

М.А. НУРАЛИЕВ, Е.Л. ИСМАИЛОВ, С.Н. ЕРАЛИНА, П.Н. ГИЛЁВ, А.М. СУРАУБАЕВ
Кафедра анестезиологии и реаниматологии с курсом скорой неотложной помощи ИПО КазНМУ имени С.Д.Асфендиярова

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ПРИМЕНЕНИЕ НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ МЕЗОПОРИСТЫХ УГЛЕРОДНЫХ ГЕМОСОРБЕНТОВ ЛАМИНАРНОГО ТИПА

Проведено экспериментальное исследование эффективности нового поколения углеродных сорбентов ламинарного типа, на основе рисовой шелухи и абрикосовых косточек, при отравлениях этиловым спиртом у 20 особей беспородных собак, которым вводили по 60 мл 33 % этилового спирта парентерально, для индуцирования алкогольной интоксикации. Предлагаемый нами гемосорбент минимизирует разрушение форменных элементов за счет ламинарного течения крови по гемосорбенту, позволяет точно рассчитать активную поверхность гемосорбента, что повышает его эффективность по сравнению с другими гемосорбентами.

Ключевые слова: гемосорбция, гемосорбент, ламинарное течение

Гемосорбция - метод эфферентной терапии (экстракорпоральной детоксикации, гравитационной хирургии крови), направленный на удаление из крови различных токсических продуктов путем контакта крови с сорбентом вне организма.

Сорбционные методы основаны на такой особенности многих молекул токсических веществ, как наличие заряда или свободных радикалов в их структуре. При контакте с сорбентом, состоящим из поверхностно-активных структур, такие молекулы способны адсорбироваться (т.е. фиксироваться на поверхности сорбента) или абсорбироваться (т.е. фиксироваться в объеме сорбента) к последним.

Первые аппараты для гемосорбции (ГС) использовали в качестве сорбента активированный уголь, который является самым известным и старым из поверхностно-активных веществ. Этот сорбент используется до сих пор, а метод гемосорбции в таком случае называется неселективным. Недостатком его является то, что далеко не все группы токсических веществ вступают в реакцию с активированным углем. При полуселективном варианте, разработанном впоследствии, в качестве сорбента используются ионообменные смолы, которые обладают некоторой тропностью (избирательностью) к определенным видам токсичных веществ, расширяя показания к применению метода. И наконец, в последнее время активно развивается новое направление ГС – селективная, при которой применяется новое поколение сорбентов – иммуносорбенты. Они представляют собой фиксированные на ионообменных смолах антитела. В настоящее время уже разработано большое количество селективных сорбентов с антителами к конкретным веществам (моноклональные антитела), и исследования в этом направлении продолжаются.

Для ГС применяются две группы сорбентов: селективные и неселективные. Наиболее широко используются неселективные сорбенты: активированные угли и ионообменные смолы (СКТ-6А, КАУ, СУГС, СУМС, СКН, ИГИ, МХТИ-2К, ФАС и др.).

Основные группы и виды сорбентов (по Н.А.Лопаткину, Ю.М.Лопухину с дополнениями)

| Группа сорбентов | Наименование видов | Принцип действия |
|------------------|---|---|
| Неспецифические | Активированные угли | Физическая адсорбция и абсорбция, хемосорбция |
| | Ионообменные сорбенты | Ионный обмен |
| | Окислительные сорбенты | Модификация: окисление |
| Специфические | Аффинные сорбенты | Специфическое связывание: лиганд – вещество |
| | Ферментные сорбенты | Модификация: фермент – субстрат |
| | Имуносорбенты | Комплементарное связывание: антиген – антитело |
| | Рецепторные (биоспецифические) сорбенты | Комплементарное связывание: рецептор - вещество |

Детоксикационный эффект ГС углеродистыми сорбентами серии СКН обусловлен способностью сорбентов удалять из крови преимущественно среднимолекулярные соединения. Активированный уголь с микропорами 0,35 см³/г и изопорами 0,15 см³/г сорбируют вещества с мол. м. 110—1400. Наряду с этим некоторые марки активированного угля способны сорбировать не только МСМ, но и вещества с более высокой молекулярной массой, включая полипептиды и белковые соединения [Линденберг А.В. и др., 1984; Лопухин Ю.М., Затевахин И.М., 1984; Молоденков М.И., 1985; Фомин А.В., 2000].

Вместе с тем при ГС наряду с токсичными веществами из кровотока элиминируются и физиологические биологически активные вещества — ферменты, гормоны, медиаторы иммунных реакций [Мазур Л.И. и др., 1980; Лопухин Ю.М. и др., 1984; Лахтман А.М., 1987]. В зависимости от «агрессивности» сорбентов и толерантности к ним форменных элементов крови сорбируются электролиты, белки, форменные элементы крови и нетоксичные пептиды, являющиеся материальным субстратом иммунных систем организма. Количество тромбоцитов снижается до 30 %, фибриногена до 20—40 %, улучшается реология. Включение ГС в комплекс лечения больных с разлитым гнойным перитонитом при соответствующей коррекции позволило значительно улучшить результаты лечения и снизить летальность при данной патологии на 6—11 % [Белокуров Ю.Н. и др., 1986; Гостицев В.К. и др., 1991, 1993; Фомин П.В., 1999, и др.].

Таким образом, эффективность ГС заключается в том, что вследствие прямого контакта сорбента с кровью из организма наряду с гидрофильными соединениями могут частично удаляться водонерастворимые вещества гидрофобной природы (порядка 4 %). При этом клиренс МСМ при ГС в 2—3 раза выше, чем при гемодиализе и гемофильтрации. Клинический детоксикационный эффект ГС и ее селективность во многом определяются видом и качеством сорбента. Так, угольные сорбенты БАУ, СКТ-6А, СКН обладают свойствами избирательной сорбции низко- и среднимолекулярных продуктов. Катиониты МХТИ-2К, МХТИ-4К, Jonsuv-80 активно удаляют из крови аммиак: МХТИ-2А активно сорбирует билирубин.

Показания к ГС, в настоящее время, значительно сократились и предпочтение отдается менее травматичным методикам: плазмаферезу и энтеросорбции. Обусловлено это, в первую очередь, травматизацией форменных элементов крови, обязательной гепаринизацией, разбалансированием свертывающей системы крови и метаболическим ацидозом. Селективные сорбенты пока не нашли широкого применения в медицине в силу высокой стоимости и, часто, недостаточной эффективности.

Все это и послужило причиной для поиска и разработки нового высокотехнологичного углеродного сорбента.

Цель работы – экспериментальное исследование эффективности нового поколения углеродных сорбентов ламинарного типа при отравлениях этиловым спиртом

Материал и методы. Основой мезопористого углеродного гемосорбента являются рисовая шелуха и абрикосовые косточки. Используемый нами сорбент изготовлен в виде сотовых керамик монтмориллонитовой глины и карбонизата рисовой шелухи, образцы имеют цилиндрическую форму и канальцевую структуру (Инновационный патент № 25024 на изобретение «Способ получения мезопористого углеродного сорбента» 2011 г.). Аналоги российского и зарубежного производства выпускаются в виде шариков и цилиндров малого размера ($D = 0.5-0.8$ мм). При их использовании происходит значительное разрушение форменных элементов крови - эритроцитов и тромбоцитов. Формирование сорбента в блоки с многоканальной сотовой структурой позволяет получить углеродный монолит с незначительным гидродинамическим сопротивлением и высокой контактной поверхностью, что, в свою очередь, обеспечивает ламинарное протекание крови через гемосорбент и, практически исключает разрушение форменных элементов крови в процессе перфузии.

Для проведения экспериментальных испытаний углеродные монолиты ламинарного типа были помещены в пластиковые колонки для гемоперфузии, подсоединяемые к магистралям международного стандарта. Схема разработанной колонки представлена на рисунке 1.

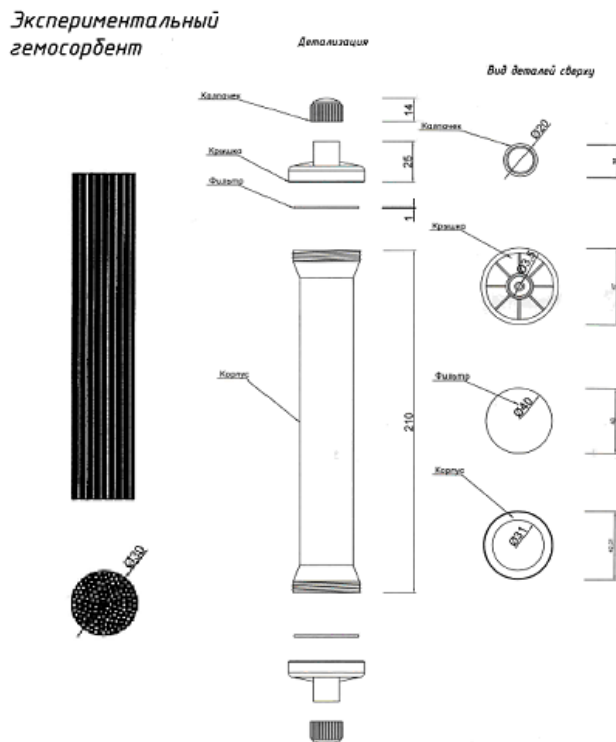


Рисунок 1 - Схема экспериментальной колонки для ГС

Экспериментальное исследование эффективности предлагаемого нами сорбента при элиминации токсинов из крови животных (собак) в условиях *in vivo* проводилось в научной ветеринарной клинике Казахского Национального Аграрного Университета. Для эксперимента было выбрано 20 особей беспородных собак, которым вводили по 60 мл 33 % этилового спирта парентерально, для индуцирования алкогольной интоксикации (1 эксперимент).

Прокачка крови осуществлялась с помощью прибора «искусственная почка» со скоростью 140 мл/мин. После эксперимента образцы крови были проанализированы на содержание алкоголя.

Исследование проводилось в несколько этапов:

- 1 этап – исходный уровень
- 2 этап – после инъекции этилового спирта
- 3 этап – через 30 мин от начала ГС
- 4 этап – через 60 мин от начала ГС

Дополнительно контролировались общие и биохимические показатели крови.

Для определения эффективности элиминации токсинов углеродными блоками ламинарного типа были проведены эксперименты по гемосорбции этанола из донорской крови в условиях *in vitro*. Для эксперимента была выбрана чистая донорская кровь объемом 450 мл ($n = 10$) в которую введено 5 мл 33 % этилового спирта (2 эксперимент). Прокачки крови осуществлялась с помощью прибора «искусственная почка» со скоростью 140 мл/мин. Фотография проведения эксперимента гемоперфузии показана на рисунке 2.

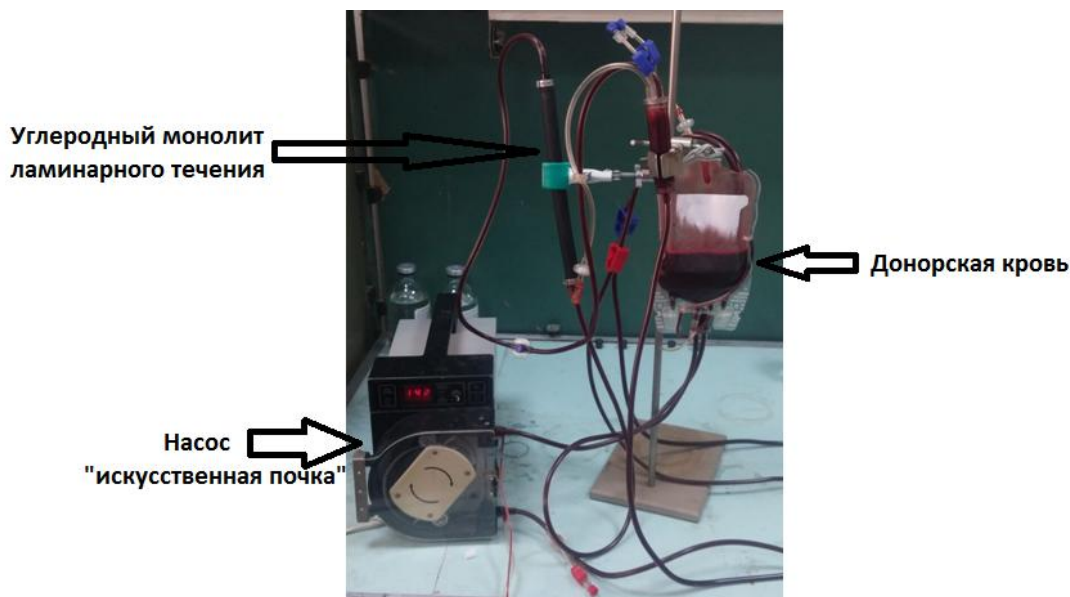


Рисунок 2 - Элиминация этанола из донорской крови

Экспериментальное исследование в данном случае проведено в 2 этапа:

1 этап – после введения этилового спирта

2 этап – после окончания сеанса ГС

Исследования крови проводились с использованием ветеринарного гематологического автоматического анализатора PCE-90Vet (США), биохимического полуавтоматического анализатора Biochem SA (США).

Результаты исследования

Показатели общего и биохимического анализа крови представлены в таблице №1.

Таблица 1 - Показатели общего и биохимического анализа крови в 1 эксперименте

| показатели | физиологические нормы | 1 эксперимент | | | |
|------------|-------------------------------|---------------|--------------|--------------|--------------|
| | | 1 этап | 2 этап | 3 этап | 4 этап |
| гемоглобин | 110-190 (г/л) | 115,9 ± 0,25 | 126,3 ± 0,18 | 113,4 ± 0,21 | 110,5 ± 0,31 |
| эритроциты | 5,5-8,5 (10 ¹² /л) | 7,93 ± 0,11 | 9,34 ± 0,17 | 7,46 ± 0,22 | 7,27 ± 0,18 |
| гематокрит | 39-54 | 55,4 ± 0,17 | 65,2 ± 0,24 | 51,9 ± 0,25 | 50,7 ± 0,29 |
| тромбоциты | 117-460 (10 ⁹ /л) | 377,6 ± 0,25 | 578,8 ± 0,31 | 323,4 ± 0,15 | 263,7 ± 0,13 |
| Лейкоциты | 6,0-17,0 (10 ⁹ /л) | 11,3 ± 0,17 | 11,6 ± 0,14 | 5,9 ± 0,14 | 6,6 ± 0,12 |
| Креатинин | 26-120 ммоль/л | 110,6 ± 0,1 | 84,8 ± 0,2 | 121,6 ± 0,2 | 125,3 ± 0,2 |
| Мочевина | 3,5-9,2 ммоль/л | 3,55 ± 0,11 | 3,89 ± 0,12 | 3,53 ± 0,11 | 3,74 ± 0,12 |
| АЛТ | 9-52 ед. | 8,34 ± 0,07 | 8,34 ± 0,02 | 10,1 ± 0,05 | 5,56 ± 0,04 |
| АСТ | 11-42 ед. | 8,16 ± 0,04 | 20,1 ± 0,07 | 17,5 ± 0,06 | 28,2 ± 0,04 |

В 1 эксперименте отмечается значительное повышение количества эритроцитов, тромбоцитов, гематокрита и уровня гемоглобина на 2 стадии исследования. Вероятнее всего это обусловлено активацией эритропоэтина и тромбопоэтина, как ответной реакции сосудисто-тромбоцитарного звена системы гемостаза на инвазивные манипуляции. Снижение уровня эритроцитов и тромбоцитов на 3 и 4 этапе, возможно связано с токсическим воздействием алкоголя на мембрану эритроцитов и гемоглобин. Быстрым разрушением эритроцитов объясняется уменьшение объема эритроцитов, что привело к снижению гематокрита, хотя значения гематокрита не выходили за рамки физиологической нормы.

Изменения в биохимических показателях крови были не столь значительны, за исключением показателя АСТ на 2 этапе. Причиной этому является незначительный временной промежуток между алкоголизацией собаки и началом ГС, который составил 10 минут. Наиболее интересными представляются изменения в концентрации этанола на этапах исследования в 1 эксперименте (Таблица 2).

Таблица 2 - Динамика концентрации этанола в процессе ГС в 1 эксперименте

| Этапы исследования | Время сорбции, мин | Концентрация этанола, ‰ | Степень сорбции, % |
|--------------------|--------------------|-------------------------|--------------------|
| 1 этап | ---- | ---- | ---- |
| 2 этап | 0 | 3,04 | 0 |
| 3 этап | 30 | 1,31 | 57 |
| 4 этап | 60 | 1,24 | 60 |

Как правило, кривая динамики адсорбции веществ из водных растворов на углеродные сорбенты выглядит следующим образом: основное количество вещества сорбируется в первую половину времени сорбции. Вероятно, это связано со значительным уменьшением концентрации алкоголя в крови (в данном случае в 2,3 раза, или на 57 %) в результате его адсорбции на колонке с углеродным материалом. По окончании сеанса ГС концентрация этанола в крови понизилась до 1,24 промилле, что соответствует легкой степени отравления.

Аналогичная картина наблюдалась и в экспериментах с донорской кровью. После введения в контейнер 5 мл 33% этилового спирта через 15 минут определяли содержание этанола и количество форменных элементов крови – эритроцитов, тромбоцитов. Количество лейкоцитов нами не учитывалось, так как вся донорская кровь была лейкофильтрована. В качестве донорской крови нами использовалась эритроцитарная взвесь, средний объем контейнеров составил 380 мл. Срок хранения эритроцитарной взвеси не превышал положенного (42 суток), но следует отметить, что срок годности используемого материала подходил к концу (40-41 суток).

Повторно эти же показатели определялись после сеанса ГС.

Таблица 3 - Показатели форменных элементов в эксперименте №2

| № | показатели | физиологические нормы | 2 эксперимент | |
|---|------------|---------------------------|---------------|-----------|
| | | | 1 этап | 2 этап |
| 1 | эритроциты | 4,0 – 5,0 ($10^{12}/л$) | 3,2 ± 0,2 | 2,9 ± 0,3 |
| 2 | тромбоциты | 180 – 320 ($10^9/л$) | 183 ± 12 | 176 ± 15 |

Из таблицы видно, что в количестве форменных элементов крови не произошло каких-либо достоверно значимых изменений. В конце процедуры общий уровень практически сохранился на исходном уровне.

Относительно изменений в концентрации этанола в крови, то здесь разница очевидна. На 1 этапе уровень этанола в среднем составил $2,54 \pm 0,04$ ‰. После сеанса ГС этот показатель составил $0,82 \pm 0,06$ ‰, т.е. за 60 минут ГС с помощью единственной сорбционной колонки удалось добиться $\approx 70\%$ удаления этанола.

В таблице №4 представлены сорбционные данные и степень сорбции алкоголя углеродными монолитами

Таблица 4 - Данные сорбции алкоголя углеродными монолитами

| Содержание алкоголя в крови после инъекции, (‰) | Содержание алкоголя в крови после ГС, (‰) | Масса адсорбированного алкоголя, мг | Адсорбционная ёмкость монолита, мг/г | Степень сорбции, % |
|---|---|-------------------------------------|--------------------------------------|--------------------|
| $2,54 \pm 0,04$ | $0,82 \pm 0,06$ | $532,6 \pm 13,8$ | $21,3 \pm 0,4$ | $67,5 \pm 0,6$ |

Из таблицы 4 следует, что сорбционная ёмкость монолита составляет 21-22 мг/г, а масса адсорбированного спирта составляет 1100 - 1150 мг на 25 г углеродного монолита. Таким образом, 1 монолитная колонка для гемосорбции способна адсорбировать до 68% алкоголя при концентрации 2,54 промилле. Для увеличения эффективности сорбента при отравлении большим количеством спирта, более 5-6 промилле возможно использование кассеты с большим количеством углеродных монолитов ламинарного типа.

Заключение Проведенная экспериментальная часть исследовательской работы по изучению эффективности гемосорбентов нового поколения полностью подтвердила ожидаемые результаты и открывает новые возможности в клиническом применении методов экстракорпоральной детоксикации в целом и гемосорбции, в частности.

Применявшиеся до последнего времени гранулированные гемосорбенты частично травмируют форменные элементы крови, что создает предпосылки для тромбообразования при нарушении целостности мембран эритроцитов. Кроме того, при соударении гранул может образовываться «скрытая пыль», которая за счет своего химического состава может служить причиной различного рода реакций.

Предлагаемый нами гемосорбент минимизирует разрушение форменных элементов за счет ламинарного течения крови по гемосорбенту, что повышает его эффективность по сравнению с другими гемосорбентами.

В дополнение к этому необходимо отметить, что КПД гранулированных сорбентов относительно невысок из-за небольшой (15-20%) активной поверхности сорбента, тогда как при использовании мезапористых углеродных сорбентов с ламинарным течением можно с высокой точностью посчитать активную поверхность, что позволит индивидуализировать подход к каждому пациенту и своевременно внести коррективы в скорость потока, время ГС, что в конечном итоге скажется на эффективности самой процедуры.

Таким образом проведенная нами экспериментальная работа по апробации нового поколения мезапористых углеродных гемосорбентов с ламинарным течением и полученные результаты позволяют сделать следующие выводы:

1. экспериментальные данные однозначно показывают высокую эффективность гемосорбентов нового поколения и возможность их применения в клинической практике
2. монолитные мезапористые углеродные гемосорбенты с ламинарным течением практически не оказывают отрицательного травмирующего действия на форменные элементы крови
3. возможность точного расчета активной поверхности гемосорбента нового поколения позволит с максимальной эффективностью и экономичностью проводить сеансы ГС в каждом конкретном случае

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Хотимченко Ю.С., Кропотов А.В. Энтеросорбенты для больных и здоровых. Медикофармацевтический вестник Приморья. -1998. - №4. - С.99-107;
- 2 Энтеросорбция //под редакцией Н.А. Белякова. – Ленинград: 1991. – С. 45-49.
- 3 Хотимченко Ю.С., Кропотов А.В. Применение энтеросорбентов в медицине, Тихоокеанский медицинский журнал. -1999. - №2.- С. 84-89.
- 4 Новокшонов А.А. и др. Клиническая эффективность нового энтеросорбента в комплексной терапии острых кишечных инфекций вирусной этиологии у детей //Лечащий врач. -2009. - №7. – С. 78-80.

М.А. НУРАЛИЕВ, Е.Л. ИСМАИЛОВ, С.Н. ЕРАЛИНА, П.Н. ГИЛЁВ, А.М. СУРАУБАЕВ
Анестезиология және реаниматология мен жедел шұғыл жәрдем курсы кафедрасы
С.Д.Асфендияров атындағы ҚазҰМУ

ЖАҢА ҰРПАҚ МЕЗОКЕУЕКТІ КӨМІРТЕГІ ҚАНСОРБЕНТІНІҢ ЛАМИНАРЛЫҚ ТҮРІН ЭКСПЕРИМЕНТТІК ПАЙДАЛАНУ

Түйін: Күріш қауызы және абрикос сүйегі негізінде жасалған көміртек сорбенттің ламинарлық түрін 33% 60 мл этанол спиртiмен уланған 20 жеке тұлғалы иттерде пайдаланып, оның тиімділігі тәжірибелік түрде зерттелді. Біз ұсынған қансорбенттің басқа қансорбенттерімен салыстырғанда тиімділігі аса үлкен екендігі көрсетілді.

Түйінді сөздер: қансорбциясы, қансорбенті, ламинарлық ағын

M.A. NURALIEV, E.L. ISMAILOV, S.N. ERALINA, P.N. GILEV, A.M. SWRAWBAEV
Department of Anesthesiology and Intensive Care Course-emergency ambulance
KazNMU S.D. Asfendiyarov

EXPERIMENTAL USE OF NEW GENERATION MESOPOROUS CARBON HEMOSORBENTS LAMINAR TYPE

Resume: An experimental study of the efficacy of a new generation of carbon sorbents laminar type, based on rice husk and apricot kernel, in case of poisoning with ethyl alcohol 20 individuals mongrel dogs treated with 60 ml of 33% ethanol parenterally, to induce drunkenness. Our proposed hemosorbent minimizes disruption formed elements due to the laminar flow of blood through the hemosorbents accurately calculate hemosorbent active surface, which increases its effectiveness compared with other hemosorbents.

Keywords: hemosorbtion, hemosorbent, laminar flow