

УДК 541.49; 615.015:615.05; 616.24; 616-0.01.17.0.01.08

## ВПЛИВ ГІПЕРОСМОЛЯРНОГО КОЛОЇДНОГО РОЗЧИНУ HAES-LX 5% НА ДИНАМІКУ ЗМІН РІВНЯ ЕНДОГЕННІЇ ІНТОКСИКАЦІЇ ТА ЗАПАЛЕННЯ В ОРГАНІЗМІ ЩУРІВ У ГОСТРОМУ ПЕРІОДІ ОПІКОВОЇ ХВОРОБИ

**А.О.Очеретнюк**

Вінницький національний медичний університет ім. М.І.Пирогова

*Ключові слова:* інфузійна терапія; опікова хвороба; ендогенна інтоксикація; HAES-LX 5%; лактопротеїн з сорбітолом; ізотонічний розчин

**THE EFFECT OF HAES-LX 5% HYPEROSMOLAR COLLOID SOLUTION ON DYNAMICS OF CHANGES IN THE LEVEL OF ENDOGENOUS INTOXICATION AND INFLAMMATION IN THE RAT'S ORGANISM IN THE ACUTE PERIOD OF BURN DISEASE**

**A.O.Ocheretnyuk**

*National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsya*

*Key words:* infusion therapy; burn disease; endogenous intoxication; HAES-LX 5% lactoprotein with sorbitol; isotonic solution

*The article presents the results of studies on the level of endogenous intoxication and inflammation in rats after skin burns of the II-a degree with the area of 21-23% of the body surface and its correction with infusion solutions of lactoprotein with sorbitol, HAES-LX 5% and 0.9% solution of NaCl. On day 3 the content of the average molecular weight and the C-reactive protein increases under conditions of burn disease. In animals injected with the drugs under study the values of endogenous intoxication are statistically significantly lower compared to the rats injected with the isotonic solution. The protective effect of HAES-LX 5% hyperosmolar colloid solution and lactoprotein with sorbitol is the most expressive on the 7th day of the experiment. The drugs exhibit the antioxidant, anti-inflammatory effects and reduce the level of endogenous intoxication and inflammatory reactions in the rat's organism.*

За даними ВООЗ у мирний час питома вага опікової травми складає від 5,6% до 10% і посідає третє місце серед травм. Термічні ураження супроводжуються вираженими проявами стресу і запалення, опікової аутоінтоксикації. Ендогенна інтоксикація є одним з найважливіших критеріїв опікової хвороби (ОХ), що визначають важкість стану людини [8]. Найбільш перспективним для поглибленого вивчення ендогенної інтоксикації в якості субстратів є молекули середньої маси (МСМ), тобто олігопептиди з масою від 500 до 5000 Д, що за своєю природою відносяться до білкових токсинів з високим вмістом дикарбонових і низьким – ароматичних кислот. Молекули середньої маси мають пряму мембранотоксичну дію та ініціюють появу пептидів, близьких за структурою до біорегуляторів. МСМ притаманна висока біоло-

гічна активність. Вважають, що значне підвищення вмісту МСМ у крові при різних видах патології є прогностично несприятливим показником, тому що продукти деградації біополімерів можуть чинити виражений нейротоксичний вплив на структури головного мозку. МСМ порушують фізико-хімічні властивості клітинних мембран і роблять їх більш доступними для різних шкідливих впливів метаболітів ендотоксикозу [6].

Метою роботи було встановлення динаміки змін рівня ендогенної інтоксикації та запалення у щурів з опіком (II ступеня площею 21-23% поверхні тіла) при введенні ізотонічного розчину, лактопротеїну з сорбітолом та HAES-LX 5%.

### Матеріали та методи

Експериментальні дослідження терапевтичної дії інфузійних препаратів були виконані в науко-

во-дослідній клініко-діагностичній лабораторії ВНМУ ім. М.І.Пирогова, сертифікованої МОЗ України (свідоцтво про переатестацію №002/10 від 11 січня 2010 р.) на моделі ОХ (гострий період – 1, 3, 7 доба). Дослідження проведені на 32 білих щурах-самцях масою 160-180 г відповідно до вимог сучасних норм, що відображено у «Загальних етичних принципах експериментів на тваринах» (Київ, 2007), методичних рекомендаціях ДФЦ МОЗ України про «Доклінічні дослідження лікарських засобів» та правилах комітету з біоетики ВНМУ ім. М.І.Пирогова (протокол №1 від 14.01.2010 р.). Тварини були розподілені на 4 групи: I група – щури, яким проводили лише катетеризацію стегнової вени (інтактні тварини); II, III, IV групи – щури після опіку шкіри, яким проводили інфузію відповідно: 0,9% розчином NaCl; лактопротеїном із сорбітолом та HAES-LX 5%. Термічний опік II ступеня площею 21-23%

Таблиця 1

**Вміст маркерів запалення та ендогенної інтоксикації в сироватці крові щурів з опіковою хворобою на тлі фармакотерапії ( $M \pm m$ ,  $n=32$ )**

Характеристика груп тварин	Молекули середньої маси, од. опт. щ.	С-реактивний протеїн, мг/л
Тварини без опіку (інтактні)	0,131±0,009	6,79±0,50
Опік + 0,9% NaCl (контроль)	1 доба	0,230±0,023*
	3 доба	0,340±0,009*°
	7 доба	0,299±0,012*&
Опік + HAES-LX 5% (досліджуваний препарат)	1 доба	0,196±0,015*#
	3 доба	0,217±0,007*#
	7 доба	0,172±0,009*#&
Опік + лактопротеїн із сорбітолом (референс-препарат)	1 доба	0,203±0,015*
	3 доба	0,228±0,008*#
	7 доба	0,183±0,006*#&

Примітки:

- 1) \* –  $p < 0,05$  відносно показників у інтактних тварин;
- 2) # –  $p < 0,05$  відносно показників у контрольної групи;
- 3) ° –  $p < 0,05$  між показниками на 1 та 3 добу експерименту в межах однієї групи;
- 4) & –  $p < 0,05$  між показниками на 3 та 7 добу експерименту в межах однієї групи.

у тварин викликали за методикою експериментальної моделі ОХ [9]. Інфузію корегуючих розчинів проводили внутрішньовенно в об'ємі 10 мл/кг маси тіла протягом 5 хв через 1 годину після моделювання патологічного стану, наступні інфузії – 1 раз на добу. Гоління тварин, нанесення опіків, катетеризацію магістральних судин та декапітацію тварин здійснювали в умовах пропофолового наркозу 60 мг/кг внутрішньоочеревинно.

Для біохімічного дослідження сироватку крові виділяли за стандартною методикою [7] та визначали вміст маркерів запального процесу, ендотоксикозу та нітрозативного стресу. Вміст середньомолекулярних олігопептидів (середніх молекул) визначали спектрофотометричним методом при довжині хвиль УФ-опромінювання 220 нм [1]. Вміст С-реактивного білка визначали імуноферментним методом набором «Rat C-Reactive Protein [CRP] ELISA Kit» (BD Biosciences, США). Вміст стабільних метаболітів оксиду азоту нітритів та нітра-

тів у гомогенаті легенів визначали за реакцією з реактивом Гріса після попередньої депротеїнізації сироватки крові ацетонітрилом. При цьому нітрати попередньо відновлювали до нітритів сумішшю, яка містила цинковий порошок та розчин амоніаку [5].

У роботі було використано три схеми фармакологічної корекції: 0,9% розчину NaCl (контроль), лактопротеїну з сорбітолом (ЛПС) (референс-препарат) та досліджуваного препарату HAES-LX 5%. Препарат ЛПС (виробництва ЗАТ «Біофарма»), до складу якого входять: альбумін – 50 г, сорбітол – 60 г, розчин натрію лактату 60% – 35 г, натрію хлорид – 0,1 г, калію хлорид – 0,075 г, натрію гідрокарбонат – 0,1 г, вода для ін'єкцій – до 1 л, чинить широкий спектр метаболічних і фармакологічних ефектів, зокрема протишоковий та детоксикаційний, сприяє нейтралізації метаболічного ацидозу [2]. Вітчизняний новий кровозамінник був розроблений в лабораторії технології трансфузійних препаратів ДУ «Інститут

патології крові та трансфузійної медицини НАМН України» (м. Львів). HAES-LX 5% – це комплексний колоїдно-гіперосмолярний інфузійний розчин, який містить в якості колоїдної основи гідроксіетильований крохмаль з ММ 130000, п'ятиатомний спирт ксилітол, залужнювальний компонент натрію лактату, солі натрію, калію, кальцію та магнію хлориду. Осмолярність препарату складає 890 мОсмоль/л, що у 3 рази перевищує осмолярність ізотонічного розчину натрію хлориду та осмолярність плазми крові [3].

### Результати та їх обговорення

Тригерними механізмами альтерації легеневої тканини при ОХ є розвиток системного запалення та ендогенної інтоксикації. На цьому тлі розвивається нітрозативний стрес [4]. Показано, що за умов ОХ у щурів формувалась системна запальна реакція та ендогенна інтоксикація (табл. 1). Так, на 1 добу експерименту відмічається зростання вмісту МСМ та С-реактивного протеїну відповідно на 75,2 та 60,8%, на 3 добу – на 159 та 104%, а на 7 добу – на 128 та 80,3% порівняно з тваринами без опіку.

Інфузія розчинами HAES-LX 5% та ЛПС приблизно в однаковій мірі виявляє протизапальну дію та зменшує прояви ендогенної інтоксикації протягом 7 діб: під час застосування HAES-LX 5% відмічається зменшення рівня МСМ та С-реактивного протеїну відповідно на 42,5 та 35,0%, а для ЛПС – на 38,9 та 32,9% відносно контрольної групи.

У щурів з ОХ на тлі запалення та ендогенної інтоксикації розвивався нітрозативний стрес (табл. 2). Станом на 1 добу в сироватці крові рівень стабільних метаболітів NO зростав на 102% порівняно з тваринами без ОХ. На 3 добу експерименту значно посилювалася продукція вазоактивних газотрансмітерів: рі-

Таблиця 2

**Вміст метаболітів нітрогеномоноксиду  
в сироватці крові щурів з опіковою хворобою  
на тлі фармакотерапії ( $M \pm m$ ,  $n=32$ )**

Характеристика груп тварин		$NO_2^- + NO_3^-$ , мкмоль/л
Інтактні тварини (без опіку)		$5,88 \pm 0,14$
Опік + 0,9% NaCl (контроль)	1 доба	$11,9 \pm 0,46^*$
	3 доба	$14,9 \pm 0,50^{*\circ}$
	7 доба	$13,4 \pm 0,45^{*\&}$
Опік + HAES-LX-5% (досліджуваний препарат)	1 доба	$11,2 \pm 0,34^*$
	3 доба	$11,0 \pm 0,57^{*\#}$
	7 доба	$9,05 \pm 0,31^{*\#\&}$
Опік + лактопротеїн із сорбі- толом (референс-препарат)	1 доба	$11,0 \pm 0,31^*$
	3 доба	$10,7 \pm 0,61^{*\#^\circ}$
	7 доба	$8,80 \pm 0,23^{*\#\&}$

Примітки:

- 1) \* –  $p < 0,05$  відносно показників у інтактних тварин;
- 2) # –  $p < 0,05$  відносно показників у контрольної групи;
- 3) ° –  $p < 0,05$  між показниками на 1 та 3 добу експерименту в межах однієї групи;
- 4) & –  $p < 0,05$  між показниками на 3 та 7 добу експерименту в межах однієї групи.

вень нітритів та нітратів збільшувався на 154% відносно інтактних щурів. У той же час на 7 добу ступінь нітрозативного стресу був вірогідно меншим, ніж на 3 добу: зростання вмісту нітритів і нітратів становило 128% відносно тварин без ОХ.

Введення HAES-LX 5% та ЛПС чинило депримууючий вплив на продукцію нітрогеномоноксиду. Так, на 1 добу застосування вказаних розчинів рівень стабільних метаболітів NO в сироватці крові змінювався лише на рівні тенденції. Станом на 3 добу застосування HAES-LX 5% та ЛПС відмічалось статистично вірогідне зниження вмісту нітри-

тів і нітратів відповідно на 26,2 та 28,1% відносно контролю. Натомість 7-денне застосування вказаних препаратів чинило максимальний вплив на систему вазоактивних газотрансміттерів: рівень нітритів та нітратів у сироватці крові зменшувався відповідно на 32,6 та 34,4% відносно контрольної групи тварин.

Таким чином, ОХ у щурів супроводжується формуванням ендогенної інтоксикації та запальних реакцій в організмі щурів на тлі розвитку нітрозативного стресу [4, 8]. Застосування лактопротеїну з сорбітолом та розчину HAES-LX 5% виявляє протизапальну, детоксикацій-

ну дію та зменшує прояви нітрозативного стресу. За вказаними ефектами розчин досліджуваного препарату не поступається таким у референс-препарату.

#### ВИСНОВКИ

1. Опікова хвороба у щурів супроводжується максимальним збільшенням рівня маркерів ендогенної інтоксикації (у 2,5 рази молекул середньої маси), запаленням (у 2,1 рази С-реактивного протеїну) та нітрозативним стресом (у 2,53 рази метаболітів  $NO_2 + NO_3$ ) протягом перших трьох діб експерименту.

2. Застосування інфузійних розчинів HAES-LX 5% та лактопротеїну з сорбітолом зменшує виразність ендогенної інтоксикації, запалення та нітрозативного стресу (у 1,73 рази; у 1,63 рази – молекул середньої маси відповідно; у 1,53 рази; у 1,48 рази – С-реактивного протеїну відповідно; у 1,48 разів; у 1,52 рази – метаболітів ( $NO_2 + NO_3$ ) відповідно у порівнянні з 0,9% розчином NaCl на сьому добу експерименту.

3. Захисний вплив розробленого інфузійного розчину HAES-LX 5% на перебіг опікової хвороби можна пояснити лікувальною дією основних складових препарату (багатоатомних спиртів, натрію лактату), гіперосмолярністю, що значно покращує мікроциркуляцію тканин, підвищує транспорт кисню і перешкоджає розвитку системного запалення, ендогенної інтоксикації та нітрозативного стресу.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Габриэлян Н.И., Левицкий Э.Р., Дмитриев А.А. и др. Скрининговый метод определения средних молекул в биологических жидкостях: Метод. рекоменд. – М.: Медицина, 1985. – 18 с.
2. Деклараційний пат. на винахід 32467 Україна, МПК А 61 К 9/08. Плазмозамінювальний розчин комплексної дії «Лактопротеїн з сорбітолом» / М.В.Миндюк, Б.В.Качоровський, В.Л.Новак та ін. – Львів. ін-т пат. крові та трансфуз. медицини НАМН України. – №99074351. – Заявл.: 28.07.99. Опубл.: 15.12.10. – Бюл. №7.
3. Деклараційний пат. на винахід 93776 Україна, МПК А 61 К 9/08. Комплексний колоїдно-гіперосмолярний інфузійний препарат / Б.О.Кондрацький, В.Л.Новак, Я.Б.Кондрацький. – Львів. ін-т пат. крові та трансфуз. медицини НАМН України. – № а 2009 08880. – Заявл.: 25.08.99. Опубл.: 10.03.2011. – Бюл. №5.

4. Дмитрієва К.Ю. // Мед. хімія. – 2004. – Т. 6, №4. – С. 77-80.
5. Коренман И.М. Методы определения органических соединений. – М.: Химия, 1975. – 360 с.
6. Корякина Е.В., Белова С.В. // Клин. лаб. диагностика. – 2004. – №3. – С. 3-8.
7. Меньшиков В.В. Лабораторные методы исследования в клинике: Справочник / Под ред. В.В.Меньшикова. – М.: Медицина, 1987. – 368 с.
8. Нетюхайло Л.Г., Харченко С.В., Костенко А.Г. // Світ медицини та біол. – 2011. – №1. – С. 131-135.
9. Regas F.C., Ehrlich H.P. // J. Trauma. – 1992. – Vol. 32, №5. – P. 557-563.

#### **ВПЛИВ ГІПЕРОСМОЛЯРНОГО КОЛОЇДНОГО РОЗЧИНУ НАЕС-LX 5% НА ДИНАМІКУ ЗМІН РІВНЯ ЕНДОГЕННОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ ТА ЗАПАЛЕННЯ В ОРГАНІЗМІ ЩУРІВ У ГОСТРОМУ ПЕРІОДІ ОПІКОВОЇ ХВОРОБИ**

**А.О.Очеретнюк**

**Вінницький національний медичний університет ім. М.І.Пирогова**

*Ключові слова:* інфузійна терапія; опікова хвороба; ендогенна інтоксикація; НАЕС-LX 5%; лактопротеїн з сорбітолом; ізотонічний розчин

*Представлені результати досліджень маркерів рівня ендогенної інтоксикації та запалення у щурів після опіку шкіри II ступеня площею 21-23% поверхні тіла та їх корекції інфузійними розчинами НАЕС-LX 5%, лактопротеїну із сорбітолом та 0,9% розчину NaCl. За умов опікової хвороби на 3 добу зростає вміст молекул середньої маси та С-реактивного протеїну. У тварин, яким вводили досліджувані препарати, показники інтоксикації та запалення були статистично значуще меншими в порівнянні зі щурами, яким вводили ізотонічний розчин. Протекторна дія гіперосмолярного колоїдного розчину НАЕС-LX 5% та лактопротеїну з сорбітолом найбільш виразна на 7 добу експерименту. Препарати виявляють антиоксидантну, протизапальну дію та знижують рівень ендогенної інтоксикації, запальних реакцій та нитрозативного стресу в організмі щурів.*

#### **ВЛИЯНИЕ ГИПЕРОСМОЛЯРНОГО КОЛЛОИДНОГО РАСТВОРА НАЕС-LX-5% НА ДИНАМИКУ ИЗМЕНЕНИЙ УРОВНЯ ЭНДОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ И ВОСПАЛЕНИЯ В ОРГАНИЗМЕ КРЫС В ОСТРОЙ ПЕРИОД ОЖОГОВОЙ БОЛЕЗНИ**

**А.А.Очеретнюк**

**Вінницький національний медичний університет ім. Н.І.Пирогова**

*Ключевые слова:* инфузионная терапия; ожоговая болезнь; эссенциальная интоксикация; НАЕС-LX 5%; лактопротеин с сорбитолом; изотонический раствор

*Представлены результаты исследований уровня эссенциальной интоксикации у крыс после ожога кожи II степени площадью 21-23% поверхности тела и ее коррекции инфузионными растворами НАЕС-LX-5%, лактопротеина с сорбитолом и 0,9% раствора NaCl. В условиях ожоговой болезни на 3 сутки возрастает содержание молекул средней массы и С-реактивного протеина. У животных, которым вводили исследуемые препараты, показатели интоксикации и воспаления были статистически значимо меньше по сравнению с крысами, которым вводили изотонический раствор. Протекторное действие гиперосмолярного коллоидного раствора НАЕС-LX 5% и лактопротеина с сорбитолом более выражено на 7 сутки эксперимента. Препараты проявляют антиоксидантное, противовоспалительное действие и снижают уровень эссенциальной интоксикации, воспалительных реакций и нитрозативного стресса в организме крыс.*

Адреса для листування:  
21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56.  
Тел. (432) 54-56-30. E-mail: anechka\_azarova@mai.ru.  
Вінницький національний медичний університет  
ім. М.І.Пирогова

Надійшла до редакції 02.11.2015 р.