

Экспериментальная оценка токсических свойств инновационного отечественного инфузионного раствора для аминокислотного парентерального питания

Андреев С. В., Иванов Д. С., Гапанович В. Н., Мельнова Н. И.

*Республиканское унитарное предприятие «Научно-практический центр ЛОТИОС»,
г. Минск, Республика Беларусь*

Реферат. У большинства пациентов, находящихся в критическом состоянии, отмечаются проблемы с нутритивным статусом, вследствие чего успех проводимой терапии напрямую зависит от своевременности и эффективности применения клинического парентерального питания. Вместе с тем токсические поражения печени, ассоциированные с длительным внутривенным введением питательных веществ, прежде всего аминокислот, являются наиболее серьезным побочным эффектом продолжительной инфузионной нутритивной поддержки, ограничивающим ее использование.

Настоящая работа посвящена результатам комплексного медико-биологического исследования потенциальных неблагоприятных эффектов применения инновационного отечественного инфузионного раствора для аминокислотного парентерального питания, проведенного в широком диапазоне доз разрабатываемого препарата с акцентом его влияния на гепатобилиарную систему.

Полученные данные свидетельствуют о наличии у нового лекарственного средства благоприятного профиля гепатобезопасности и отсутствие системной токсичности.

Ключевые слова: парентеральное питание, аминокислоты, токсикология, гепатотоксичность, доклинические исследования.

Введение. Парентеральное питание (ПП) позволяет обеспечивать жизненно важную нутритивную поддержку организма в ситуациях, когда энтеральное поступление питательных веществ либо невозможно, либо не может удовлетворить потребности в необходимых нутриентах [1]. ПП во многом определяет эффективность лечебных мероприятий интенсивной терапии, снижает вероятность развития септических и инфекционных осложнений, продолжительность пребывания пациентов в ста-



ционаре и показатели летальности. В полной мере это относится и к аминокислотному ПП, так как аминокислоты играют важную роль в обеспечении нормального функционирования всех жизненно важных органов и систем организма [2].

Длительное ПП впервые в медицинскую практику было внедрено в конце 1960-х гг. доктором С. Дадриком, который благодаря своим исследованиям рассчитал необходимое для восполнения потребностей организма соотношение питательных веществ, а также разработал безопасную технику доставки через центральный венозный катетер. В 1967 г. после длительного амбулаторного лечения специальными инфузионными растворами первая в истории пациентка была выписана и отправлена на домашнее лечение, что открыло новую эру в области медицинских технологий осуществления нутритивной поддержки пациентов в критическом состоянии [3].

Первое сообщение о заболевании печени, ассоциированном с ПП (ЗПАПП), появилось в 1971 г. Доктор V. Peden описала тяжелый холестаз у младенца, который получал полное ПП в течение 2,5 месяцев до того, как скончался от печеночной недостаточности [4]. В настоящее время общепризнано, что сывороточные концентрации аминотрансфераз печени обычно повышаются до 1,5–3-кратного нормального уровня в течение первых 1–3 недель проведения ПП. Концентрация билирубина в сыворотке редко повышается в этот период, начиная увеличиваться лишь с 10 недель ПП и более.

Распространенность ЗПАПП, определяемых исследователями на основании наличия портальной гипертензии, портального фиброза или цирроза при биопсии, а также концентрации общего билирубина в сыворотке более 3,5 мг/дл в течение не менее месяца, асцита, печеночной энцефалопатии, составляет 26 % через 2 года, 39 % через 4 года, 50 % через 6 лет и 53 % через 8 лет использования ПП. Летальный исход в таком случае наступает в среднем через 10,8 месяцев после первоначального повышения концентрации билирубина в сыворотке выше уровня 3,6 мг/дл.

Так, A. Chan с соавт. представили данные, что у 22 % пациентов с кишечной недостаточностью, которым требовалось ПП длительностью более года, развивалось хроническое заболевание печени. Другие исследователи указывают на нарушения функции печени у 15–85 % пациентов, получавших длительное ПП.

Патофизиология ЗПАПП изучена недостаточно подробно и, по-видимому, причины их многофакторны. Потребность в питательных веществах при внутривенном пути поступления существенно отличается от таковой при пероральном потреблении, так как метаболизм нутриентов после портальной абсорбции отличается от наблюдающегося при внутривенном введении. При энтеральном питании после первого прохождения через печень остатки питательных веществ транспортируются в системный кровоток через правую часть сердца и в конечном итоге в почки, где одни нутриенты реабсорбируются, а другие выводятся из организма. Для питательных веществ, вводимых внутривенно, данный процесс отличается: в этом случае нутриенты обходят портальную циркуляцию и сначала транспортируются к сердцу, а затем в печень через печеночную артерию.

Метионин, серосодержащая аминокислота, которая является субстратом для синтеза холина, обычно метаболизируется до цистеина и других продуктов через печеночный путь транссульфурации. Исследования показали, что при внутривенном введении метионина здоровым добровольцам цистеин и холин в крови практически не обнаруживались. Данное обстоятельство также подтверждается тем, что карнитин и таурин, еще одни продукты пути печеночной транссульфурации, находились на низком уровне более чем у 90 % пациентов, которым требовалось длительное ПП. В итоге дефицит холина приводит к стеатозу печени из-за нарушения синтеза липопротеинов очень низкой плотности и накопления триглицеридов в печени.

Таким образом, несомненной является актуальность всестороннего изучения потенциальных токсических свойств разрабатываемых средств для аминокислотного ПП.

В соответствии с современными рекомендациями ESPEN (Европейское общество парентерального и энтерального питания), а также с учетом потребностей отечественного здравоохранения, специалистами РУП «Научно-практический центр ЛОТИОС» совместно с ГНУ «ИФОХ НАН Беларуси» и ОАО «Несвижский завод медицинских препаратов» осуществляется разработка инновационного инфузионного раствора для аминокислотного ПП (раствор А). Лекарственный препарат (ЛП) содержит в своем составе комплекс незаменимых и заменимых аминокислот и электролитов, включая необходимые для поддержания функции печени L-глутаминовую кислоту, таурин, а также натрия сукцинат.

Цель работы — экспериментальная оценка потенциальных токсических свойств (прежде всего, в отношении гепатобилиарной системы) разрабатываемого инфузионного раствора для аминокислотного парентерального питания на биологических тест-системах.



Материалы и методы. Исследования проведены на экспериментальных моделях субхронической токсичности и полной пищевой депривации на крысах, а также хронической токсичности и хронической кровопотери на фоне частичной пищевой депривации на кроликах.

Крысы были адаптированы/акклиматизированы к условиям содержания в течение 7 дней до начала экспериментов, кролики — 14 дней. Основные правила содержания животных и ухода за ними соответствовали требованиям Надлежащей лабораторной практики (GLP) [5], все рутинные манипуляции выполняли в соответствии со стандартными операционными процедурами отдела экспериментальной медицины и фармации РУП «Научно-практический центр ЛОТИОС».

Экспериментальные работы проведены с соблюдением принципов, отраженных в Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях [6].

Для изучения субхронической токсичности было сформировано 3 опытные серии крыс линии Wistar по 10 самцов и 10 самок в каждой, которым на протяжении 28 дней осуществляли внутривенное введение разрабатываемого ЛП в следующих дозах: суточная терапевтическая — 20 мл/кг массы тела; 1,5-кратная суточная терапевтическая — 30 мл/кг; высшая, учитывающая возможность развития токсических эффектов, — 50 мл/кг. Раствор А вводили в нативном виде внутривенно со скоростью 1 мл/мин с интервалом 24 ч. Также формировали серию интактных животных (контроль), которым никаких введений не осуществляли. Заготовку биологического материала осуществляли по окончании курса инфузий. Экспериментальная программа включала: регистрацию массы тела (еженедельно на протяжении периода введений) и внутренних органов крыс (после некропсии), биохимический анализ плазмы крови, оценку экскреторной функции печени, макроскопическое описание и взвешивание внутренних органов, гистологическое исследование.

Исследование фармакотерапевтической эффективности разрабатываемого ЛП на модели полной пищевой депривации выполнено на 35 крысах линии Wistar, подвергнутых в течение 15 суток полному голоданию без ограничения доступа к воде. С 6-х суток эксперимента животным на протяжении 10 суток осуществляли внутривенные инфузии 0,9%-й NaCl (серия 1, контрольная, $n = 10$), ЛП Вамин 14 (Fresenius Kabi, Австрия)+0,9%-й NaCl (серия 2, сравнения, $n = 10$) и раствор А+0,9%-й NaCl (серия 3, опытная, $n = 10$), трижды в день с интервалом 4 часа (10 мл/кг; суточная доза — 30 мл/кг, в том числе 20 мл/кг разрабатываемого ЛП или препарата сравнения). Общим контролем служила серия интактных животных ($n = 5$). Экспериментальная программа включала: регистрацию динамики массы тела животных на 1, 4, 8 и 10 сутки курса ведения ЛП; определение биохимических показателей плазмы крови.

Исследование хронической токсичности выполнено на 40 кроликах породы шиншилла обоего пола, рандомизировано разделенных на 3 опытные серии, которым внутривенно на протяжении 2 месяцев вводили раствор А в следующих дозах:

Так, 1-я опытная серия ($n = 6$) — 50 мл/кг массы тела; 2-я опытная серия ($n = 5$) — 20 мл/кг; 3-я опытная серия ($n = 5$) — 10 мл/кг. Также была сформирована серия интактных животных ($n = 5$), которым не осуществляли никаких введений. Экспериментальная программа включала: регистрацию динамики массы тела животных — еженедельно на протяжении курса инфузий. До начала исследования, через сутки и через месяц после окончания введений проводили биохимический анализ плазмы крови; осуществляли оценку экскреторной функции печени. После эвтаназии животных и их вскрытия проводили макроскопическое описание и взвешивание внутренних органов, а также гистологическое исследование органов интактных животных и животных 1-й опытной серии.

Исследование фармакотерапевтической эффективности разрабатываемого ЛП при хронической кровопотере на фоне частичной пищевой депривации выполнено на 18 кроликах породы шиншилла, равномерно распределенных на три серии (контрольную и две опытные), которым на протяжении 5 дней на фоне ограничения рациона питания по белку на 50 % (1/2 суточной нормы комбикорма), осуществляли кровопотерю равными долями с тем расчетом, чтобы в итоге величина гемоксфузии составила 50 % от ОЦК. На 6-е сутки кроликам 1-й и 2-й опытных серий при сохранении ограничения рациона питания по белку начинали введение референтного ЛП Вамин 14 (Fresenius Kabi, Австрия) и раствор А соответственно. Курс инфузий включал 6 ежедневных введений в суточной дозе 30 мл/кг (в том числе 20 мл/кг ЛП Вамин 14 или раствор А, 10 мл/кг — 0,9%-й раствор NaCl для инъекций). Животным контрольной серии никаких введений не проводили. Экспериментальная программа включала: контроль массы тела кроликов, а также регистрацию комплекса клинико-лабораторных показателей.

Массу тела экспериментальных животных определяли с помощью весов Scout Pro (Mettler-Toledo, Китай) — у крыс, ВНЭ-6 (Республика Беларусь) — у кроликов.

Биохимические показатели плазмы крови экспериментальных животных (содержание общего билирубина, уровень ферментов — аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспаратаминотрансферазы (АСТ) и щелочной фосфатазы) изучали с помощью автоматического биохимического анализатора Biosystems A25 (Испания) и диагностических наборов этого же производителя.

Оценку функционального состояния печени проводили в тесте бромсульфалеиновой (БСФ) пробы по скорости выведения красителя из сосудистого русла [7].

После эвтаназии животные подвергались патологоанатомическому вскрытию, тщательному осмотру грудной и брюшной полостей на наличие экссудата. Образцы печени фиксировали в 5%-м формалине для дальнейшего гистологического анализа.

Описательная статистика результатов исследования представлена в виде среднего значения и стандартной ошибки среднего значения ($M \pm m$). Статистический анализ проводили с помощью лицензионной программы GraphPad Prism 5.00. Вывод о различии средних значений делали, используя One-way ANOVA и критерий достоверно значимой разности Тьюки.

Результаты и их обсуждение. Исследование гепатотоксических свойств раствора А на крысах линии Wistar при 28-дневном курсовом введении и на фоне полной пищевой депривации. Анализ динамики массы тела крыс, регистрировавшейся при курсовом введении раствора А (рисунок 1), не выявил существенных отклонений от значений, полученных у животных соответствующих контрольных серий, что очевидно является свидетельством отсутствия системной токсичности разрабатываемого ЛП для парентерального питания.

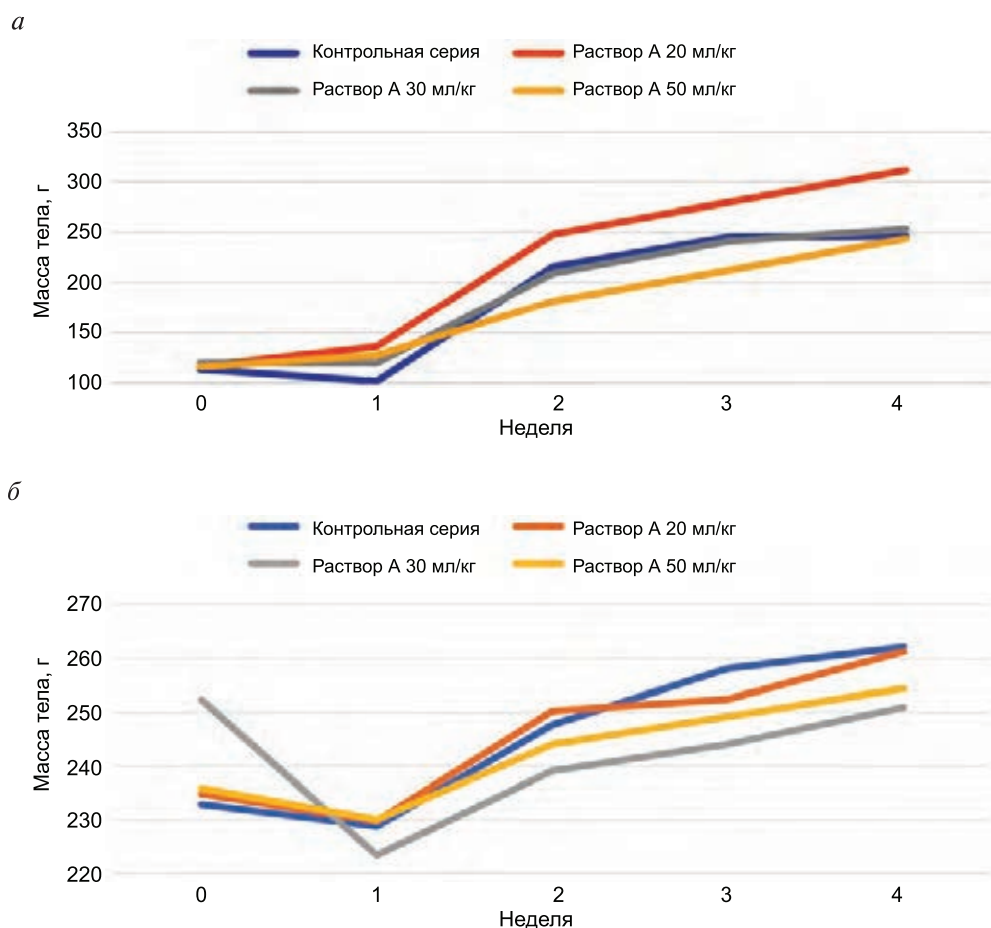


Рисунок 1 — Динамика средних значений массы тела крыс самцов (а) и самок (б) в течение 28-дневных инфузий разрабатываемого ЛП

При этом, как следует из данных, приведенных в таблице 1, длительное введение раствора А во всем диапазоне изученных доз не оказывало негативного влияния на значения относительной массы печени экспериментальных животных.

Таблица 1 — Усредненные значения относительной массы печени крыс при изучении субхронической токсичности раствора А

Экспериментальная серия	Относительная масса печени, %
Контрольная серия, самцы	3,31 ± 0,08
50 мл/кг, самцы	3,26 ± 0,06
30 мл/кг, самцы	3,17 ± 0,08
20 мл/кг, самцы	3,41 ± 0,05
Контрольная серия, самки	3,62 ± 0,09
50 мл/кг, самки	3,58 ± 0,07
30 мл/кг, самки	3,63 ± 0,08
20 мл/кг, самки	3,46 ± 0,06

Макроскопическое исследование печени крыс всех экспериментальных серий также не выявило различий по сравнению с контролем. Поверхность органа была гладкой, однородной, темно-красной окраски. Капсула — тонкая, прозрачная; ткань на разрезе — полнокровная, умеренно плотная, просветы сосудов и желчных протоков на разрезе были свободными.

При гистологическом исследовании принципиальных различий между состоянием ткани печени крыс всех опытных и соответствующих контрольных серий не наблюдалось. Границы печеночных долек хорошо дифференцированы, триады располагались по периферии с единичными клетками Купфера и Ито в строме, в центре определялись центральные вены. Сосуды печени животных опытных серий, как правило, были переполнены кровью, что очевидно обусловлено большим объемом вводимой жидкости. Также отмечалась пылевидная дистрофия отдельных гепатоцитов, расположенных преимущественно вокруг центральных вен. Балочное строение печени прослеживалось четко. У гепатоцитов животных контрольных серий (самцы, самки) патологических изменений не наблюдалось, однако синусоидные гемокапилляры были несколько расширены (рисунок 2).

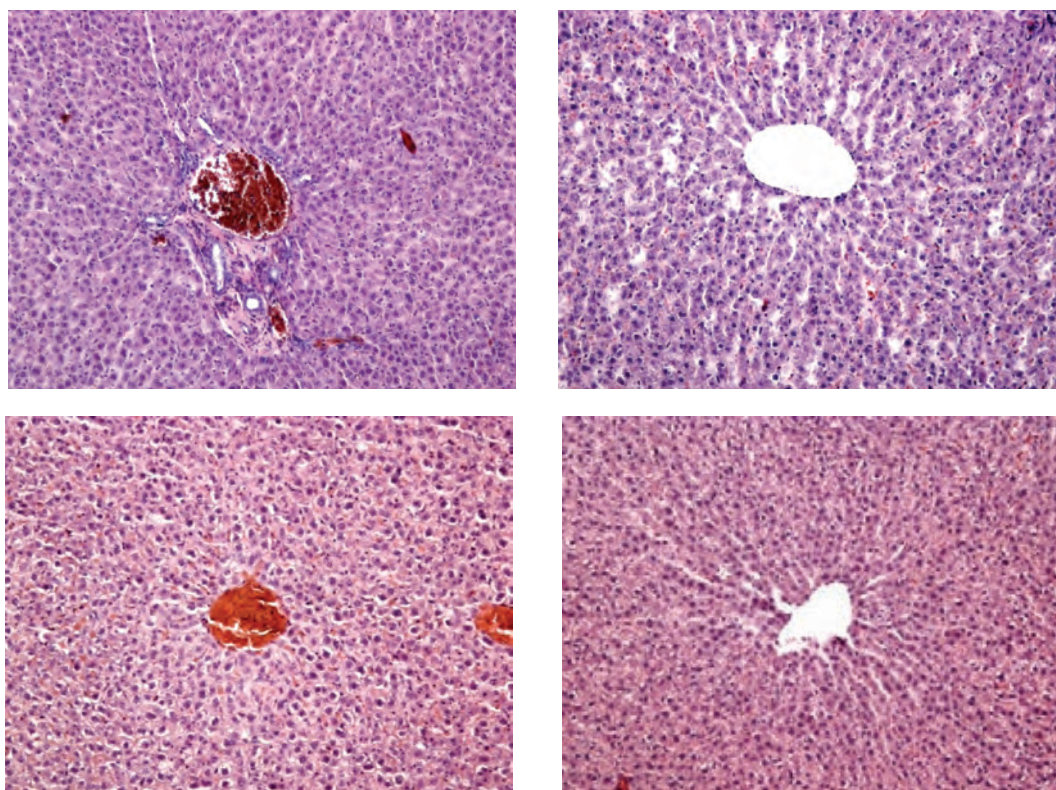


Рисунок 2 — Полнокровные сосудов триады печеночной дольки у самцов и самок крыс после 28-дневных инфузий разрабатываемого ЛП (слева). Центральная часть печеночной дольки крыс контрольных серий (справа) (окраска гематоксилином и эозином. Увеличение ×100)

Результаты биохимического исследования плазмы крови экспериментальных животных по показателям, характеризующим функциональное состояние печени, представлены в таблице 2.

Таблица 2 — Усредненные значения ряда биохимических показателей плазмы крови крыс при изучении субхронической токсичности раствора А

Экспериментальная серия	АЛТ, U/l	АСТ, U/l	Общий билирубин, мкмоль/л	Щелочная фосфатаза, U/l
Контрольная, самцы	87,7 ± 3,0	84,9 ± 3,5	63,4 ± 4,6	735,0 ± 42,9
50 мл/кг, самцы	97,3 ± 2,9	104,9 ± 5,4*	55,1 ± 4,2	856,4 ± 49,3
30 мл/кг, самцы	82,7 ± 4,2	100,7 ± 5,1*	63,5 ± 5,0	652,3 ± 47,8
20 мл/кг, самцы	97,7 ± 4,3	88,3 ± 2,8	61,7 ± 2,7	858,4 ± 45,8
Контрольная, самки	85,3 ± 2,5	84,9 ± 3,5	67,7 ± 3,5	456,3 ± 28,6
50 мл/кг, самки	79,5 ± 3,9	103,0 ± 3,6*	61,8 ± 5,5*	538,4 ± 18,4
30 мл/кг, самки	91,8 ± 5,6	108,1 ± 10,0*	60,8 ± 4,4*	419,0 ± 29,6
20 мл/кг, самки	93,6 ± 3,9	86,5 ± 2,5	41,4 ± 3,2*	592,1 ± 26,1*

* Достоверность различий по сравнению со значениями в соответствующей контрольной серии по критерию Тьюки при уровне значимости $p < 0,05$.

Зарегистрированное статистически значимое увеличение активности АСТ у самцов и самок при 28-дневных курсовых инфузиях раствора А в дозах 30 и 50 мл/кг хоть не носило дозозависимый характер, в целом не превышало по абсолютной величине 23,6–27,3 % от полученных в соответствующих контрольных сериях и с учетом отсутствия повышения уровня остальных отслеживаемых показателей, отражающих функциональное состояние печени, по всей видимости, могло быть обусловлено возросшими нагрузками на сердечно-сосудистую систему из-за значительных объемов вводимого ЛП.

Подтверждением данного предположения являются результаты, полученные в тесте бромсульфалеиновой пробы, — значения коэффициента ретенции красителя во всех сериях эксперимента были сопоставимы, отражая его эффективную экскрецию гепатоцитами, что свидетельствовало об отсутствии нарушений поглотительно-экскреторной функции печени.

Следует отметить, что введение раствора А экспериментальным животным в терапевтической дозировке на фоне полной пищевой депривации также не вызывало достоверных различий значений регистрируемых биохимических показателей по сравнению с полученными у животных в серии с инфузиями референтного ЛП Вамин 14, широко применяющегося в клинической практике (таблица 3).

Таблица 3 — Усредненные значения ряда биохимических показателей плазмы крови крыс при изучении фармакотерапевтических свойств раствора А на модели полной пищевой депривации

Экспериментальная серия	АЛТ, U/l	АСТ, U/l	Общий билирубин, мкмоль/л	Щелочная фосфатаза, U/l
Серия 2 (сравнения, Вамин 14)	49,4 ± 5,3	143,7 ± 10,4	39,6 ± 12,4	193,2 ± 30,2
Серия 3 (опытная, раствор А)	32,2 ± 5,3	107,7 ± 8,3	36,9 ± 7,6	179,5 ± 23,0

Не было выявлено различий и в значениях относительной массы печени между животными опытной серии и серии сравнения (таблица 4), что свидетельствует о проявлении разрабатываемым ЛП как фармакотерапевтических свойств в условиях моделируемой патологии на уровне известного аналога, так и об отсутствии у него токсических свойств.

Таблица 4 — Усредненные значения относительной массы печени крыс при изучении фармакотерапевтических свойств раствора А на модели полной пищевой депривации

Экспериментальная серия	Относительная масса печени, %
Серия 2 (сравнения, Вамин 14)	2,68 ± 0,29
Серия 3 (опытная, раствор А)	2,99 ± 0,10



Исследование гепатотоксических свойств раствора А на кроликах при курсовом введении в течение 2 месяцев, а также при хронической кровопотере на фоне частичного голодания. Анализ динамики массы тела кроликов, наблюдавшейся при исследовании хронической токсичности раствора А (рисунок 3), не выявил существенных отклонений от значений, полученных у животных релевантных контрольных серий в соответствующие временные интервалы исследования. При этом общая направленность тренда к постепенному нарастанию массы тела отмечалась во всех экспериментальных сериях.

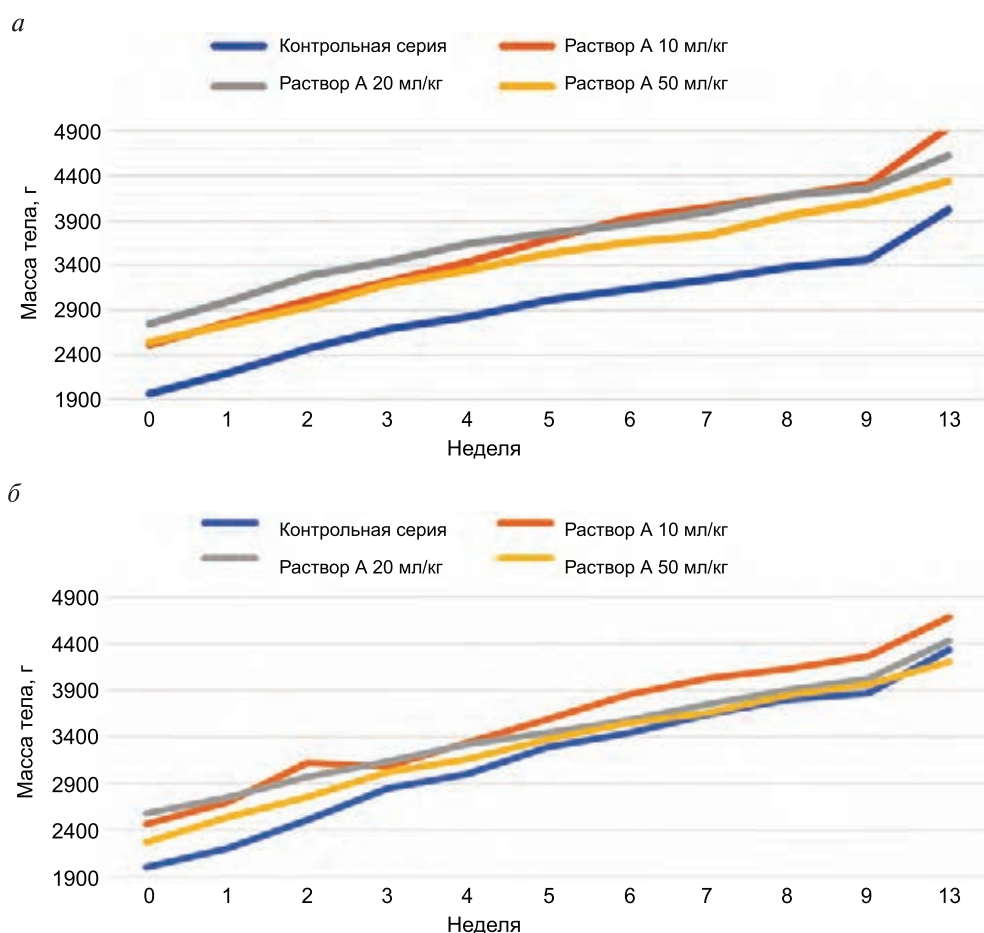


Рисунок 3 — Динамика средних значений массы тела кроликов самцов (а) и самок (б) в течение двух месяцев инфузий разрабатываемого ЛП

Не было зарегистрировано негативного влияния длительных инфузий разрабатываемого ЛП на относительную массу печени кроликов всех опытных серий (таблица 5), что в совокупности с данными, представленными на рисунке 3, свидетельствует об отсутствии у него способности проявлять токсические свойства как на уровне организма в целом, так и в отношении важнейших органов жизнеобеспечения.

Таблица 5 — Усредненные значения относительной массы печени кроликов при изучении хронической токсичности раствора А

Экспериментальная серия	Относительная масса печени, %
На первые сутки после окончания инфузий	
Контрольная серия, самцы	3,36 ± 0,22
50 мл/кг, самцы	4,00 ± 0,26
20 мл/кг, самцы	3,71 ± 0,35
10 мл/кг, самцы	3,46 ± 0,23

Окончание табл. 5

Экспериментальная серия	Относительная масса печени, %
Контрольная серия, самки	2,83 ± 0,21
50 мл/кг, самки	3,14 ± 0,23
20 мл/кг, самки	3,32 ± 0,28
10 мл/кг, самки	2,76 ± 0,04
Через один месяц после окончания инфузий	
Контрольная серия, самцы	3,36 ± 0,22
50 мл/кг, самцы	3,39 ± 0,49
20 мл/кг, самцы	3,30 ± 0,17
10 мл/кг, самцы	3,88 ± 0,11
Контрольная серия, самки	2,83 ± 0,21
50 мл/кг, самки	3,17 ± 0,30
20 мл/кг, самки	2,56 ± 1,09
10 мл/кг, самки	3,32 ± 0,15

Как при изучении субхронической токсичности раствора А на крысах, так и в данной модельной постановке при макроскопическом исследовании не было установлено негативного влияния разрабатываемого ЛП на состояние печени экспериментальных животных в сравнении с контролем.

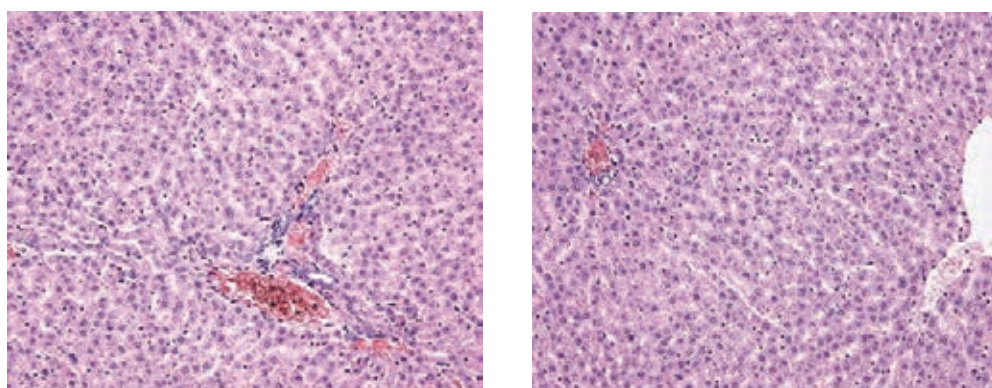


Рисунок 4 — Нормальное строение печени: слева — после 2 месяцев инфузий разрабатываемого ЛП; справа — контроль (окраска гематоксилином и эозином. Увеличение ×65)

При гистологическом исследовании было установлено, что внешний вид и строение печени кроликов обоего пола, которым раствор А вводили в наибольшей дозе, предполагающей возможность развития токсических эффектов, соответствовали норме. Границы печеночных долек хорошо дифференцировались, центрoлобулярные вены — широкие, были заполнены свободно лежащими или агрегированными эритроцитами, балки состояли из одного ряда гепатоцитов, формировавших радиарные структуры. Синусоиды долек — узкие, выстланы уплощенным слоем звездчатых ретикулоэндотелиоцитов. Гепатоциты — полигональной формы со слабозозинофильной ШИК-позитивной цитоплазмой, содержали центрально расположенные овальные ядра (рисунок 4).

Результаты биохимического исследования плазмы крови кроликов по показателям, характеризующим функциональное состояние печени, представлены в таблице 6.

Таблица 6 — Усредненные значения ряда биохимических показателей плазмы крови кроликов при изучении хронической токсичности раствора А

Экспериментальная серия	АЛТ, U/l	АСТ, U/l	Общий билирубин, мкмоль/л	Щелочная фосфатаза, U/l
На первые сутки после окончания курса инфузий				
Контрольная, самцы	44,5 ± 2,3	31,3 ± 1,3	30,0 ± 6,4	359,0 ± 32,7
50 мл/кг, самцы	38,7 ± 1,8	28,2 ± 2,9	42,3 ± 1,7*	283,7 ± 29,0

Окончание табл. 6

Экспериментальная серия	АЛТ, U/l	АСТ, U/l	Общий билирубин, мкмоль/л	Щелочная фосфатаза, U/l
20 мл/кг, самцы	43,6 ± 6,3	40,4 ± 3,1*	24,0 ± 0,6	323,4 ± 17,6
10 мл/кг, самцы	45,0 ± 6,1	22,8 ± 2,2	47,9 ± 2,2*	389,4 ± 23,2
Контрольная, самки	44,3 ± 2,1	26,5 ± 2,8	34,2 ± 13,1	300,3 ± 34,5
50 мл/кг, самки	46,5 ± 3,0	25,7 ± 2,0	37,4 ± 2,0	283,7 ± 26,7
20 мл/кг, самки	55,0 ± 6,8	26,6 ± 3,4	22,9 ± 4,2	335,6 ± 35,9
10 мл/кг, самки	51,6 ± 2,0	25,6 ± 2,3	56,6 ± 5,2	389,8 ± 19,9
Через один месяц после окончания курса инфузий				
Контрольная, самцы	32,3 ± 5,3	24,8 ± 7,5	41,7 ± 2,7	237,0 ± 31,0
50 мл/кг, самцы	41,7 ± 7,2	30,3 ± 3,5	37,9 ± 1,2	281,0 ± 14,7
20 мл/кг, самцы	42,0 ± 3,6	23,0 ± 2,0	43,3 ± 3,0	258,3 ± 38,4
10 мл/кг, самцы	42,7 ± 5,8	26,0 ± 2,6	47,9 ± 3,6	301,0 ± 9,5
Контрольная, самки	39,0 ± 1,9	15,0 ± 0,7	51,4 ± 1,7	312,3 ± 20,5
50 мл/кг, самки	52,7 ± 2,9	21,7 ± 0,9	33,0 ± 2,8*	266,0 ± 8,2
20 мл/кг, самки	61,3 ± 5,8*	21,3 ± 4,1	47,0 ± 6,4	223,3 ± 31,8
10 мл/кг, самки	48,7 ± 4,4	25,3 ± 3,2	51,0 ± 3,5	240,3 ± 14,6

* Достоверность различий по сравнению со значениями в соответствующей контрольной серии по критерию Тьюки при уровне значимости $p < 0,05$.

В плазме крови самцов отмечалось повышение активности АСТ и содержания общего билирубина по отношению к контролю на первые сутки после окончания 2-месячных инфузий разрабатываемого ЛП в дозах 20 мл/кг, 10 и 50 мл/кг соответственно, не выходявшее, тем не менее, за границы диапазона, принимаемого за условную норму для данного вида животных [8], и нивелировавшееся через месяц после завершения курса инфузий. У самок к окончанию периода наблюдений регистрировали ферментемию АЛТ (таблица 6). Следует отметить, что данное увеличение происходило в пределах диапазона нормальных значений [8], на фоне отсутствия негативных сдвигов других исследуемых биохимических показателей. Кроме этого, в тесте БСФ было установлено, что введение раствора А в исследуемом диапазоне доз не вызывало изменения скорости выведения красителя из крови как сразу после завершения 2 месяцев инфузий, так и спустя месяц наблюдений.

Проведение терапии разрабатываемым ЛП при хронической кровопотере на фоне частичного голодания не приводило к достоверным изменениям активности аминотрансфераз и щелочной фосфатазы относительно контрольных значений, однако отмечалось увеличение ($p < 0,05$) содержания общего билирубина в плазме крови в сравнении с серией животных, получавших референтный препарат Вамин 14 (таблица 7).

Таблица 7 — Усредненные значения ряда биохимических показателей плазмы крови крыс при изучении фармакотерапевтических свойств раствора А при хронической кровопотере на фоне частичного голодания

Экспериментальная серия	АЛТ, U/l	АСТ, U/l	Общий билирубин, мкмоль/л	Щелочная фосфатаза, U/l
1-я опытная (Вамин 14)	50,0 ± 5,1	37,7 ± 6,3	46,1 ± 5,3	320,7 ± 27,3
2-я опытная (р-р А)	46,0 ± 4,2	35,2 ± 4,2	62,4 ± 2,5*	332,8 ± 19,2

* Достоверность различий по сравнению со значениями в соответствующей контрольной серии по критерию Тьюки при уровне значимости $p < 0,05$.

Таблица 8 — Усредненные значения относительной массы печени кроликов при изучении фармакотерапевтических свойств раствора А при хронической кровопотере на фоне частичного голодания

Экспериментальная серия	Относительная масса печени, %
1-я опытная (Вамин 14)	3,07 ± 0,05
2-я опытная (р-р А)	3,47 ± 0,14



С учетом результатов, представленных в таблице 8, свидетельствующих об отсутствии достоверных отличий значений относительной массы печени кроликов по отношению к контролю, можно с высокой долей уверенности предположить, что зарегистрированная билирубинемия не была связана с негативным влиянием раствора А на гепатобилиарную систему.

Заключение. Результаты доклинического медико-биологического исследования подтверждают отсутствие у разрабатываемого отечественного инфузионного раствора для аминокислотного парентерального питания системной токсичности, а также, что немаловажно, доказывают, что он обладает благоприятным профилем гепатобезопасности. После завершения клинических испытаний и государственной регистрации в установленном порядке лекарственный препарат планируется к применению для восполнения или устранения дефицита протеинов, который возникает в результате повышенной потребности в них, повышенного их расхода или нарушений поступления алиментарного белка.

Литература

1. Mizock, B. A. Immunonutrition and critical illness: An update / B. A. Mizock // Nutrition. — 2010. — Vol. 26, № 7–8. — P. 701–707.
2. Parenteral nutrition safety consensus recommendations / P. Ayers [et al.] // J. of Parenteral and Enteral Nutrition. — 2014. — Vol. 38. — P. 296–333.
3. Long-term total parenteral nutrition with growth, development, and positive nitrogen balance / S. J. Dudrick [et al.] // Surgery. — 1968. — № 64. — P. 134–142.
4. Total parenteral nutrition / V. H. Penden [et al.] // J. Peds. — 1971. — Vol. 78. — P. 180–181.
5. Надлежащая лабораторная практика: ТКП 125-2008 (02040): введ. 28.03.2008. — Минск: М-во здравоохран. Респ. Беларусь, 2008. — 35 с.
6. Европейская конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (ETS № 123) / Совет Европы (Страсбург, 18 марта 1986 г.). — Страсбург, 1986. — 11 с.
7. The Sulfobromophtalein (BSP) Liver Function Test for Sheep / R. E. Tucker [et al.] // J. of Animal. Sci. — 2014. — Vol. 32, № 6. — P. 1190–1194.
8. Handbook of Laboratory Animal Science / ed. by J. Hau and S. J. Schapiro. — 3 ed. — 2011. — 758 p.

Experimental assessment of toxic properties of innovative domestic infusion solution for amino acid parenteral nutrition

Andreyev S. V., Ivanov D. S., Gapanovich V. N., Melnova N. I.

*Republican Unitary Enterprise «LOTIOS Scientific and Practical Center»,
Minsk, Republic of Belarus*

The majority of patients in critical condition have problems with the nutritional status, as a result of which the success of the therapy directly depends on the timeliness and effectiveness of the use of clinical parenteral nutrition. However, toxic liver damage associated with prolonged intravenous administration of nutrients, primarily amino acids, is the most serious side effect of prolonged infusion nutritional support, limiting its use.

This work is devoted to the results of a comprehensive medical and biological study of the potential adverse effects of the use of an innovative domestic infusion solution for amino acid parenteral nutrition, conducted in a wide range of doses of the developed drug with an emphasis on its effect on the hepatobiliary system.

The data obtained indicate that the new drug has a favorable hepatosafety profile and no systemic toxicity.

Keywords: parenteral nutrition, amino acids, toxicology, hepatotoxicity, preclinical studies.

Поступила 28.06.2021

