

Ф.И. Казаков, В.В. Кирковский

ВЫБОР ОПТИМАЛЬНОГО НЕПОКРЫТОГО УГОЛЬНОГО СОРБЕНТА ДЛЯ ИЗГОТОВЛЕНИЯ ОТЕЧЕСТВЕННЫХ МАССООБМЕННЫХ УСТРОЙСТВ ДЛЯ ГЕМОПЕРФУЗИИ ОДНОКРАТНОГО ПРИМЕНЕНИЯ УО «Белорусский государственный медицинский университет»

Изложены современные требования предъявляемые к непокрытым угольным гемосорбентам для массообменных устройств. Авторами раскрываются особенности выбора непокрытого угольного гемосорбента из промышленных коммерчески доступных образцов. Изучены показатели гемосовместимости, сорбционные характеристики гемосорбентов и делигандизирующие свойства по отношению к различным классам гидрофобных и гидрофильных метаболитов.

Ключевые слова: гемокарбоперфузия, гемосовместимость, гемосорбент, гемосорбция, массообменные устройства.

F.I. Kazakov, V.V. Kirkovsky

OPTIMAL CHOICE OF UNCOVERED COAL HEMOSORBENT FOR DOMESTIC MASSEXCHANGE DEVICE FOR HEMOCARBOPERFUSION

The modern required demands are stated for uncoated carbon hemosorbents for massexchange device. Peculiarities of selection of uncovered coal hemosorbent from industrial commercially available samples are showed by the authors. Hemocompatibility and hemosorbents sorption characteristics, purification features towards to different classes of hydrophobic and hydrophilic metabolites were studied.

Key words: hemocarbo-perfusion, hemocompatibility, a hemosorbent, hemosorption, massexchange device.

Гемокарбоперфузия – один из распространенных методов экстракорпоральной детоксикации организма, направленный на коррекцию гомеостаза за счет удаления из крови токсических продуктов различной молекулярной массы путем перфузии через колонку с непокрытым угольным сорбентом. Массообменники, содержащие различные виды угольных сорбентов, являются ключевым звеном экстракорпорального контура[7].

Механизм лечебного действия гемокарбоперфузии основан на выведении из организма пациентов токсических субстанций эндогенной и экзогенной природы, и что особенно важно – практически неограниченной молекулярной массы, имеющих гидрофобную структуру, которые не удаётся удалить с помощью мембранных технологий и плазмафереза[7,8]. Регистрация отчетливого позитивного клинического эффекта в постсорбционном периоде в ряде случаев, с одной стороны, и отсутствие каких либо достоверных изменений в концентрации определяемых в этом же периоде конечных метаболитов, с другой, было основанием для экспертов высказать предположение об особой роли гидрофобных соединений в формировании патогенеза ряда тяжелых заболеваний[6]. Объяснение этому факту было дано отечественными учеными и заключалось в том, что константа связывания гидрофобных соединений с непокрытыми угольными сорбентами на порядок превосходит константу связывания этих соединений с альбумином. Использование непокрытых угольных сорбентов позволяет достичь эффективной делигандизации белков плазмы и цитоплазматических мембран и удалить соединения, обладающие выраженными токсическими эффектами[6,8].

До распада СССР наша страна занимала лидирующее положение в мире в данном направлении практического здравоохранения. Процессы экономической дезинтеграции оказали негативное влияние и на развитие отрасли: выпуск изделий медицинской техники подобного типа, высокоэффективных непокрытых угольных гемосорбентов, был прекращен. Лишь спустя долгие годы, усилиями отдельных специалистов, удалось возобновить использование гемокарбоперфузии у больных, резистентных к традиционным методам лечения. В настоящее время в Республике Беларусь разработаны и выпускаются

одноразовые корпуса массообменных устройств для гемокарбоперфузии, удовлетворяющие современным клиническим запросам[5]. Тем не менее, по-прежнему не налажен промышленный выпуск этих, крайне необходимых в ургентной медицине, изделий медицинской техники, по причине отсутствия в нашей стране технологии серийного производства получения угольных гемосорбентов.

Цель и задачи исследования. Провести сравнительный анализ свойств и характеристик коммерчески доступных импортных аналогов угольных гемосорбентов с целью выбора оптимальных марок для последующего их использования в изготовлении отечественных образцов массообменного устройства для гемокарбоперфузии.

Материалы и методы

Для оценки эффективности и выбора оптимального из используемых в клинической практике наиболее общепризнанных и известных углеродных гемосорбентов, обладающих достаточной механической прочностью, развитой системой транспортных пор и сорбционной емкостью, исследованы коммерчески доступные промышленные образцы гемосорбента «ВНИИТУ» (Россия); гемосорбента гранулированного делигандизирующего «ГСГД» (Украина); гемосорбента «КАРБОН» (Украина); сферического карбонита «СКН» (Украина); гранулированного активированного торфяного угля «СКТ-6А» (Россия); гранулированного гемосорбента «ТЭТРА» (Россия). Критериями отбора в изучении гемосорбентов были избраны: 1. Физические свойства (форма, геометрия поверхности гранул сорбента, механическая прочность, пылеобразование) 2. Суммарный объем пор, сорбционная емкость сорбентов 3. Гемосовместимость по отношению к форменным элементам крови 4. Способность удалять из крови гидрофобные метаболиты, определяемая с помощью метода флуоресцентного зондирования[3,4]. Данные о физико-химических свойствах образцов взяты из литературных источников[1,2,9,10].

Для объективной оценки сорбционных свойств доступных образцов и с целью выбора оптимального угольного гемосорбента, был проведен ряд динамических стеновых экспериментов моделирования гемосорбции (ГС) по унифицированной методике с перфузией плазмы

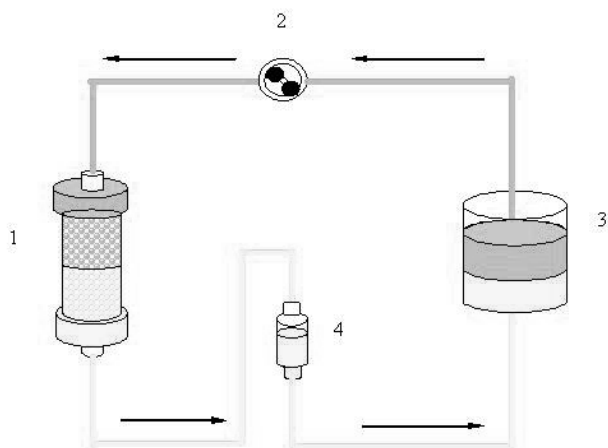


Рис. 1. Схема динамического стенового эксперимента плазмсорбции

1 – микроколонка с гемосорбентом; 2 – перистальтический насос; 3 – емкость с плазмой; 4 – воздушная ловушка

(ПП) крови больных циррозом печени (ЦП) через микромассообменник с различными сорбентами (рис.1). Условия эксперимента были максимально приближены к характеристикам ГС в реальных клинических условиях. Параметры стенового опыта: объем плазмы – 250,0 ± 5,0 мл; скорость перфузии – 12 ± 1 мл/мин; режим перфузии – рециркуляция; время сорбции – 60 ± 0,5 мин; объем сорбента в микроколонке – 15 мл; общий объем перфузированной плазмы – 720 ± 10 мл. Образцы плазмы отбирались до начала эксперимента, на 20 минуте сорбции до и после микроколонки из приводящей и отводящей магистралей и после окончания проведения опыта. В образцах определялись следующие показатели: общий белок, альбумин, билирубин и его фракции, средние молекулы (СМ), интенсивность флуоресценции зонда АНС – $I_{АНС}$, нормированная на единицу концентрации альбумина ($I_{АНС}/C_{АЛБ}$). С каждым образцом гемосорбента выполнено по 5 стеновых опытов.

Результаты и обсуждение

Выполнен сравнительный анализ образцов гемосорбентов «ВНИИТУ», «ГСГД», «КАРБОН», «СКН», «СКТ-6А», «ТЭТРА»; изучен их фракционно-дисперсный состав, сорбционные свойства по данным литературы и результатам предшествующего использования в комплексном лечении пациентов.

Как видно из данных таблицы 1, количество гранул диаметром более 0,5 мм более 90 %, характерно для всех гемосорбентов. Гранулы гемосорбента «ВНИИТУ» имеют размер от 0,5 до 1,0 мм, черного с металлическим блеском цвета, неправильной сферической формы, с гладким рельефом поверхности. Они обладают высокой механической прочностью и минимальным пылеобразованием.

Гемосорбент «ГСГД» представлен фракциями гранул от 0,4 до 0,6 мм правильной сферической формы с металлическим блеском, гладкой поверхностью, с выраженной механической прочностью, без пылеобразования.

Гранулы гемосорбента «КАРБОН» с неоднородным рельефом, шероховатой поверхностью, многогранные, с трещинами, сколами, в том числе и заостренными, за счет чего, при слабой прочности, склонны к сильному пылеобразованию. Тем не менее, при отмывке колонки с гемосорбентом 0,9 % раствором NaCl «на слив», происходит удаление мелких частиц и достижение прозрачности отмывочного раствора.

Гранулы гемосорбента «СКН» черного, с выраженным металлическим блеском, цвета, правильной сферической формы с гладкой поверхностью, повышенной прочностью, что предупреждает пылеобразование.

Гемосорбент «СКТ – 6А» представляет собой гранулы тусклого черного цвета цилиндрической формы диаметром 1,0 мм и длиной до 5,0 мм с неоднородной шероховатой поверхностью, невысокой прочностью. При заполнении гемосорбента 0,9 % раствором NaCl регистрируется интенсивное пылеобразование. Для достижения полного обеспыливания массообменника с этим гемосорбентом требуется длительная отмывка его физиологическим раствором.

Гемосорбент «ТЭТРА» представляет собой гранулы фракций различного размера черного цвета с неоднородной гладкой и шероховатой поверхностью, многогранные, с острыми сколами, слабой прочностью; при отмывке проявляет активные гидрофобные свойства: гранулы плохо смачиваются в растворе NaCl[1]. Учитывая то обстоятельство, что сырьем для этого сорбента является торфяной уголь СКТ-6А, модификация его поверхности с помощью тефлона обеспечивает ему выраженные гидрофобные свойства, что является причиной существенных трудностей при помещении его в корпуса массообменников, особенно имеющих небольшой объем заполнения.

Как видно из данных таблицы 1, из всех изученных гемосорбентов наибольшую сорбционную емкость по метиленовому синему имеет гемосорбент «КАРБОН», на 77 % превышая аналогичный показатель гемосорбента «ГСГД».

Потери форменных элементов крови не превышают 15 % у всех образцов гемосорбентов и все они имеют хорошую или удовлетворительную гемосовместимость. Согласно данным таблицы 1, максимальный прирост свободного гемоглобина отмечен у гемосорбента «СКТ-6А», у образца «КАРБОН» показатель послесорбционной тромбоцитопении не превышает 5 %. Этот образец гемосорбента имеет так же лучшую гемосовместимость (таблица 1).

Результаты исследования наиболее перспективных образцов по динамике изменений биохимических данных приведены в таблице 2. Перфузия плазмы через сорбент «ВНИИТУ» приводит к достоверному снижению уровня СМ на 42 %, при этом изменение содержания общего белка, альбумина и глобулинов не превышает 5 %.

Как показали исследования, ПП крови пациентов с ХПечН через сорбент «ГСГД» приводит к достоверному снижению уровня СМ на 38%. Отмечено достоверное снижение общего билирубина к окончанию перфузии на 17 %. При этом достоверного влияния на содержание в плазме общего белка и альбумина не отмечалось.

Следует отметить тот факт, что сорбционная емкость гемосорбента «КАРБОН» в отношении СМ достоверно превышает этот показатель у других исследованных образцов. Так после окончания сорбции отмечено снижение концентрации этого метаболита на 54 % от исходного уровня. Анализ данных по динамике изменений общего билирубина в течение ПП через сорбент «КАРБОН» указывает на процессы перераспределения этого метаболита между плазмой и сорбентом: момента насыщения сорбента билирубином не происходит до конца ПП. Элиминация билирубина из плазмы к окончанию ПП достоверно достигает 24 %.

Сорбция на гемосорбенте «ТЭТРА» приводит к достоверному снижению уровня СМ после ПП на 27 %, а уровень содержания общего билирубина, общего белка и альбумина изменялся при этом не достоверно.

Как уже отмечалось, одно из основных преимуществ методики гемокарбоперфузии состоит в способности непокрытых угольных гемосорбентов удалять из транспорт-

Таблица 1. Физико-химические свойства, сорбционные характеристики, показатели гемосовместимости углеродных гемосорбентов

Название гемосорбента	Количество гранул диаметром более 0,5 мм	Суммарный объем пор (ВЭТ), см ³ /г	Адсорбционная емкость по метиленовому синему, мг/г	Снижение числа лейкоцитов за одну ГС	Снижение числа тромбоцитов за одну ГС	Прирост гемоглобина за одну ГС
1. ВНИИТУ	> 90 %	0,39	142	< 10 %	< 15 %	< 6 %
2. ГСГД	> 90 %	1,78	78	< 15 %	< 10 %	< 10 %
3. КАРБОН	> 90 %	0,92	342	< 10 %	< 5 %	< 5 %
4. СКН	> 90 %	1,0	300	< 15 %	< 10 %	< 10 %
5. СКТ-6А	> 98 %	0,84	230	< 15 %	< 15 %	< 15 %
6. ТЭТРА	> 90 %	0,47	180	< 10 %	< 15 %	< 5 %

Таблица 2. Изменения биохимических показателей плазмы при проведении стендовых экспериментов

Гемосорбент	Показатели	О.белок, г/л	Альбумин, г/л	СМ, г/л	Билирубин, мкмоль/л
ВНИИТУ	До ПП	65,0±3,4	25,4±2,1	2,48±0,05	862±98
	После ПП	63,0±4,3	24,9±2,0	1,44±0,03*	820±92
ГСГД	До ПП	65,0±3,4	25,4±2,1	2,48±0,04	862±98
	После ПП	60,9±3,7	24,9±2,2	1,54±0,03*	718±95*
КАРБОН	До ПП	65,0±3,4	25,4±2,1	2,48±0,04	862±98
	После ПП	63,0±3,6	23,4±2,2	1,15±0,02*	656±93*
ТЭТРА	До ПП	65,0±3,4	25,4±2,1	2,48±0,05	862±98
	После ПП	63,0±3,8	24,5±2,4	1,81±0,03*	759±91

* отмечается достоверное изменение показателей, P< 0.05

Таблица 3. Изменение связывающей способности альбумина в процессе стендового опыта при использовании различных марок гемосорбентов

	до ПП	20' до колонки	20' после колонки	после ПП
ВНИИТУ				
I _{АНС*} (о.е.)	94,5±1,7	98,4±1,8	93,2±1,6	97,2±1,8
I _{АНС} / C _{ЧСА}	24,8±2,1	28,8±2,3	27,5±2,3	26,0±2,2
ГСГД				
I _{АНС*} (о.е.)	94,5±1,7	94,6±1,6	99,4±1,8*	100,6±1,8*
I _{АНС} / C _{ЧСА}	24,8±2,1	24,8±2,1	30,8±2,4*	26,9±2,2
КАРБОН				
I _{АНС*} (о.е.)	94,5±1,7	106,2±1,9*	108,0±1,9*	117,0±2,0 *
I _{АНС} / C _{ЧСА}	24,8±2,1	31,3±2,4*	31,9±2,4*	33,2±2,4*
ТЭТРА				
I _{АНС*} (о.е.)	94,5±1,7	91,4±1,6	96,6±1,8	91,8±1,6
I _{АНС} / C _{ЧСА}	24,8±2,1	26,0±2,2	26,7±2,2	25,0±2,1

* отмечается достоверное изменение показателей, P< 0.05

Оригинальные научные публикации

ных белков и мембран форменных элементов вещества не растворимые в воде. Делигандизация этих структур приводит к ряду позитивных эффектов, таких как улучшение реологических свойств крови, повышение чувствительности к лекарственным препаратам, иммунокоррекции и др. В этой связи, при оценке разрабатываемых устройств экстракорпоральной коррекции гомеостаза изучение связывающей способности основного транспортного белка – альбумина, имеет важное значение. Как видно из данных таблицы 3, делигандизирующие свойства ныне применяемых в клинике гемосорбентов минимальны.

Достоверное увеличение связывающей способности альбумина отмечается лишь при исследовании таких гемосорбентов как «ГСГД» и «КАРБОН». Перфузия плазмы через гемосорбент «ГСГД» приводит к достоверному увеличению интенсивности флуоресценции зонда АНС на 20 минуте после колонки на 5 % и к моменту окончания стенового опыта до 6 %. При этом следует отметить достоверное повышение интенсивности флуоресценции $I_{АНС}/C_{ЧА}$, рассчитанной на единицу концентрации альбумина на 20 минуте после колонки на 24 %, но к окончанию экспериментальной ПП этот показатель вернулся к исходному значению. Во время проведения ПП через гемосорбент «КАРБОН», по данным пиковой интенсивности зонда АНС, на 24 % достоверно увеличилась связывающая способность молекул альбумина. Интенсивность флуоресценции $I_{АНС}/C_{ЧА}$, рассчитанная на единицу концентрации альбумина, достоверно увеличивается на протяжении всей ПП: на 20 минуте до колонки на 27 %, после колонки на 28 % и до 34 % к моменту окончания ПП. Таким образом, происходит эффективное очищение поверхности белков от широкого спектра отрицательно заряженных гидрофобных метаболитов. Согласно полученным данным можно рекомендовать непокрытый угольный сорбент «КАРБОН» для проведения сорбции в любой стадии ЦП, т.к. он эффективно удаляет СМ, билирубин, повышает связывающую способность альбумина к анионным гидрофобным метаболитам, не изменяя его содержания в плазме, не приводит к неспецифической сорбции общего белка, проявляя при этом выраженный делигандизирующий характер.

Таким образом, проведенный сравнительный комплексный анализ полученных биохимических и флуоресцентных данных, данных литературы, показал, что гемосорбент «КАРБОН» обладает хорошей гемосовместимостью по отношению к форменным элементам крови, не оказывает отрицательного влияния на основные показатели белкового метаболизма, обладает наиболее выраженным сорбционным потенциалом и делигандизирующим действием по отношению к различным классам гидрофобных и гидрофильных метаболитов.

Литература

1. Алтынова, Е.В., Афанасьева О.И., Болдырев А.Г., Потокин И.Л., Соколов А.А., Афанасьева М.И., Покровский С.Н. Гемосорбенты для удаления атерогенных липопротеидов (invitro сравнение). СПб., 2006, с.3-14.
2. Беляков, Н.А., Королькова С.В. Адсорбенты.- СПб.- 1997.- 80 с.
3. Владимиров, Ю.А., Добрецов Г.Л. Флуоресцентные зонды в исследовании биологических мембран. М.: Наука, 1980. - 320 с.
4. Ивашина, О.В., Казаков Ф.И., Кирковский В.В., Королик А.К., Королик Е.В., Короленко Е.А., Тучковская А.В., Шабловский В.О. / Угольные гемосорбенты для экстракорпоральной очистки крови и оценка их эффективности методом флуоресцентного зондирования // «Вестник БГУ», 2009, №3, с.10-15.
5. Казаков, Ф.И., Кирковский В.В., Кирковский Л.В., Комар Г.Л. Корпус одноразового массообменника гемосорбционного / Патент на полезную модель №800 приоритет по дате от 27.05.2002 г. // заявлено №u20020154; Опубл.30.03.2003 // Официальный бюллетень // Национальный Центр Интеллектуальной Собственности.
6. Кирковский, В.В. Физико-химические методы коррекции гомеостаза: Монография. – М.: Издательский дом «Русский врач», 2012. – 215 с.
7. Лопухин, Ю.М., Молоденков М.Н. Гемосорбция: 2-е изд., перераб. и доп. – М.: Медицина, 1985. – 287 с.
8. Николаев, В.Г., Стрелко В.В. Гемосорбция на активированных углях. Киев., 1979. с. 285.
9. Степанов, А.А., Хватов В.Б., Царькова Т.Г., Гольдин М.М. Придание биосовместимости углеродным материалам с помощью электрополимеризации пиррола на их поверхности // Материалы научной практической конференции «Актуальные вопросы гемифереза, хирургической гемокоррекции и диализа», М. –2009. – с. 76.
10. Суrowикин, В.Ф., Пьянова Л.Г., Лузянина Л.С. Новые гемо – и энтеросорбенты на основе нанодисперсных углерод – углеродных материалов // Российский химический журнал, 2007, т.11, №5

Поступила 24.05.2013 г.