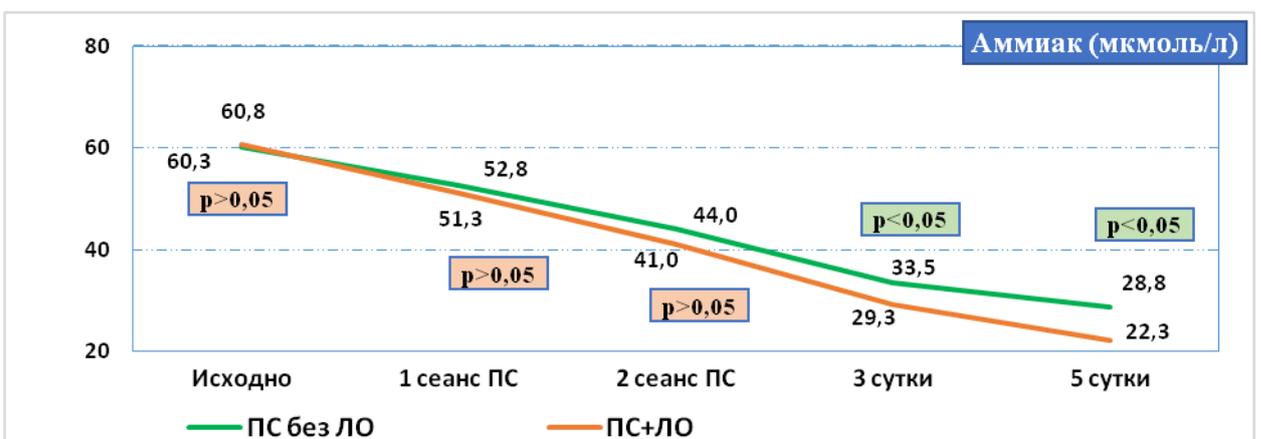


Рис. 4.15. Динамика снижения показателя аммиака (мкмоль/л) при воздействии ЛО

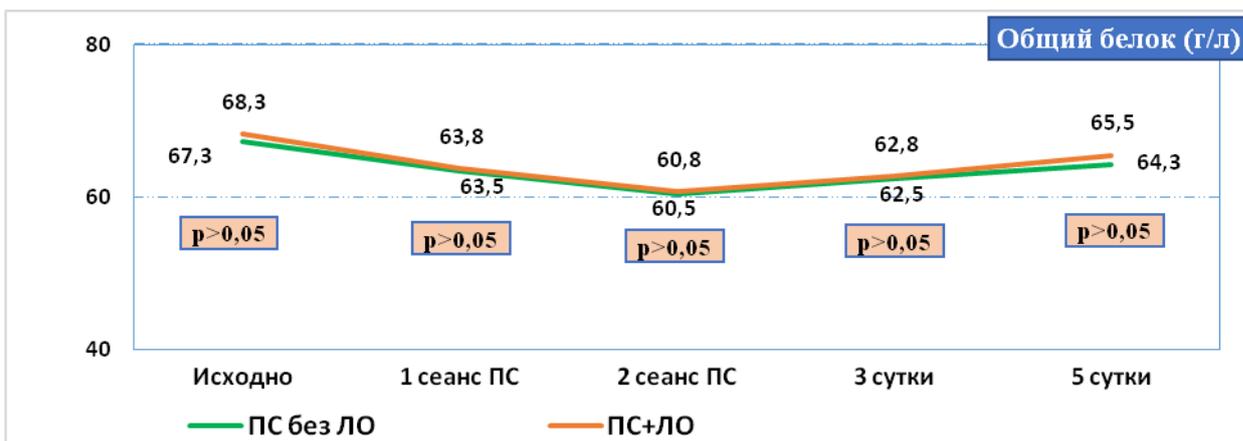


Рис. 4.16. Динамика изменений показателя общего белка (г/л) при воздействии ЛО

Таким образом, включение лазерного облучения в процесс проведения плазмосорбции через нанопористый гемосорбент при экспериментальной модели механической желтухи позволило усилить поглощающий эффект методики, что доказано снижением общего билирубина после 2 сеансов с $216,5 \pm 11,0$ до $63,8 \pm 6,4$ мкмоль/л (без ЛО - с $217,3 \pm 6,6$ до $90,3 \pm 5,4$ мкмоль/л; $p < 0,05$) и в дальнейшем до $38,5 \pm 1,3$ мкмоль/л (против $49,0 \pm 4,0$ мкмоль/л; $p < 0,05$), а также более ускоренным восстановлением показателей креатинина и аммиака на 3-5 сутки наблюдения ($p < 0,05$ по отношению к ПС без ЛО). На основании полученных результатов с обоснованием высокой эффективности методики проведения ПС с ЛО, была подана заявка на изобретение в Агентство интеллектуальной собственности Республики Узбекистан («Способ лечения печеночной недостаточности при механической желтухе в эксперименте с использованием плазмосорбции через нанопористый гемосорбент и лазерного облучения»).

Резюме

Проведенные исследования позволили сделать следующее заключение:

Результаты изучения свойств УНПГС на модели механической желтухи показали безвредность и биологическую эффективность наномезопористого углеродного гемосорбента, а также подтвердили его биологическую совместимость в соответствии с существующими требованиями к медицинским препаратам. Мезо- и нанопористая структура сорбента характеризует его высокую активность по отношению к патологическим метаболитам крови при заболеваниях печени и почек.

Полученные данные свидетельствуют о том, что углеродный гемосорбент характеризуется необходимым комплексом свойств и отвечает требованиям, предъявляемым к материалам, предназначенным для взаимодействия с биологическими средами, гемосовместим, обладает хорошей сорбционной емкостью и высокими кинетическими параметрами по ряду метаболитов при различных видах эндогенной интоксикации.

Согласно требованиям международного стандарта ISO10993-1 от 2016 года, «гемосовместимость» означает, что контактирующий с кровотоком фильтр не вызывает существенного изменения содержания форменных элементов крови и не нарушает состав крови. Исходя из этого положения, как показали вышеизложенные результаты, гемосорбент является перспективным материалом для создания фильтров для ЭД, так как он не вызывает изменений гемограммы и морфологии форменных элементов крови. Доклинические испытания показали, что морфология эритроцитов, тромбоз, гемокоагуляция при использовании УНПГС не нарушаются.

Определено, что одним из положительных свойств УНПГС наряду с высоким сорбционным эффектом желчных пигментов является незначительное влияние на сорбционную активность в отношении показателя общего белка и соотношения его фракций (альбумина и

глобулина) по значениям которых не было получено достоверных различий до и после ГС.

Полученные результаты с обоснованной безопасностью и эффективностью проведения ПС через новый отечественный гемосорбент с включением в процесс детоксикации лазерного облучения позволяют рекомендовать применение разработанной методики в клинической практике, с дальнейшей оценкой качества экстракорпоральной детоксикации при комплексном лечении печеночной недостаточности на фоне механической желтухи или другой этиологии в клинической фазе исследований.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Причинно-следственной связью нарушения синтетической, метаболической и детоксицирующей функций печени при ее остром или хроническом поражении, является накопление различных токсических субстанций, таких как воспалительные цитокины, медиаторы оксидативного стресса, продукты деградации аммиака, желчные кислоты, оксид азота, лактат, продукты метаболизма арахидоновой кислоты, эндогенные бензодиазепины, индолы, меркаптаны, которые приводят к системным поражениям организма — нарушениям микроциркуляции, коагуляционным и иммунологическим расстройствам.

В этой связи, одним из решений данной проблемы явилось, использование в медицинской практике сорбентов и сорбционных технологий.

Следует особо отметить, что к сорбентам медицинского назначения, которые контактируют с биологическими жидкостями организма, предъявляются особые требования по качеству, а именно, высокая степень химической очистки, минимальное содержание примесей, нетоксичность, большая механическая прочность и гладкий рельеф поверхности гранул, отсутствие пылеобразования (выделения ультрадисперсных частиц), высокая сорбционная емкость по отношению к удаляемым веществам, совместимость с кровью и инертность по отношению к форменным элементам крови.

К нерешенным проблемам экстракорпоральной детоксикации можно отнести совместимость адсорбентов с кровью и специфичность элиминационного эффекта. Большинство немодифицированных сорбентов "агрессивны" по отношению к форменным элементам крови и "слепы" по отношению к адсорбирующим веществам. В настоящее время определены некоторые пути решения этих проблем. Так, один из них - создание покрытий гранул сорбента или широкое применение перфузии, при которых полностью или частично исключается контакт форменных элементов крови с адсорбентами.

В настоящее время в медицинской практике наибольший интерес представляют углеродные сорбенты, обладающие высокой эффективностью и безопасностью применения.

Целью поставленной в диссертационной работе, является разработка нового биосовместимого сорбента с заданными свойствами детоксикации и

технология его использования при печеночной недостаточности на фоне механической желтухи в эксперименте.

Фундаментом данного диссертационного исследования послужили результаты использования нового отечественного гранулированного углеродного сорбента (УНПГС) с преимущественным содержанием нано- и мезопор в экспериментальных условиях. Отмечена четкая соразмерность гидрофобных гранул размером до 0,5 мм с абсолютно гладкой поверхностью, шарообразной формы, не растворимых в растворителях. (рН 6-7). Отсутствие мелких частиц и пыли свидетельствует о низкой зольности УНПГС.

Разработчиком данного продукта явился коллектив авторов АО «УЗКИМЁСАНОАТ» общество с ограниченной ответственностью Ташкентский Научно-Исследовательский Институт Химической Технологии(ООО«ТНИИХТ»).

В качестве испытуемых веществ для оценки степени поглощения сорбентом выбраны: мурексид (низкая молекулярная масса); метиленовая синь, витамин В 12, конго-красный (средней молекулярной массы), билирубин, альбумин (высокая молекулярная масса). Адсорбция исследована при комнатной температуре (22- 25 оС). Концентрацию веществ до и после инкубации с угольным сорбентом определяли фотоколориметрическим методом на приборе КФК-2 при соответствующей длине волны.

В задачи исследований *in vitro* входила оценка эффективности нового углеродного сорбента по элиминации красителей и метаболитов известной концентрации из заранее приготовленных растворов различной концентрации.

В исследованиях *ex vivo* использована консервированная плазма человека для изучения сорбционных характеристик УНПГС

Задачей исследований *in vivo* явилось оценка эффективности плазмсорбции с использованием УНПГС при экспериментальной механической желтухе у собак.

Исследования проведены на 138 белых половозрелых беспородных крысах первого года жизни массой 190 – 300 г и 5 белых кроликах-альбиносах обоего пола, различной массы тела. Животных содержали в условиях вивария в соответствии с требованиями ГОСТ ISO 10993-11-2011 о надлежащих условиях подготовки и наблюдения за подопытными

животными. Для определения параметров острой и хронической токсичности использованы методики и критерии ISSN 2011.

Экспериментальные животные содержались в одинаковых условиях вивария и на сбалансированном по содержанию белков, жиров и углеводов рационе питания со свободным доступом к воде и пище.

Животные были разделены на 7 групп по 6 особей в каждой. Животным 6 опытных групп натошак вводили физиологический раствор (в котором в течение 2 суток выдерживали испытуемый угольный сорбент «УНПГС») в желудок при помощи шприца с металлическим зондом в дозах: 5000, 5500, 6000, 6500, 7000 и 7500 мг/кг массы тела. Изучаемые дозы сорбента вводили через 3- и 4- часовым интервалом в течение суток. Животные находились под наблюдением в течение первого дня и на протяжении 2-3 недель эксперимента. 7-ая группа животных служила контролем.

Стандартным методом изучения адсорбционной способности гемосорбентов признаны тесты, проводимые с известными химическими веществами с различной молекулярной массой в стандартных условиях.

К навеске сорбента весом 500мг добавляли 1 мл физиологического раствора. В пробирку с сорбентом добавляли 1 мл 1% раствора красителя и помещали в термошейкер на 30 минут. Каждые 10 минут брали образцы надосадочной жидкости и проверяли коэффициент поглощения с использованием спектрофотометра КФК.

Основным результатом клинического внедрения, представленных в данной диссертации, была разработка нового способа плазмосорбции с экспериментальным обоснованием эффективности детоксикационной терапии при осложненном течении механической желтухи. Научно-практическое значение внедрения этой методики для хирургии заключается не только в возможности коррекции проявлений печеночной недостаточности, этиологическим фактором которой является нарушение желчеоттока обтурационного доброкачественного или злокачественного генеза, но и других причин.

Проведенный эксперимент показал, что у животных после введения водной суспензии препарата в дозах 5000, 5500, 6000, 6500, 7000 и 7500 мг/кг изменений в поведении и функциональном состоянии не наблюдалось. Определена максимально-переносимая доза имплантата на уровне 7500 мг/кг.

При оценке острой токсичности УНПГС при внутрибрюшинном введении отмечено, что при однократном внутрибрюшинном введении препарата в дозах 5000, 5500, 6000, 6500 и 7000 мг/кг через 24 часа у крыс отмечены признаки угнетения центральной нервной системы, отказ от корма и воды.

В 1 группе животных, получавших дозу 5000 мг/кг, отсутствовали признаки интоксикации. К исходу 2-х суток во 2 группе после введения дозы 5500 мг/кг отмечена гибель одной крысы из шести, в 3-ей и 4-ой группах (дозы 6000 и 6500 мг/кг соответственно) погибли по две, а в 5-ой группе (доза 7000 мг/кг) - погибли четыре. По результатам острой токсичности при внутрибрюшинном введении ЛД₅₀ «УНПГС» составила 6654,0 (6005,8 ÷ 7302,2) мг/кг, т.е. препарат относится к 4 классу опасности – практически нетоксичным веществам.

При однократном нанесении на кожу белых крыс на выстриженный участок исследуемого вещества установлено, что «УНПГС» не вызывает раздражения, покраснения, отека или других видимых изменений на коже и действие препарата оценивается в 0 баллов по шкале кожных проб.

Исследования кожно-резорбтивного действия «УНПГС» проводили на 6 белых крысах с массой тела 190-200 гр., которых фиксировали в специальных станках, хвосты животных погружали в пробирки с исследуемым препаратом на 2/3 длины хвоста. Пробирки помещали в водяную баню с температурой 28-32°C. Время экспозиции 4 часа. После завершения эксперимента кожу хвостов обмывали теплой водой с мылом. За животными проводили наблюдение в течение 3-х недель.

Результаты проведенных исследований показали, что за время наблюдения в течение 3-х недель симптомов интоксикации у опытных животных и их гибели не выявлено. Животные оставались активными, охотно поедали корм, адекватно реагировали на внешние раздражители.

При оценке хронической токсичности при внутрибрюшинном введении учитывалась низкая токсичность препарата, установленная в остром эксперименте, а также предполагаемая длительность курса лечения – одна неделя. На основании этого срок хронического эксперимента составил семь дней в соответствии с международными требованиями по оценке токсичности медицинских препаратов (2013г). Исследуемое вещество вводили внутрибрюшинно 3-м группам опытных белых крыс. 4 группа служила контролем.

За время эксперимента общее состояние опытных животных не нарушалось, симптомов интоксикации и гибели животных не выявлено. На коже местные изменения не обнаружены, мест очагового облысения и язв не отмечалось, прирост массы тела опытных животных не отличался от контрольных значений.

ЧД определяли путем помещения животных в тесные обменные клетки со специально сконструированными окошками. Окошки покрывались эластичной резиной из хирургических перчаток и подсоединялись через систему ниток и рычагов к щелевому спектрофотометру и электрическому кимографу.

Динамика массы тела подопытных животных через 10 дней и 1 месяц эксперимента не отличалась от контроля. Животные на протяжении всего эксперимента были активны, опрятны, корм поедали нормально, пили воду, шерсть у них была гладкая, блестящая. Поведение подопытных крыс не отличалось от поведения контрольных групп животных.

Анализ показателей периферической крови через сутки после последнего введения различных доз исследуемого препарата не выявил существенных изменений.

Анализ результатов гематологических показателей позволил установить недостоверное увеличение изученных показателей ($P > 0,05$) по отношению к контрольным значениям.

Изучение биохимических показателей сыворотки крови через 24 часа после последнего введения различных доз исследуемого препарата не выявило существенных изменений.

Наблюдение за животными в течение 14 дней после отмены изучаемого вещества показали, что общее состояние и поведение опытных животных не отличались от интактных групп. Гибели среди подопытных крыс не наблюдалось, что позволяет сделать вывод об отсутствии кумулятивного свойства исследуемого вещества.

При макроскопическом исследовании выявлено правильное расположение внутренних органов, отсутствие свободной жидкости в плевральной и брюшной полостях. Ткани легких, желудка и кишечника также характерного цвета, без признаков отека, кровоизлияний и изъязвлений. Поджелудочная железа, почки и надпочечники без изменений.

Результаты общего осмотра тел животных, длительно получавших исследуемое вещество, показали отсутствие макроскопических распознаваемых отклонений по сравнению с контрольной группой.

Одним из основных вопросов в этом отношении является оценка мутагенной активности, которая, как показано в ряде лабораторий мира, в высокой степени коррелирует с канцерогенной активностью и значительно - с тератогенезом (развитием уродств).

Нами было проведено исследование препарата «УНПГС» на предмет проявления мутагенной активности при воздействии на культуру клеток лимфоцитов человека. Для этого было определено количество хромосомных aberrаций при воздействии «УНПГС» на культуру клеток лимфоцитов человека в течение 72 ч, лимфоциты человека были получены из периферической крови здоровых доноров. Всего был использован 1 образец крови доноров, на образец проводили воздействие препаратом.

«УНПГС» при воздействии на культуру клеток лимфоцитов человека в исследованной дозе $150,0/10 \cdot 10^6$ клеток в течение 72 ч, не обладает мутагенной активностью в изученной дозе.

Проведенный комплекс токсикологических, физиологических и биохимических исследований позволяет сделать вывод о том, что предложенный отечественный вариант углеродного гемосорбента не вызывает патологических изменений в организме.

Стандартным методом изучения адсорбционной способности гемосорбентов признаны тесты, проводимые с известными химическими веществами с различной молекулярной массой в стандартных условиях.

Наиболее часто используются химические красители: метиленовый синий, нейтральный красный, мурексид, конго красный, витамин В12, метаболиты крови. Адсорбцию изучали в статических условиях при комнатной температуре.

Концентрацию веществ в растворе, исходную и после контакта с сорбентом, измеряли на спектрофотометре в кювете толщиной слоя 10 мм при длине волны: 640 (метиленовая синь), 546 нм (нейтральный красный) и 580 нм (мурексид, конго красный).

Поэтапное определение концентрации красителя в растворе (каждые 10 мин) показало, что степень адсорбции сорбентом в большей степени связана с размером молекул, то есть красители с большой молекулярной массой

поглощались через поры сорбента меньше, чем красители с меньшей массой. Так, концентрация Мурексида в надсадочной жидкости через 10 мин после взаимодействия с углеродным гемосорбентом уже достигала 58,2±0,4%, через 30 мин - 76,3±0,6% и 40 мин - 84,2±0,5%, то есть в растворе осталось неадсорбированным около 16% красителя.

При этом все конечные показатели концентрации (на 40 мин) достоверно отличались ($P < 0,001$) друг от друга, от минимального поглощения - Конго-красный краситель (41,0±0,3%) до максимального поглощения - Нейтральный красный краситель (91,2±0,4%).

Соответственно, если степень концентрации Мурексида в исходном растворе составляла 100%, то через 10 мин она снизилась до 41,8%, а через 40 мин составляла всего 15,8%.

Степень адсорбции красителя сорбентом в большей степени связана с размером молекул. Красители с большой молекулярной массой, не соразмерной с порами сорбента, демонстрируют меньшее поглощение (мол. масса 696, рН 7,65)

Мурексид с молекулярной массой 349,0 рН 7,4 в наибольшей степени соответствует размеру пор сорбента и поэтому в большей степени адсорбируется.

Адсорбция нейтрального красного с молекулярной массой 289 и рН 3,11 также высокая, что связано с соответствием молекулярной массы и формой молекул.

Степень извлечения из раствора метиленовой сини составила несколько меньшую величину - порядка 60%, хотя и существенно превышала показатели адсорбции конго-красного.

Исследования, проведенные для изучения степени поглощения крупномолекулярных соединений, входящих в состав плазмы крови, продемонстрировали слабое поглощение альбумина – менее 8% и не оказывает влияние на концентрацию гамма-глобулинов (менее 5%).

Отсутствие адсорбционной способности УНПГС к иммуноглобулинам может иметь положительное значение при проведении сорбции пациентам с вторичным иммунодефицитным состоянием.

Сорбционная активность сорбентов проверялась сначала на модельных растворах, а затем плазме. На модельных растворах в качестве сорбируемой

жидкости применяли 10 мл буферного раствора (рН-7,4), в котором содержались: билирубин-200,0мкмоль/л, мочевины – 50,0мкмоль/л, аммиак-150,0 мкмоль/л, лактат -25,0мкмоль/л, креатинин- 150,0 мкмоль/л.

В результате исследований было установлено, при инкубации 10 мл исследуемого раствора с сорбентом УНГПС в количестве 200 мг концентрация изучаемых метаболитов снижается: билирубина в 5 раз, мочевины в 4 раза, аммиака в 3,7 раз, лактата в 1,5 раз и креатинин в 4,5 раз.

Максимальная адсорбция метаболитов приходится в первые 10 минут сорбции. Крупномолекулярные соединения адсорбируются дольше в сравнении с низкомолекулярными (креатинин, мочевины, лактат).

Испытания УНГПС показали, что уровень гемолиза в разбавленной суспензии эритроцитов составил $31 \pm 0,1\%$ против $2,3 \pm 0,1\%$ в контроле, что статистически незначимо ($p > 0,05$).

Исследование параметров гемограммы при инкубации с УНГПС в стендовых опытах *in vitro* (при температуре 25°C, P=730 мм.рт.ст.) показало, что инкубация цельной крови с УНГПС приводила к недостоверным ($p > 0,05$) изменениям содержания гемоглобина ($133,7 \pm 0,9$ г/л в контроле против $129,1 \pm 0,5$ г/л в опытной пробе) и форменных элементов крови.

Так, количество эритроцитов было недостоверно снижено относительно исходного на 11,1% ($p > 0,05$), количество тромбоцитов (PLT) – на 17,3%, количество лейкоцитов (WBC) – на 3%. Эритроцитарные индексы также снижались незначительно: среднее содержание гемоглобина в эритроците – на 4,5%, средняя концентрация гемоглобина в эритроците (МСНС) – на 2,8%, средний объем эритроцитов (MCV) - на 3,4%, что достоверно не отличались от таковых показателей до инкубации ($p > 0,05$).

Изучение нативных и окрашенных мазков крови здоровых доноров до инкубации с УНГПС (контроль) показало, что содержание дискоцитов составило $88,3 \pm 0,6\%$; переходных форм эритроцитов – $9,8 \pm 0,3\%$; прегемолитических дегенеративных форм – $1,8 \pm 0,1\%$.

Инкубация цельной крови в течение 20 минут с гемосорбентом УНГПС не привела к значимым изменениям морфологии эритроцитов.

Количество дискоцитов после инкубации с УНГПС в среднем составило $83,6 \pm 1,4\%$, переходных форм – $10,2 \pm 1,6\%$, прегемолитических форм – $5,1 \pm 1,0\%$, что достоверно не отличалось от показателей до инкубации.

Доклинические испытания УНПГС показали, что морфология форменных элементов крови и гемокоагуляция при использовании сорбента УНПГС не нарушаются.

Интересные результаты получены по исследованию концентрации общего белка и белковых фракций сыворотки крови, которые выявили, что после сорбции УНПГС происходит несущественное снижение общего белка на 4,2%, при этом не отмечается изменения соотношения фракций альбумина и глобулина

Таким образом, определено, что одним из положительных свойств УНПГС наряду с высоким сорбционным эффектом желчных пигментов является несущественное влияние на сорбционную активность в отношении показателя общего белка и соотношения его фракций (альбумина и глобулина) по значениям которых не было получено достоверных различий до и после ГС.

Для экспериментального моделирования МЖ, нами предложен способ создание дозированной компрессии общего желчного протока и обеспечение возможности моделирования желтухи различной степени выраженности.

Сопоставительный анализ с наиболее близким аналогом показывает, что способ отличается тем, что общий желчный проток выделяют на протяжении 1,0-1,5 см, подводят под выделенный проток сосудистый тefлоновый протез диаметром 10-12 мм и длиной 5-10 мм, продольно рассеченный по всей длине, далее фиксируют протез поверх протока сшиванием рассеченной части протеза 3-4 узловыми швами нитью Пролен 3/0, вводят баллонную часть катетера Фогарти между общим желчным протоком и сосудистым протезом, выводят дистальную часть катетера Фогарти через контрапертуру, послойное ушивают брюшную полость животного, и осуществляют компрессию желчного протока дозированным раздуванием баллона катетера Фогарти.

Основной задачей эксперимента была оценка сорбционной эффективности отечественного гемосорбента в сравнении с другим средством, при этом исходно мы не преследовали цель улучшения сорбционных свойств, так как исследовался первый отечественный углеродный сорбент, который в первую очередь не должен уступать по заданным свойствам зарубежным аналогам.

Контрольной точкой для определения эффективности применения плазмосорбции с новым отечественным гемосорбентом были 5 сутки после

начала формирования экспериментальной модели МЖ. В обеих группах баллон катетера Фогарти сдувался и последний удалялся. Оценивалась динамика снижения основных биохимических показателей крови у экспериментальных животных. Животным, которым проводилась ПС с различными сорбентами, выполнялось 2 сеанса детоксикации по 1 сеансу в день с повторными заборами плазмы за один сеанс до 3-х раз.

Методика заключалась в следующем. Канюлировалась бедренная вена. Производился забор 200 мл крови из вены, с последующим замещением 150 мл физиологического раствора. Кровь забиралась в стерильный контейнер с цитратом натрия. Полученная кровь центрифугировалась со скоростью 3000об/мин в течение 15 минут. Плазма крови забиралась для процедуры, эритроцитарная масса возвращалась в русло. Плазма крови подключалась к аппарату УНИРОЛ и пропусклась через гемосорбент УНПГС. В количестве 100 г в контейнере. В режиме рециркуляции под давлением 100 см.вод.ст. проводилась сорбция при комнатной температуре в течение 20 минут. В последующем плазма возвращалась в русло. Процедура плазмсорбции проводилась с повторными заборами плазмы до 3-х раз с целью максимального снижения концентрации метаболитов в крови животного. Осложнений не было.

Интересные данные получены при динамической оценке биохимических показателей. Так, если исходно после моделирования МЖ на 5 сутки уровень общего билирубина не отличался в группах сравнения, то в дальнейшем проведение 2 сеансов ПС позволило более существенно снизить этот показатель. В контроле без ПС общий билирубин за двое суток снизился с $216,0 \pm 13,2$ до $146,0 \pm 10,5$ мкмоль/л, тогда как при проведении ПС с угольным сорбентом (контроль №2) эти значения изменились с $213,8 \pm 8,0$ до $100,5 \pm 6,1$ мкмоль/л, что достоверно ($p < 0,05$) отличалось от контроля №1. Применение отечественного углеродного гемосорбента привело к снижению уровня билирубина после 2 сеансов ПС с $217,3 \pm 6,6$ до $90,3 \pm 5,4$ мкмоль/л, что также достоверно ($p < 0,05$) отличалось от контроля №1, но при этом по отношению к угольному сорбенту получено не существенное различие ($p > 0,05$).

Уровень мочевины в контроле без ПС за двое суток снизился с $11,8 \pm 0,9$ до $10,3 \pm 0,6$ ммоль/л, тогда как при проведении ПС с угольным сорбентом (контроль №2) эти значения изменились с $11,5 \pm 1,2$ до $8,3 \pm 0,5$ ммоль/л, что достоверно ($p < 0,05$) отличалось от контроля №1. Применение отечественного углеродного гемосорбента привело к снижению уровня мочевины после 2 сеансов ПС с $11,0 \pm 1,1$ до $8,3 \pm 0,3$ ммоль/л, что также достоверно

($p < 0,05$) отличалось от контроля №1, но при этом по отношению к угольному сорбенту получено не существенное различие ($p > 0,05$).

В контроле без ПС креатинин за двое суток снизился с $154,8 \pm 15,1$ до $134,5 \pm 8,6$ мкмоль/л, тогда как при проведении ПС с угольным сорбентом (контроль №2) эти значения изменились с $151,8 \pm 7,7$ до $104,5 \pm 3,9$ мкмоль/л, что достоверно ($p < 0,05$) отличалось от контроля №1. Применение отечественного углеродного гемосорбента привело к снижению уровня креатинина после 2 сеанса ПС с $151,3 \pm 10,3$ до $107,8 \pm 7,1$ мкмоль/л, что также достоверно ($p < 0,05$) отличалось от контроля №1, но при этом по отношению к угольному сорбенту получено не существенное различие ($p > 0,05$).

В контроле без ПС аммиак за двое суток снизился с $61,0 \pm 1,5$ до $51,3 \pm 2,0$ мкмоль/л, тогда как при проведении ПС с угольным сорбентом (контроль №2) эти значения изменились с $59,3 \pm 1,7$ до $45,5 \pm 1,2$ мкмоль/л, что достоверно ($p < 0,05$) отличалось от контроля №1. Применение отечественного углеродного гемосорбента привело к снижению уровня креатинина после 2 сеанса ПС с $60,3 \pm 2,3$ до $44,0 \pm 1,5$ мкмоль/л, что также достоверно ($p < 0,05$) отличалось от контроля №1, но при этом по отношению к угольному сорбенту получено не существенное различие ($p > 0,05$).

Что касается показателя общего белка, то проведение ПС с угольным сорбентом привело к достоверному снижению за счет сорбционного осаждения белковых фракций в порах сорбента. Если в контроле без ПС показатель белка в крови за двое суток изменился несущественно - с $69,0 \pm 1,3$ до $62,8 \pm 1,0$ мкмоль/л, то при проведении ПС с угольным сорбентом (контроль №2) эти значения изменились с $68,5 \pm 1,3$ до $55,8 \pm 1,1$ мкмоль/л, что достоверно ($p < 0,05$) отличалось от контроля №1.

Применение отечественного углеродного гемосорбента за счет заданного размера пор не привело к существенному снижению уровня общего белка в крови и после 2 сеанса ПС этот показатель изменился с $67,3 \pm 2,3$ до $60,5 \pm 0,9$ мкмоль/л, что достоверно ($p > 0,05$) не отличалось от контроля №1, но при этом по отношению к угольному сорбенту получено существенное различие ($p < 0,05$) (табл. 4.9).

Полученные результаты, свидетельствующие о высокой сорбционной активности отечественного гемосорбента, показали фактически идентичную его эффективность в сравнении с угольным сорбентом. В связи с чем, следующей задачей настоящего исследования явилась оценка возможности усиления сорбционной активности гемосорбента. Для этого было решено

использовать воздействие на поры гемосорбента лазерного излучения. Данный способ осуществляется следующим образом: при пропускании плазмы через углеродный гемосорбент осуществляется адсорбция патологических метаболитов гранулами сорбента. Для лучшего поглощения метаболитов порами сорбента используется импульсное ИК-лазерное излучение в диапазоне 890-950нм. Лазерное излучение осуществляется в импульсном режиме, с параметрами не менее 7 Вт в импульсе, частотой 80-100Гц. Лазерное облучение начинается через 10 минут после начала сорбции и продолжается в течение еще 20 минут. Всего сеанс плазмсорбции с использованием одного сорбента продолжается 30 минут. Использование лазера должно способствовать повышению сорбционной емкости сорбента вследствие эффекта ударной световой волны на границе сред: жидкость-гранулы сорбента. ИК- излучение в этом диапазоне обладает максимальной проникающей способностью в биологических средах организма. Использование частоты 80 Гц обосновывается оптимальным биологическим эффектом в этом диапазоне частоты излучения.

Использован отечественный, сертифицированный лазерный аппарат Согдиана. Излучение в диапазоне 890нм, частотный режим от 80Гц до 1500Гц. Мощность в импульсе до 10Вт.

Следует отметить, что все углеродные сорбенты имеют наибольшую поглощающую способность в течение 10 мин воздействия. В последующем происходит снижение сорбционной активности вследствие закрытия пор сорбента метаболитами. При использовании нанопористых сорбентов наблюдается наименьшие сдвиги уровня белков плазмы, что имеет большое значение при сниженном уровне белковых фракций в крови на фоне нарушения функции жизненно важных органов: печени, почек, и др. В то же время нанопористые сорбенты «работают» в течение более короткого времени из-за меньшего размера пор. В связи с чем рекомендуется подключение лазерного излучения через 10 минут после начала сорбции.

Для оценки эффективности предложенного способа плазмсорбции с дополнением лазерного облучения были выполнены экспериментальные исследования на 4 беспородных собаках. Результаты этой части эксперимента сопоставлялись с данными, полученными при использовании плазмсорбции с отечественным гемосорбентом без подключения лазерного облучения (ЛО).

Исходно после моделирования МЖ на 5 сутки уровень общего билирубина не отличался в группах сравнения. В дальнейшем проведение 2

сеансов ПС с гемосорбентом без ЛО отмечено изменение общего билирубина с $217,3 \pm 6,6$ до $90,3 \pm 5,4$ мкмоль/л, тогда как сочетание ПС с ЛО позволило снизить эти показатели с $216,5 \pm 11,0$ до $63,8 \pm 6,4$ мкмоль/л, что достоверно ($p < 0,05$) отличалось. По другим метаболитам в эти сроки достоверных отличий получено не было, однако все же имелась тенденция к их более быстрому снижению.

Таким образом, включение лазерного облучения в процесс проведения плазмосорбции через нанопористый гемосорбент при экспериментальной модели механической желтухи позволило усилить поглощающий эффект методики, что доказано снижением общего билирубина после 2 сеансов с $216,5 \pm 11,0$ до $63,8 \pm 6,4$ мкмоль/л (без ЛО - с $217,3 \pm 6,6$ до $90,3 \pm 5,4$ мкмоль/л; $p < 0,05$) и в дальнейшем до $38,5 \pm 1,3$ мкмоль/л (против $49,0 \pm 4,0$ мкмоль/л; $p < 0,05$), а также более ускоренным восстановлением показателей креатинина и аммиака на 3-5 сутки наблюдения ($p < 0,05$ по отношению к ПС без ЛО).

ВЫВОДЫ

1. Проведенный комплекс токсикологических, физиологических и биохимических исследований свидетельствует о том, что предложенный отечественный вариант углеродного гемосорбента по параметрам острой токсичности при внутрибрюшинном воздействии относится к 4 классу – практически нетоксичное вещество, не обладает кожно-резорбтивным, местно-раздражающим действием на кожу и кумулятивным эффектом, а также при хроническом внутрибрюшинном воздействии в дозах 300 мг/кг, 150 мг/кг и 50 мг/кг массы тела не вызывает интоксикацию и гибель животных.

2. Для усиления сорбционного эффекта при проведении экстракорпоральной детоксикации с целью коррекции печеночной недостаточности на фоне механической желтухи предложен способ проведения плазмсорбции, основанный на применении нового отечественного углеродного нанопористого гемосорбента в совокупности с лазерным облучением плазмы крови.

3. Усовершенствованный способ моделирования регулируемой obturации общего желчного протока для формирования экспериментальной модели механической желтухи позволяет корректировать степень холестаза, не приводит к повреждению внепеченочного билиарного тракта и не требует в последующем выполнения повторной операции животным для восстановления желчеоттока.

4. После моделирования МЖ отмечена высокая детоксикационная активность при проведении 2 сеансов ПС как с угольным сорбентом (снижение общего билирубина с $213,8 \pm 8,0$ до $100,5 \pm 6,1$ мкмоль/л), так и при применении отечественного углеродного гемосорбента (с $217,3 \pm 6,6$ до $90,3 \pm 5,4$ мкмоль/л), что достоверно ($p < 0,05$) отличалось от контроля без ПС, аналогичная картина получена и по показателям мочевины, креатинина и аммиака, нормализация значений которых проходила существенно

быстрее($p<0,05$) уже после первого сеанса экстракорпоральной детоксикации.

5. Проведение ПС с угольным сорбентом привело к достоверному снижению уровня общего белка за счет сорбционного осаждения белковых фракций в порах сорбента (с $68,5\pm 1,3$ до $55,8\pm 1,1$ мкмоль/л против группы контроля без ПС - с $69,0\pm 1,3$ до $62,8\pm 1,0$ мкмоль/л; $p<0,05$), тогда как применение отечественного углеродного гемосорбента за счет заданного размера пор не привело к существенному снижению этого показателя (с $67,3\pm 2,3$ до $60,5\pm 0,9$ мкмоль/л; $p>0,05$ к контролю без ПС и $p<0,05$ к угольному сорбенту).

6. Включение лазерного облучения в процесс проведения плазмасорбции через нанопористый гемосорбент при экспериментальной модели механической желтухи позволило усилить поглощающий эффект методики, что доказано снижением общего билирубина после 2 сеансов с $216,5\pm 11,0$ до $63,8\pm 6,4$ мкмоль/л (без ЛО - с $217,3\pm 6,6$ до $90,3\pm 5,4$ мкмоль/л; $p<0,05$) и в дальнейшем до $38,5\pm 1,3$ мкмоль/л (против $49,0\pm 4,0$ мкмоль/л; $p<0,05$), а также более ускоренным восстановлением показателей креатинина и аммиака на 3-5 сутки наблюдения ($p<0,05$).

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Александрова И.В. Экстракорпоральная гемокоррекция в комплексном лечении печеночной недостаточности - Автореф. дисс. ... докт. мед. наук. - Москва. - 2009. - 32 с.
2. Александрова И.В., Первакова Э.И., Васина Н.В. и др. Комплексная экстракорпоральная коррекция печеночной недостаточности // Сб. матер. Акт. аспекты экстракорп. очищения крови в интенсив. терапии». – М. – 2006. – С. 34.
3. Атаханов А.А., Тихоновецкая А.Д., Набиев Д.С., Сарымсаков А.А., Рашидова С.Ш. Получение и изучение токсичности и специфической активности микрокристаллической целлюлозы на основе хлопковой целлюлозы.// Фармацевтический журнал, №4, 2010, с. 55-594.
4. Буянов В.С., Ковалев А.И. Гемосорбция и хирургическая декомпрессия желчных путей как элементы комплексного лечения механической желтухи //Тез.докл.1 Белорус.конф."Сорбционные методы детоксикации в клинике".-Минск,1983,-С.15
5. Генъш К.В., Базарнова Н.Г. Окисленная целлюлоза. Получение, применение в медицине. //Химия растительного сырья.2013.-№4.-С.13-20.
6. Еремеева Л.Ф., Ямпольский А.Ф. Экстракорпоральные методы лечения у пациентов с печеночно-клеточной недостаточностью. Актуальные проблемы транспортной медицины. 2010;(4):139-49.
7. Заривчацкий М.Ф. Трансфузиология: Клиническое руководство /под ред. М.Ф. Заривчацкого – Пермь: ГБОУ ВПО ПГМА им. ак. Е.А. Вагнера Минздрава России. 2014. – с. 900 с илл.
8. Ивашкин В.Т. Болезни печени и желчевыводящих путей. – М.: ООО «Издат. дом «М-Вети», 2005. – 536 с
9. Касымов Ш.З. Экстракорпоральная детоксикация в комплексном лечении хирургических заболеваний, осложненных синдромом

- эндогенной интоксикации. Автореферат дисс. ...док.мед.наук. М.,1989.
- 38с.
10. Касымова Х.К. Разработка технологии получения хлопковой целлюлозы под воздействием сверхвысокочастотных излучений // Автореф. к.т.н. 2011.
 11. Ким О.В., Алимов М.М., Садыков Р.А. Эффективность пектинового энтеросорбента в лечении токсических поражений печени металлами. Научно-практическая конференция с международным участием “Актуальные вопросы клинико-лабораторной и функциональной диагностики” Самарканд 10-11 ноября 2015 г., с.79.
 12. Корниенко В.И. Комплексное лечение печеночной недостаточности у больных циррозом печени //Ташкент. 1993.- дис. .. канд. мед. наук.-144 с.
 13. Кугатов. П. В. Разработка и исследование углеродных носителей на основе сажи и тяжелых нефтяных остатков для получения катализаторов. Диссер. на соискание учёной степени кандидата технических наук. Уфа.2013. 119 с
 14. Кутепов Д. Е. Использование экстракорпоральных методов лечения печёночной недостаточности / Д. Е. Кутепов // Казанский медицинский журнал. 2014: 95(1). С. 75-79.
 15. Кутепов Д.Е., Пасечник И.Н., Попов А.В. и др. Роль и место альбуминового диализа в лечении больных с печеночной недостаточностью // Анестезиология и реаниматология. – 2010. – №2. – С. 53 – 58.
 16. Лопухин Ю.М., Молоденков М.Н., Шуркалин Б.К. Лимфосорбция - новый метод детоксикации организма // Тр. 2-го МОЛГМИ.- М.- 1977.- Т.17. - С. 64-69.
 17. Лопухин Ю.М., Молоденков М.Н. Гемосорбция. - М.: Медицина, 1978. - 300 с.

18. Лопухин Ю.М., Молоденков М.Н. Гемосорбция. 2-е изд. перераб. и доп. М.: Медицина, 1985. – 288 с.
19. Лузянина Л. С. Технология получения углеродного сорбента для медицинских целей. Диссер. на соискание учёной степени кандидата технических наук. Омск 2018; 144 с.
20. Маев И.В., Вьючнова Е.С., Лебедева Е.Г. Оценка эффективности комплексной терапии печеночной энцефалопатии у больных с циррозом печени. // Клиническая медицина. 2002. № 5. С. 42-45.
21. Манина Т. С. Получение и исследование высокопористых углеродных сорбентов на основе естественно окисленных углей Кузбасса. Диссер. на соискание учёной степени кандидата химических наук. Кемерово.2013. 125 с.
22. Миронов П.И., Альес В.Ф. Молекулярные аспекты системного воспалительного ответа при сепсисе // Новости науки и интенсив. терапии. Анестезиология / ВИНТИ. — 2000. — №4. — С. 10–16.
23. Морозов А. С. Сорбенты для экстракорпорального удаления токсических веществ и молекул с нежелательной биологической активностью (обзор) / А. С. Морозов, И. В. Бессонов, А. В. Нуждина и др. // Общая реаниматология. 2016:12(6). С. 82–107.
24. Надинская М.Ю. Печеночная энцефалопатия: патогенетические подходы к лечению // ConsiliumMedicum. – 2004. – №2. – С. 12 – 16.
25. Назыров Ф.Г., Акилов Х.А., Девятов А.В. Хирургия осложнений портальной гипертензии у больных циррозом печени. - М.: ГЭОТАР Медицина.-2002.-414 с.
26. Назыров Ф.Г., Акилов Х.А., Ибадов Р.А., Асабаев А.Ш., Зайнутдинов У.И., Хафизов Б.Б. Некоторые патогенетические аспекты развития печеночной недостаточности и ее профилактика у больных с циррозом печени после портосистемного шунтирования. // Вестник хирургии им. И.И. Грекова. 2002. -№1, -С. 87-90.

27. Назыров Ф.Г., Ибадов Р.А. Стандартизация лечебной тактики печёночной энцефалопатии у пациентов с циррозом печени после хирургического вмешательства //Сәғраһиууә. Вақу, 2011. - №3 (27) - Р. 41-43.
28. Натальский А. А. Недостаточность печени. Современные представления о печёночной недостаточности в хирургии. //Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова. 2014;(4) С. 138–47.
29. Нгуен Ван Хуи Разработка научно-технологических основ синтеза углеродных сорбентов с регулируемой пористой структурой. Диссер. на соискание учёной степени кандидата технических наук. Москва. 2020. 135 с.
30. Николаев В.Г. Краткое наставление по современной тактике применения гемосорбционного метода в клинической практике / Институт экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины //ПІИ ООО «КЫУЛОНГ», 2011. 16с.
31. Пасечник И.Н., Кутепов Д.Е. Печеночная недостаточность: современные методы лечения. – М.: ООО «МИА», 2009. – 240 с.
32. Пьянова Л. Г. Разработка и фармакотоксикологическая оценка модифицированных биологически активными веществами сорбентов ветеринарного назначения на основе нанодисперсного углерода. Диссер. на соискание учёной степени доктора биологических наук. Краснодар 2016; 301 с.
33. Радченко В.Г., Шабров А.В., Зиновьева Е.Н. Основы клинической гепатологии. Заболевания печени и билиарной системы. СПб.: «Издательство «Диалект»; М.: «Издательство БИНОМ», 2005. – 864 с.
34. Расулов М.М., Гусейнов Ш.Л., Гукасов В.М. Получение и биологические испытания комплекса нанодисперсного цинка оксида с окисленной целлюлозой // Инноватика и экспертиза.-2016.-№2(17).-С. 162-166.

35. Сагидуллин А. К. Гибридный сорбент на основе мезопористого углерода и гуминовых кислот для сорбции ионов кадмия (II) из водных растворов. Диссер. на соискание учёной степени кандидата химических наук. Томск. 2018. 123 с.
36. Саенко В.Ф., Перцева Г.А., Шаповалюк В.В. // Сепсис и полиорганная недостаточность. — К., 2003. — 273 с.
37. Семёнов В.Б., Яковлев А.Ю., Зайцев Р.М. Метаболическая коррекция желчеоттока при механической желтухе. Анестезиология и реаниматология. 2012;(2):58-61.
38. Синьков С.В. Прогнозирование различных форм послеоперационной острой печеночной недостаточности. Анестезиология и реаниматология. 2017;62(1). С. 73-76
39. Титова Г.В., Фомин А.М. Оценка безопасности и эффективности селективной плазмсорбции и плазмообмена при печёночной недостаточности у больных с механической желтухой. //Международный научно-исследовательский журнал. 2019. 11(77): 178-186.
40. Ткачев С.И. Значение экстракорпоральных методов в комплексном лечении больных с печеночно-клеточной недостаточностью- Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. - Челябинск. - 2005. - 22 с.
41. Фомин А. М. Оценка эффективности плазмсорбции (LiverSupport) при печёночной недостаточности у больных с механической желтухой. Альманах клинической медицины / А. М. Фомин, А. И. Лобаков, Г. В. Титова и др. 2015(40). С. 101-108.
42. Фомин А.М., Титова Г.В. Селективная плазмсорбция и плазмообмен при печеночной недостаточности у больных с механической желтухой. //Анестезиология и реаниматология. 2018;5:91-98.
43. Шерлок Ш., Дули Дж. Заболевания печени и желчных путей. - М.: ГЭОТАР-МЕД, 2002. – 864 с.

44. Шерлок Ш., Дули Дж. Заболевания печени и жёлчных путей.- Москва: ГЭОТАР-МЕД - 2002. С.148-149
45. Шуркалин Б.К., Горский В.А., Черевотенко А.М. Плазмасорбция при лечении экзогенной и эндогенной интоксикации // Хирургия. 1979. №3. С.23-27.
46. Юнусов Х. Э., А.А. Атаханов, Н. А. Ашуров, А. А. Сарымсаков, С. Ш. Рашидова Физико-химические исследования производных хлопковой целлюлозы содержащие наночастиц серебра// Химия природных соединений, 2011 - №3 -С. 370-373.
47. Alekseeva Olga V., Rodionova Anna N., Bagrovskaya Nadezhda A., Agafonov Alexandr V. Hydroxyethyl cellulose/bentonite/magnetite hybrid materials: structure, physicochemical properties, and antifungal activity // Cellulose April 2017, Volume 24, Issue 4, pp 1825–1836.
48. Atienza Merino G. Evaluation of extracorporeal liver support systems in the treatment of liver failure. A systematic review. // Gastroenterol. Hepatol., 2010; №33: P. 352–62.
49. Butterworth R.F. Pathophysiology of hepatic encephalopathy: The concept of synergism // Hepatol. Reseach. – 2008. – Vol.38. – №1. – P. 116 – 121.
50. Candel FJ, Martínez-Sagasti F, Borges M, Maseda E, Herrera Gutiérrez M, Garnacho-Montero J, et al. Endotoxin adsorption as adjuvant therapy in gram negative severe sepsis. Rev Esp Quimioter. 2010;23:115-21.
51. Castellano G, Stasi A, Intini A, Gigante M, et al. Endothelial dysfunction and renal fibrosis in endotoxemia-induced oliguric kidney injury: possible role of LPS-binding protein. Crit Care 2014; 18: 520.
52. Chen HL, Wu SH, Hsu SH, Liou BY, Chen HL, Chang MH. Jaundice revisited: recent advances in the diagnosis and treatment of inherited cholestatic liver diseases. J. Biomed. Sci. 2018 Oct 26;25(1):75.
53. Colomina-Climent F, Giménez-Esparza C, Portillo-Requena C, Allegue-Gallego JM, et al. Mortality reduction in septic shock by plasma adsorption

- (ROMPA): a protocol for a randomised clinical trial. *BMJ Open* 2016; 6:e011856.
54. Cook R., Cook D.J., Tilley J. et al. Multiple organ dysfunction. Baseline and components scores // *Crit. Care Med.* — 2001. — Vol. 29, №12. — P. 2046–2050
 55. De Simone W, Crafa F, Noviello A, Esposito F, Zito B, Manganelli R, De Simone A, Covotta L, Palladino G, De Simone E. Bilirubin removal with coupled plasma filtration and adsorption in patients affected by hilar cholangiocarcinoma. *G Ital Nephrol* 2017; 34:pii: 2017-vol6.
 56. Donati G, Capelli I, Croci Chiocchini AL, Natali N, Scrivo A, La Manna G. Coupled plasma filtration adsorption application for liver and thyroid toxins. *Contrib Nephrol* 2017; 190: 31-42.
 57. Dubin A, Edul VS, Pozo MO, Murias G, Canul-lan CM, Martins EF, et al. Persistent villi hypoperfusion explains intramucosal acidosis in sheep endotoxemia. *Crit Care Med* 2008 ; 36 : 535-42.
 58. Dullah EC, Ongkudon CM. Current trends in endotoxin detection and analysis of endotoxin-protein interactions. // *Crit Rev Biotechnol.* 2017 Mar; 37(2):251-261. doi: 10.3109/07388551.2016.1141393. Epub 2016 Feb 10.
 59. Edmark C, McPhail MJ, Bell M, Whitehouse T, Wendon J, Christopher KB. LiFe: a liver injury score to predict outcome in critically ill patients. // *Intensive Care Med.* 2016 Mar; 42 (3):361-9.
 60. Felipo V., Urios A., Montesinos E. et al. Contribution of hyperammonemia and inflammatory factors to cognitive impairment in minimal hepatic encephalopathy // *Metabol Brain Dis.* – 2012. – Vol.27. – P. 51 – 58.
 61. Fernández J., Aracil C., Solà E. et al. Evaluation and treatment of the critically ill cirrhotic patient. // *Intensive Care Med Exp.* 2016. Dec; 4(1) P.23-25

62. Fukui H. Increased Intestinal Permeability and Decreased Barrier Function: Does It Really Influence the Risk of Inflammation?. *InflammIntest Dis.* 2016;1(3):135-145. doi:10.1159/000447252
63. Gerber T., Schomerus H. Hepatic encephalopathy in liver cirrhosis: pathogenesis, diagnosis and management. // *Drugs.* 2000. Vol. 60. P.1353-1370.
64. González-Navajas J.M. Inflammasome activation in decompensated liver cirrhosis. // *World J Hepatol.* 2016. Feb. 8; 8(4): P.207-10.
65. Guidelines for acute-on-chronic liver failure: consensus recommendations of the Asian Pacific Association for the Study of the Liver (APASL) 2014. // *HepatolInt* (2014) 8:453–471.
66. Guy C Brown The endotoxin hypothesis of neurodegeneration // *J Neuroinflammation* 2019 Sep 13;16(1):180. doi: 10.1186/s12974-019-1564-7.
67. Hassanein TI, Tofteng F, Brown RS Jr, McGuire B, Lynch P, Mehta R, Larsen FS, Gornbein J, Stange J, Blei AT. Randomizedcontrolledstudyof extracorporeal albumin dialysis for hepatic encephalopathy in advanced cirrhosis. // *Hepatology*, 2007; № 46: P.1853–1862.
68. Hatem Abushammala, Hubert Hettegger, Markus Bacher, Philipp Korntner, AntjePotthast, Thomas Rosenau Marie-Pierre Laborie. On the mechanism of the unwanted acetylation of polysaccharides by 1,3-dialkylimidazolium acetate ionic liquids: part 2—the impact of lignin on the kinetics of cellulose acetylation // *Cellulose* July 2017, Volume 24, Issue 7, pp 2767–2774.
69. Häussinger D. Hepatic encephalopathy // *Acta Gastro-EnterologicaBelgica.* – 2010. – Vol.73. – P. 457 – 464.
70. He J. et al. Preparation of the water-soluble chitosan-coated oxidized regenerated cellulose gauze // *Cellulose.* –2011. –T. 18. –No. 6. –C. 1651
71. He L, Lai Y, Lai L et al. Clinicalfeaturesofpatients with primary biliary cirrhosis. // *Zhong Nan Da XueXueBao Yi Xue Ban.* 2015. Dec; 40(12): P.1333-9.

72. Hepaticencephalopathy. In: Kuntz E., Kuntz H.–D. //Hepatology. Principles and practice. Springer 2002: 234–54.
73. Howell CA, Sandeman SR, Zheng Y, et al. Newdextrancoatedactivated carbons for medical use Carbon //N Y. 2016; №97: P. 134-146.
74. Ibadov R. A., Gizatulina N.R., BabadjanovA.Kh. Clinical Signs of the Development of Acute Hepatocellular Insufficiency and Ways to Prevent it, in Patients with Liver Cirrhosis After Porto-Systemic Shunting // © Springer Science+Business Media B.V. 2011. – P.235-239.
75. Ince C. The microcirculation in the motor of sepsis // Crit. care. — 2005. — Vol. 9, №4. — P. 19.
76. Kalia, S., Dufresne, A., et al. Cellulose-based bio- and nanocomposites: A review. Int. J. Polym. Sci. 2011, 1-35 (2011).
77. Kandiah PA, Olson JC, Subramanian RM. Emergingstrategiesforthe treatment of patients with acute hepatic failure. //CurrOpinCrit Care. 2016. Feb 4.
78. Kjaergard LL, Liu J, Als-Nielsen B, Gluud C. Artificial and bioartificial support systems for acute and acute-on-chronic liver failure: a systematic review. //JAMA. 2003; № 289: P. 217–222
79. Korean Acute-on-Chronic Liver Failure (KACLiF) Study Group. Characteristics and Discrepancies in Acute-on-Chronic Liver Failure: Need for a Unified Definition. //PLoS One. 2016. Jan 20; 11(1): eCollection 2016.
80. La Manna G, Donati G. Coupled Plasma Filtration Adsorption: A Multipurpose Extracorporeal Detoxification Therapy. Blood Purif. 2018;46(3):228-238.
81. Laleman W, Wilmer A, Evenepoel P, Verslype C, Fevery J, Nevens F: Review article: non-biologic liver support in liver failure. Aliment PharmacolTher 2006; 23: 351-363.
82. Larsen F.S., Schmidt L.E., Wendon J. et al.Liverassistingwithhigh-volume plasma exchange in patients with acute liver failure //Hepatology. – 2010. – Vol.52. – P. 376A.

83. Lee KC, Stadlbauer V, Jalan R. Extracorporeal liver support devices for listed patients. // *Liver Transpl.* 2016. Jan 19. №1, P.112-115
84. Lee WM. Acute liver failure. // *Semin Respir Crit Care Med.*, 2012; №33: P.36–45.
85. Li R, Belle SH, Horslen S, Chen LW, Zhang S, Squires RH. Pediatric Acute Liver Failure Study Group. Clinical Course among Cases of Acute Liver Failure of Indeterminate Diagnosis. // *J Pediatr.* 2016. Jan 28.
86. Ma H, Shi X, Yuan X, Ding Y. IL-1 β siRNA adenovirus benefits liver regeneration by improving mesenchymal stem cells survival after acute liver failure. // *Ann Hepatol.* 2016. Mar-Apr.
87. Maria Gunnarsson, Hans Theliander, Merima Hasani. Chemisorption of air CO₂ on cellulose: an overlooked feature of the cellulose/NaOH(aq) dissolution system // *Cellulose* June 2017, Volume 24, Issue 6, pp 2427–2436.
88. Martina B, et al. Oxycellulose: Significant characteristics in relation to its pharmaceutical and medical applications // *Advances in Polymer Technology.* –2009.–T. 28. –No. 3. –C. 199-208.
89. Martínez-Cecilia D, Reyes-Díaz M, Ruiz-Rabelo J, et al. Oxidative stress influence on renal dysfunction in patients with obstructive jaundice: A case and control prospective study. *Redox Biol.* 2016;8:160-164. doi:10.1016/j.redox.2015.12.009
90. Méndez M., Méndez-López M., López L. et al. Portosystemic hepatic encephalopathy model show reversal learning impairment and dysfunction of neural activity in the prefrontal cortex and regions involved in motivated behavior // *J. Clin. Neuroscience.* – 2011. – Vol.18. – №1. – P. 690 – 694.
91. Milichovsky M, Cesek B, Filipi M., Gojny J. Cellulose sorption filter materials with surface flocculation activity – a hopeful anticipation of water purification // *Journal of water resource and protection*, 2014.-№6.-C.165-176.

92. Minoru Kimura, Zi-Dong Qi, HayakaFukuzumi, Shigenori Kuga, Akira Isogai. Mesoporous structures in never-dried softwood cellulose fibers investigated by nitrogen adsorption // *Cellulose* October 2014, Volume 21, Issue 5, pp 3193–3201.
93. Mirzahmatova D.R., Sadykov R.A., Kim O.V. Oxidized cellulose possibilities for use in medicine. *ВестникТашкентскойМедицинскойАкадемии*. Ташкент. 2016;1: 20-22.
94. Morozov A.S., Bessonov I.V., Nuzhdina A.V., Pisarev V.M. Sorbents for extracorporeal removal of toxic substances and molecules with adverse biological activity *General reanimatology*, 2016; 12(6):82-107.
95. Nadalin S., Heuer M., Wallot M. et al. Paediatricacuteliverfailure and transplantation: The University of Essen experience // *Transpl. Int.* – 2007. – Vol.20. – P. 519 – 527.
96. Nevens F., Laleman W. Artificial liver support devices as treatment option for liver failure // *Clin. Gastroenterol.* – 2012. – Vol.26. – P. 17 – 26.
97. Nevens F., Lijnen P., Van Billoen H. The effect of long-term treatment with spironolactone on variceal pressure in patients with portal hypertension without ascites. // *Hepatology*. 1996. Vol. 23. P. 1047-1052.
98. New AM, Nei SD, Kashani KB, Rabinstein AA, Frazee EN. Levetiracetam Pharmacokinetics During Continuous Venovenous Hemofiltration and Acute Liver Dysfunction. // *Neurocrit Care*. 2016. Jan 22.
99. Novelli G., Rossi M., Pretagostini M. et al. Onehundredsixteencases of acute liver failure treated with MARS // *Transplant. Proc.* – 2005. – Vol.37. – P. 2557 – 2559.
100. O’Grady JG. Acute liver failure. // *Postgrad Med J.*, 2005; №81: P.148–154.
101. Onodera M, Inoue Y, Takikawa Y, Endo S. Clinical characteristics of liver failure from a systemic cause: A report from an advanced critical care center. // *Ann Hepatol*. 2016. Mar-Apr; 15(2): 254-9.

102. Peter G, George PC, Villyoth MP et al. A paradoxical role for an acute phase reactant in decompensated cirrhosis. // *Trop Gastroenterol*. 2015 Apr-Jun; 36(2): P.107-11.
103. Pless G. Artificial and bioartificial liver support. // *Organogenesis*. 2007; №3: P. 20–24
104. Prohic D., Mesihovic R., Vanis N., Puhalic A.. Prognostic Significance of Ascites and Serum Sodium in Patients with Low Meld Scores. // *Med Arch*. 2016. Feb; 70(1): P. 48-52.
105. Saliba F, Camus C, Durand F, Mathurin P, Letierce A, Delafosse B, Barange K, Perrigault PF, Belnard M, Ichai P, Samuel D. Albumin dialysis with a noncell artificial liver support device in patients with acute liver failure: a randomized, controlled trial. // *Ann Intern Med.*, 2013; №159: P. 522–531.
106. Sarin SK, Choudhury A. Acute-on-chronic liver failure: terminology, mechanisms and management. // *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2016. Feb 3. doi: 10.1038/nrgastro.2015.219.
107. Sarnatskaya VV, Lindup WE, Ivanov AI et al. Extraction of uraemic toxins with activated carbon restores the functional properties of albumin. // *Nephron Physiol*. 2003; 95 (1): P. 10-8.
108. Sarnatskaya VV, Lindup WE, Niwa T et al. Effect of protein-bound uraemic toxins on the thermodynamic characteristics of human albumin. // *Biochem Pharmacol*. 2002. Apr 1; 63 (7): P. 1287-96.
109. Sarnatskaya VV, Lindup WE, Walther P et al. Albumin, bilirubin, and activated carbon: new edges of an old triangle. // *Artif Cells Blood Substit Immobil Biotechnol*. 2002. Mar; 30(2): P. 113-26.
110. Senf R, Klingel R, Kurz S, et al. Bilirubin adsorption in 23 critically ill patients with liver failure. // *Int J Artif Organs*. 2004. №27: P.717-722,
111. Shen Y, Wang XL, Wang B. et al. Survival Benefits With Artificial Liver Support System for Acute-on-Chronic Liver Failure: A Time Series-Based Meta-Analysis. // *Medicine (Baltimore)*. 2016, Epub Jan.

112. Shi X.L., Gao Y., Yan Y. et al. Improved survival of porcine acute liver failure by a bioartificial liver device implanted with induced human functional hepatocytes. // *Cell Res.* 2016. Jan 15. P. 1013-18
113. Stutchfield BM, Simpson K, Wigmore SJ. Systematic review and meta-analysis of survival following extracorporeal liver support. // *Br J Surg.* 2011; №98: P. 623–631.
114. Taniguchi T, Kurita A, Yamamoto K, Inaba H. Comparison of a cytokine adsorbing column and an endotoxin absorbing column for the treatment of experimental endotoxemia. *Transfus Apher Sci.* 2009;40:55-9.
115. Tarn D, Ashley CE, Xue M, Carnes EC, Zink JJ, Brinker CJ. Mesoporous silica nanoparticle nanocarriers: Biofunctionality and biocompatibility. // *Acc Chem Res.* 2013;46(3):792-801.
116. Tritto G., Davies N.A., Jalan R. Liver replacement therapy // *Crit. Care Med.* – 2012. – Vol.33. – №1. – P. 70 – 79.
117. Tugtekin I, Radermacher P, Theisen M, Matejovic M, Stehr A, Ploner F, et al. Increased ileal- mucosal-arterial PCO₂ gap is associated with impaired villus microcirculation in endotoxic pigs. // *Intensive Care Med* 2001 ; 27 : 757-66.
118. Vaid A, Chweich H, Balk EM, Jaber BL. Molecular adsorbent recirculating system as artificial support therapy for liver failure: a meta-analysis. // *ASAIO J.* 2012; №58: P.51–59.
119. Van de Kerkhove M.P., Di Florio E., Scuderi V. et al. Phase I clinical trial with the AMC-bioartificial liver // *Int. J. Artif. Organs.* – 2002. – Vol.25. – №10. – P. 950 – 959.
120. Vogt A, Reuken PA, Stengel S, Stallmach A, Bruns T. Dual-sugar test of small intestinal permeability are poor predictors of bacterial infections and mortality in cirrhosis: A prospective study. // *World J Gastroenterol.* 2016. Mar 21; 22 (11): P.3275-84.

121. Wang X, Wang B, Huang Q, Zhang B, Hua Z. Regulation of hydrogen sulfide on transporter protein Bsep and Mdr2 in acute liver failure. //Zhonghua Yi XueZaZhi. 2015. Oct.
122. Wang Z.L., Gao S., Li L., Li X.Y., Huan S.L., Wang K. Demethylationoftumornecrosis factor- α converting enzyme predicts poor prognosis in acute-on-chronic hepatitis B liver failure. //Clin Res HepatolGastroenterol. 2016. Feb 2. pii: S. 2210-11
123. Wenqiong Su, Xianting Ding Methods of Endotoxin Detection //J Lab Autom 2015 Aug;20(4):354-64. oi: 10.1177/2211068215572136. Epub 2015 Feb 26.
124. Yan BZ, Yang BS, Li H, Zhang YF. et all. Thetherapeuticeffectof CORM-3 on acute liver failure induced by lipopolysaccharide/D-galactosamine in mice. //Hepatobiliary Pancreat Dis Int. 2016. Feb. P 73-80.
125. Yang Li, Diana Boraschi Endotoxin contamination: a key element in the interpretation of nanosafety studies //Nanomedicine (Lond) 2016 Feb;11(3):269-87. doi: 10.2217/nmm.15.196. Epub 2016 Jan 20.
126. Zider AD, Zopey R, Garg R. et all. PrognosticSignificanceofInfections in Critically Ill Adult Patients with Acute Liver Injury: A Retrospective Cohort Study. // Liver Int. 2016 Jan 23.