

ИССЛЕДОВАНИЕ ОБЩЕТОКСИЧЕСКИХ СВОЙСТВ НОВОГО ОТЕЧЕСТВЕННОГО ИНФУЗИОННОГО РАСТВОРА ДЛЯ АМИНОКИСЛОТНОГО ПАРЕНТЕРАЛЬНОГО ПИТАНИЯ ПРИ ОДНОКРАТНОМ И КУРСОВОМ ВВЕДЕНИИ

Иванов Д. С., Андреев С. В., Гапанович В. Н., Бердина Е. Л., Павленко В. С., Елина Т. С.

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

Реферат. В настоящее время в медицинской практике в качестве основы для обеспечения пациентов различного профиля нутриентами, в т. ч. аминокислотами, широко применяется парентеральное питание. Лекарственные средства (далее — ЛС) данной группы в Республике Беларусь до недавнего времени не выпускались, в связи с чем значительные потребности отечественного здравоохранения удовлетворялись только за счет закупки импортных препаратов. В рамках Государственной программы развития фармацевтической промышленности Республики Беларусь на 2016–2020 гг. отечественными учеными осуществляется разработка инновационного лекарственного средства в форме раствора для инфузий, в состав которого входят 16 незаменимых и заменимых аминокислот, а также оригинальная композиция ионов.

Ключевые слова: парентеральное питание, аминокислоты, доклинические исследования, LD₅₀, острая токсичность, субхроническая токсичность.

Введение. На сегодняшний день в соответствии с рекомендациями ESPEN (Европейское общество парентерального и энтерального питания), A.S.P.E.N. (Американское общество парентерального и энтерального питания), а также JSPEN (Японское общество парентерального и энтерального питания) и BAPEN (Британская ассоциация парентерального и энтерального питания) аминокислотное парентеральное питание (далее — ПП) показано в следующих клинических случаях: пред- и постоперационный период при поражениях пищевода, желудка и кишечника; непроходимость различных отделов пищеварительного тракта; тяжелые ожоги, травмы; обширные оперативные вмешательства на органах грудной клетки; острый панкреатит (в т. ч. панкреонекроз); гнойно-септические осложнения заболеваний органов желудочно-кишечного тракта (гнойный перитонит, абсцессы, высокие кишечные свищи); острая кишечная непроходимость; психическая анорексия и др. [1].

На протяжении последних 4-х десятилетий на основе результатов многочисленных исследований на экспериментальных животных и клинических наблюдений было достигнуто однозначное понимание того, что большинство критических состояний увеличивает потребности организма в протеинах, а также в отдельных аминокислотах [2]. Тем не менее, до недавнего времени в крупных клинических испытаниях основное внимание уделялось коррективке энергетического дисбаланса, при этом недостаточно учитывалась роль белковой составляющей ПП, что негативно отражалось на состоянии пациентов и результатах проводимой терапии [3].

Между тем, одним из критериев успешности проводимого ПП у пациентов в критических состояниях является поддержание белкового обмена на адекватном уровне с целью снижения гиперкатаболической реакции и обеспечения организма предшественниками для синтеза протеинов в тканях, характеризующихся высокой скоростью обмена веществ, что позволяет сохранить функциональную активность основных органов жизнеобеспечения и обеспечить их протекцию в период реконвалесценции [4]. Игнорирование данного подхода приводит к белково-энергетической недостаточности, отличительными особенностями которой являются генерализованная мышечная атрофия, а также потеря жировой ткани. При этом атрофия мышц представляет собой гораздо более серьезную проблему, чем потеря липидов, из-за высокой угрозы для жизни и практической необратимости. Как уже отмечалось выше, многие критические состояния существенно повышают потребности организма в количестве поступающего извне белка, в т. ч. по причине увеличения потерь аминокислот при экссудатах или свищах в ране, воспалительной диарее, почечной заместительной терапии, или патологического усиления катаболизма мышечных протеинов, как это происходит при высокодозной терапии глюкокортикоидами, или системном воспалительном ответе на сепсис и обширные травматические поражения [2, 4, 5].

Результаты исследований однозначно свидетельствуют о том, что инфузии аминокислотных растворов оказывают благоприятное влияние на положительный исход терапии пациентов с интенсивным катаболизмом белков, для которых отмечается высокий уровень экскреции азота в моче по отношению к мышечной массе. Быстрое пополнение пула аминокислот улучшает клинические результаты на ранней, потенциально наиболее лабильной фазе критического состояния, препятствуя стремительной атрофии мышц за счет снабжения тканей нутриентами, необходимыми для оптимального заживления ран и защиты организма [3].

Ключевое преимущество парентеральных аминокислотных растворов перед энтеральным питанием — немедленное поступление в организм существенного количества белкового субстрата без других источников калорий. Имеющиеся данные свидетельствуют о том, что внутривенное введение аминокислот

в дозах от 2,5 до 3,0 г/кг собственного веса является безопасным для использования в клинической практике, за исключением пациентов с рефрактерной гипотензией, сепсисом или тяжелыми заболеваниями печени [2, 3, 5]. Тем не менее, вопросам безопасности применения инфузионных растворов, содержащих аминокислоты, в т. ч. с точки зрения системной токсичности, уделяется первоочередное внимание при разработке и последующей регистрации.

Цель работы — исследование потенциальных токсических свойств разрабатываемого инновационного инфузионного раствора для аминокислотного парентерального питания в условиях однократного введения нарастающих дозировок с учетом видовой специфичности экспериментальных животных (острая токсичность), а также при 28-дневном курсовом введении (субхроническая токсичность).

Материалы и методы. Дизайн исследования острой токсичности разрабатываемого ЛС, сформированный в соответствии с требованиями [6], представлен в таблице 1.

Таблица 1. — Дизайн исследования острой токсичности разрабатываемого аминокислотного инфузионного раствора

Экспериментальная серия	Количество животных	Вводимая доза, мл/кг
Беспородные белые мыши, внутривенный путь введения		
Интактные животные	10	–
1-я опытная серия	10	50
2-я опытная серия	10	75
3-я опытная серия	10	100
4-я опытная серия	10	125
Крысы линии Wistar, внутривенный путь введения		
Интактные животные	10	–
1-я опытная серия	10	10
2-я опытная серия	10	20
3-я опытная серия	10	30
4-я опытная серия	10	40
Кролики линии Шиншилла, внутривенный путь введения		
Интактные животные	6	–
1-я опытная серия	6	100

В экспериментах использовали животных обоего пола, рандомизированно разделенных на серии (в качестве критерия рандомизации использовалась масса тела таким образом, чтобы индивидуальное значение не отклонялось от среднего значения в пределах одной серии более чем на 10 %). Начальные дозы выбирали исходя из максимально допустимого при каждом используемом способе введения объема раствора для соответствующего вида животного согласно [6, 7].

За животными проводили наблюдение в течение 14 сут, ежедневно отслеживая их общее состояние, а также возможные проявления интоксикации. Взвешивание осуществляли при рандомизации, а также через 7 и 14 сут после введения ЛС. После эвтаназии производили вскрытие экспериментальных животных, выделение основных органов жизнеобеспечения (тимус, сердце, легкие, печень, селезенка, почки), проводили их макроскопическое описание и взвешивание.

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 вводили разрабатываемый ЛС 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. Заготовку биологического материала осуществляли по окончании курса инфузий.

Аминокислотный инфузионный раствор вводили в нативном виде внутривенно со скоростью 1 мл/мин с интервалом 24 ч.

Также формировали серию интактных животных, которым никаких введений не осуществляли.

В ходе эксперимента регистрировали динамику массы тела крыс один раз в неделю на протяжении курса введения инфузионного раствора; используемое оборудование — весы Scout Pro (Mettler-Toledo, Китай). Ректальную температуру измеряли один раз в неделю через 1 ч после инфузии исследуемого ЛС термометрами «Microlife 16 F₁» (Тайвань).

Забор образцов крови осуществляли по окончании курсового введения ЛС из аксиллярной (подключичной) вены. В качестве антикоагулянтов использовали:

- для гематологического анализа — ЭДТА трикальциевая соль (пробирки Microvette, «Sarstedt», Германия);
- для биохимического и ионного анализа, а также определения осмоляльности плазмы — 0,4 % раствор гепарина (РУП «Белмедпрепараты», Республика Беларусь; 1 мг гепарина на 5 мл крови).

Биохимические показатели плазмы крови экспериментальных животных изучали с помощью автоматического биохимического анализатора «Biosystems A25» (Испания) и диагностических наборов этого же производителя.

Величину гематокрита, уровень гемоглобина, количество форменных элементов крови и ряд производных показателей исследовали с помощью анализатора крови модели «Celltac» («Nihon Kohden», Япония).

Определение осмоляльности плазмы проводили в соответствии с ГФ РБ II, 2.2.35. Используемое оборудование: миллиосмометр-криоскоп МТ-5 (НПП «Буревестник», Российская Федерация).

Ионный состав плазмы (Na^+ , K^+ , Cl^-) измеряли на приборе Easy Stat (Medica Corporation, США).

Образцы мочи заготавливали, высаживая животных в клетки с мочеприемниками на 2 ч. Используемое аналитическое оборудование: экспресс-анализатор мочи АМ 2100 («Солар», Республика Беларусь), тест-полоски Уриполиан-ХН (производства ООО «Биосенсор АН», Российская Федерация).

Отслеживали динамику следующих электрофизиологических показателей: ударный объем крови (УОК), минутный объем крови (МОК), частота сердечных сокращений (ЧСС), степень насыщения крови кислородом (оксигенация; SpO_2) и частота дыхательных движений (ЧДД), которые регистрировали с помощью аппарата для электрофизиологических исследований на мелких лабораторных животных MP 150WSW-G (Biorac System Inc., США).

Оценку функционального состояния почек проводили при помощи унифицированного теста с красителем феноловым красным (ФК), печени – с красителем бромсульфалеином (БСФ).

После эвтаназии, вскрытия и выделения органов из полости тела проводили их макроскопическое описание и взвешивание на весах Scout Pro (Mettler-Toledo, Китай).

Статистический анализ результатов исследования проводился с использованием параметрических и непараметрических методов с помощью лицензионной программы GraphPad Prism 5.00.288. Вывод о различии средних значений делали, используя One-way ANOVA и критерий достоверно значимой разности Тьюки — при параметрическом распределении данных, а также критерий Краскела–Уоллиса — при непараметрическом соответственно. Определение LD_{50} проведено по методу Литчфилда и Уилкоксона.

Основные правила содержания животных и ухода за ними соответствовали [6], все рутинные манипуляции выполнялись в соответствии со стандартными операционными процедурами отдела экспериментальной медицины и фармации республиканского унитарного предприятия «Научно-практический центр ЛОТИОС».

Исследования проведены с соблюдением принципов, отраженных в Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях.

Результаты и их обсуждение.

Исследование острой токсичности

Нами не было зафиксировано гибели животных всех используемых видов ни в одной из опытных серий (таблица 1), в связи с чем рассчитать LD_{50} разрабатываемого аминокислотного инфузионного раствора не представлялось возможным.

Поведенческая активность животных всех опытных серий в первые 4 ч после введения исследуемого ЛС оставалась на уровне значений, регистрируемых в серии интактного контроля. При различных путях введения инфузионного раствора во всем диапазоне изученных доз (таблица 1) признаки интоксикации в 1-е сут после введения зарегистрированы не были, а также в течение всего последующего периода наблюдений (14 сут). Животные оставались активными, внешние признаки нарушения их общего состояния отсутствовали, шерстный покров сохранялся блестящим, участков облысения и выделений из естественных отверстий отмечено не было.

Однократное внутривенное введение разрабатываемого ЛС самцам и самкам лабораторных животных в исследуемых дозах не вызывало существенных изменений массы тела относительно значений, полученных в соответствующий временной период у интактных животных.

При вскрытии и осмотре грудной и брюшной полостей выпота не обнаруживали. По результатам макроскопического исследования основных органов жизнеобеспечения (тимус, сердце, легкие, печень, селезенка, почки) существенных различий между опытными сериями каждого из исследуемых видов животных и соответствующей серией интактного контроля установлено не было. Статистический анализ относительной массы органов через 14 сут после введения разрабатываемого ЛС во всем диапазоне исследованных доз не выявил достоверных различий между значениями, полученными во всех опытных сериях относительно интактных животных.

Результаты, полученные в ходе изучения острой токсичности, позволяют отнести разрабатываемый аминокислотный инфузионный раствор к VI классу токсичности (относительно безвредно) согласно модифицированной классификации Организации экономического содействия и развития — OECD [6].

Исследование субхронической токсичности

Внутривенное введение разрабатываемого ЛС не вызывало гибели животных и признаков интоксикации на протяжении всего периода введения во всем диапазоне исследованных доз. Крысы получали стандартизированный корм в соответствии с нормой для данного вида животных в зависимости от их массы тела и съедали его полностью. Суточное потребление воды было примерно равным и находилось в диапазоне 16–18 мл на животное. Статистический анализ динамики массы тела крыс самцов, а также ее прироста (%) в течение всего периода внутривенного введения разрабатываемого ЛС не выявил существенных отклонений от значений, полученных у интактных животных. Статистически значимое ($p < 0,05$) отставание по приросту массы тела крыс самок регистрировали в течение всего периода введения исследуемого инфузионного раствора в дозе 30 мл/кг массы тела. При этом инфузии в дозе, предполагающей развитие токсического эффекта (50 мл/кг), не вызывали негативного влияния на значения данного показателя.

Средние значения диапазона ректальной температуры крыс в течение исследования варьировали от $38,3 \pm 0,1$ до $38,6 \pm 0,1$ °C у самцов и от $38,4 \pm 0,1$ до $39,0 \pm 0,1$ °C — у самок. Повышение или, наоборот, снижение значений температуры тела не носило системного характера. Регистрируемые колебания не зависели от вводимой дозы инфузионного раствора и находились в пределах физиологической нормы для данного вида животных.

Значения исследуемых гематологических показателей крови по сериям эксперимента представлены в таблице 2.

Таблица 2. — Гематологические показатели крови крыс при изучении субхронической токсичности разрабатываемого аминокислотного инфузионного раствора

Исследуемые показатели	Интактные животные	1-я опытная серия (50 мл/кг)	2-я опытная серия (30 мл/кг)	3-я опытная серия (20 мл/кг)
Самцы				
Эритроциты, $10^{12}/л$	$8,1 \pm 0,2$	$8,5 \pm 0,1$	$8,4 \pm 0,2$	$8,5 \pm 0,2$
Гемоглобин, г/л	$142,1 \pm 1,5$	$135,5 \pm 1,8$	$147,7 \pm 3,0$	$142,1 \pm 2,1$
Гематокрит, %	$43,1 \pm 0,7$	$43,5 \pm 0,5$	$44,8 \pm 1,0$	$44,6 \pm 0,7$
MCV, фл	$53,1 \pm 0,7$	$51,2 \pm 0,6$	$53,4 \pm 0,6$	$52,4 \pm 0,4$
МСН, пг	$17,5 \pm 0,3$	$15,9 \pm 0,3^*$	$17,6 \pm 0,3$	$16,7 \pm 0,2$
МСНС, г/л	$330,0 \pm 2,6$	$311,3 \pm 2,4^*$	$329,6 \pm 2,7$	$318,6 \pm 2,2^*$
Тромбоциты, $10^9/л$	$723,7 \pm 26,9$	$803,8 \pm 31,2$	$730,7 \pm 14,0$	$764,6 \pm 31,0$
MPV, фл	$3,2 \pm 0,7$	$2,3 \pm 0,1$	$2,5 \pm 0,1$	$2,4 \pm 0,1$
Лейкоциты, $10^9/л$	$9,3 \pm 0,6$	$8,8 \pm 0,6$	$7,7 \pm 0,8$	$8,3 \pm 0,6$
Лимфоциты, %	$67,0 \pm 4,1$	$70,0 \pm 2,1$	$59,7 \pm 3,0$	$77,4 \pm 2,9$
Моноциты, %	$13,5 \pm 1,1$	$13,0 \pm 1,4$	$15,8 \pm 2,2$	$10,2 \pm 0,3$
Гранулоциты, %	$19,6 \pm 3,8$	$17,0 \pm 2,6$	$24,5 \pm 4,3$	$12,4 \pm 2,8$
Самки				
Эритроциты, $10^{12}/л$	$7,6 \pm 0,3$	$6,8 \pm 0,1^*$	$7,2 \pm 0,1^*$	$7,7 \pm 0,1$
Гемоглобин, г/л	$139,7 \pm 4,7$	$119,4 \pm 3,0^*$	$133,4 \pm 1,0$	$133,9 \pm 1,4$
Гематокрит, %	$41,8 \pm 1,2$	$38,8 \pm 1,0^*$	$40,1 \pm 0,4$	$42,2 \pm 0,3$
MCV, фл	$54,9 \pm 0,4$	$56,4 \pm 0,9$	$56,0 \pm 0,5$	$54,6 \pm 0,3$
МСН, пг	$18,2 \pm 0,1$	$17,4 \pm 0,4^*$	$18,7 \pm 0,2$	$17,3 \pm 0,1^*$
МСНС, г/л	$331,1 \pm 2,3$	$308,1 \pm 2,1^*$	$332,6 \pm 2,4$	$317,6 \pm 2,4^*$
Тромбоциты, $10^9/л$	$804,9 \pm 10,5$	$576,3 \pm 19,3^*$	$728,9 \pm 14,0^*$	$746,8 \pm 24,9^*$
MPV, фл	$5,6 \pm 0,1$	$2,5 \pm 0,1$	$2,4 \pm 0,1$	$2,5 \pm 0,1$
Лейкоциты, $10^9/л$	$10,1 \pm 1,2$	$10,2 \pm 0,5$	$7,9 \pm 0,8$	$9,0 \pm 0,6$
Лимфоциты, %	$63,0 \pm 5,6$	$71,2 \pm 2,3$	$71,7 \pm 3,1$	$74,4 \pm 2,2$
Моноциты, %	$13,3 \pm 1,0$	$14,3 \pm 1,1$	$15,2 \pm 1,3$	$13,0 \pm 0,6$
Гранулоциты, %	$23,7 \pm 6,0$	$14,5 \pm 2,8$	$13,1 \pm 2,4$	$12,6 \pm 1,9$
* — достоверность различий по сравнению со значениями в серии интактных животных по критерию Тьюки (ANOVA) при уровне значимости $p < 0,05$.				

Установлено, что курсовое внутривенное введение самцам крыс разрабатываемого ЛС в исследуемых дозах не оказывало негативного влияния на большинство регистрируемых показателей периферической крови экспериментальных животных.

Выявлено достоверное ($p < 0,05$) уменьшение среднего содержания и средней концентрации гемоглобина в эритроците в крови самцов крыс 1-й опытной серии в сравнении со значениями данных показателей в крови интактных животных.

У самок крыс 1 и 2-й опытных серий на 1 сут после окончания курса введения исследуемого инфузионного раствора регистрировали статистически достоверное уменьшение количества эритроцитов (на 10,5 и 5,3 % соответственно); кроме того, в 1-й опытной серии отмечалось снижение содержания гемоглобина на 14,5 % ($p < 0,05$) и уровня гематокрита — на 7,2 % ($p < 0,05$) относительно значений, полученных у интактных животных в аналогичный временной период. Также, как и у самцов, в крови самок 1 и 2-й опытных серий наблюдалось статистически достоверное уменьшение среднего содержания и средней концентрации гемоглобина в эритроците.

Кроме того, у самок всех опытных серий на 1-е сут после окончания курса введения исследуемого ЛС выявлено уменьшение ($p < 0,05$) количества тромбоцитов. Эти изменения хотя и носили статистически достоверный характер, не выходили на пределы физиологической нормы для данного вида животных и скорее всего, были связаны (как и для остальных количественных показателей «красной» крови самок 1-й опытной серии) с введением больших объемов разрабатываемого аминокислотного инфузионного раствора экспериментальным животным в течение 28 дней.

Значения исследуемых биохимических показателей крови крыс по сериям эксперимента представлены в таблице 3.

Таблица 3. — Биохимические показатели плазмы крови крыс при изучении субхронической токсичности разрабатываемого аминокислотного инфузионного раствора

Исследуемые показатели	Интактные животные	1-я опытная серия (50 мл/кг)	2-я опытная серия (30 мл/кг)	3-я опытная серия (20 мл/кг)
Самцы				
Общий белок, г/л	57,6±1,5	64,8±1,0*	58,3±1,3	53,5±1,6
Альбумин, г/л	31,8±0,8	32,9±0,9	28,5±1,1	27,4±1,5*
Мочевина, моль/л	5,2±0,1	6,2±0,1*	5,2±0,3	5,5±0,2
Креатинин, мкмоль/л	43,2±1,5	45,8±1,8	48,9±2,3	45,1±2,4
ЛДГ, У/л	450,0±28,5	601,0±44,7	607,4±34,9	486,0±55,0
АЛТ, У/л	87,7±3,0	97,3±2,9	82,7±4,2	97,7±4,3
АСТ, У/л	84,9±3,5	104,9±5,4*	100,7±5,1*	88,3±2,8
Глюкоза, ммоль/л	10,9±0,5	9,4±0,4*	9,2±0,5*	9,7±0,3*
Общий билирубин, мкмоль/л	63,4±4,6	55,1±4,2	63,5±5,0	61,7±2,7
Щелочная фосфатаза, У/л	735,0±42,9	856,4±49,3	652,3±47,8	858,4±45,8
Холестерин, ммоль/л	1,54±0,04	1,56±0,03	1,36±0,06*	1,31±0,05*
Самки				
Общий белок, г/л	67,4±1,8	65,1±1,4	64,6±2,2	59,8±0,6*
Альбумин, г/л	32,6±1,1	33,3±1,2	31,3±1,2	31,7±0,6
Мочевина, моль/л	5,3±0,3	6,4±0,2*	5,7±0,4	4,6±0,1*
Креатинин, мкмоль/л	49,6±1,3	51,3±1,1	42,9±5,1	43,0±1,9
ЛДГ, У/л	503,7±42,8	669,1±40,8	600,6±50,6	594,5±41,7
АЛТ, У/л	85,3±2,5	79,5±3,9	91,8±5,6	93,6±3,9
АСТ, У/л	84,9±3,2	103,0±3,6	108,1±10,0	86,5±2,5
Глюкоза, ммоль/л	10,8±0,4	10,0±0,3	9,4±0,5*	8,6±0,2*
Общий билирубин, мкмоль/л	67,7±3,5	61,8±5,5*	60,8±4,4*	41,4±3,2*
Щелочная фосфатаза, У/л	456,3±28,6	538,4±18,4	419,0±29,6	592,1±26,1*
Холестерин, ммоль/л	1,96±0,08	1,57±0,05	1,45±0,07*	1,39±0,06*

* — достоверность различий по сравнению со значениями в серии интактных животных по критерию Тьюки (ANOVA) при уровне значимости $p < 0,05$.

Были зафиксированы статистически достоверные изменения значений ряда исследуемых биохимических показателей плазмы крови крыс относительно зарегистрированных в серии интактных животных. Тем не менее, большинство из отмечавшихся колебаний не выходило за пределы диапазона, принимаемого за физиологическую норму для данного вида животных.

Что касается наблюдавшихся изменений концентрации глюкозы, то для данного показателя характерен достаточно широкий диапазон приемлемых значений. По всей видимости, в данной экспериментальной постановке зарегистрированные колебания не имели диагностической значимости.

Таким образом, анализ биохимических показателей плазмы крови крыс позволяет сделать заключение об отсутствии токсических эффектов, проявление которых могло быть обусловлено длительным введением разрабатываемого ЛС. В частности не наблюдалась азотемия, являющаяся индикатором аминокислотной токсичности.

Чрезвычайно важным в данном исследовании было изучение влияния разрабатываемого ЛС на осмоляльность плазмы животных (таблица 4), т. к. разрабатываемый инфузионный раствор является гиперосмоляльным (850–950 мОсмоль/кг в соответствии с проектом ФСП).

Таблица 4. — Ионный состав и осмоляльность плазмы крыс при изучении субхронической токсичности разрабатываемого аминокислотного инфузионного раствора

Исследуемые показатели	Интактные животные	1-я опытная серия (50 мл/кг)	2-я опытная серия (30 мл/кг)	3-я опытная серия (20 мл/кг)
Самцы				
Натрий, ммоль/л	154,9±3,3	146,1±2,7	152,2±1,9	147,4±1,2
Калий, ммоль/л	5,5±0,3	4,8±0,1	5,9±0,4	4,8±0,1
Хлор, ммоль/л	108,7±2,8	104,7±2,2	103,7±0,4	101,4±0,7*
Осмоляльность, мОсмоль/кг	309±4	286±6	286±11	299±6
Самки				
Натрий, ммоль/л	149,0±1,5	141,5±1,4*	150,6±3,9	149,3±0,8
Калий, ммоль/л	5,9±0,1	4,0±0,1*	4,7±0,3*	4,1±0,1*
Хлор, ммоль/л	102,4±1,5	98,7±0,9	106,4±2,9	101,5±0,8
Осмоляльность, мОсмоль/кг	297±7	284±7	308±8	299±4
* — достоверность различий по сравнению со значениями в серии интактных животных по критерию Тьюки (ANOVA) при уровне значимости p<0,05.				

Установлено, что внутривенное введение исследуемого ЛС даже в наибольшей из изученных доз (50 мл/кг) не вызывало статистически достоверных изменений значений данного показателя у самцов и самок крыс всех опытных серий.

Зарегистрированные колебания значений содержания ионов натрия и калия в плазме крыс опытных серий находились в пределах физиологической нормы для данного вида животных (139–155 и 4,0–5,5 ммоль/л соответственно). Концентрация ионов хлора у крыс обоего пола не претерпевала существенных изменений при введении разрабатываемого ЛС во всем диапазоне доз и находилась в пределах значений условной нормы.

Результаты изучения показателей, характеризующих функциональное состояние сердечно-сосудистой системы крыс по сериям эксперимента, представлены в таблице 5.

Курсовое введение разрабатываемого ЛС самцам крыс в различных дозах не оказывало влияния на регистрируемые показатели, однако было установлено, что у самок 1 и 2-й опытной серий происходило статистически достоверное снижение минутного объема крови по сравнению со значениями, полученными у интактных животных, на фоне уменьшения частоты сердечных сокращений.

В образцах мочи крыс всех опытных серий отсутствовали эритроциты, уробилиноген, билирубин, кетоны, глюкоза, белок. Не было выявлено существенных отклонений показателей pH и плотности мочи у животных опытных серий обоего пола от физиологической нормы, а также по сравнению со значениями, полученными у интактных животных.

Внутривенное введение исследуемого ЛС в течение 28 сут не приводило к статистически достоверному снижению выведения ФК у самок и самцов крыс и задержке БСФ в сосудистом русле. Значения коэффициента ретенции БСФ во всех сериях эксперимента были сопоставимы, отражая эффективную экскрецию красителя гепатоцитами, что свидетельствовало об отсутствии нарушений поглотительно-экскреторной функции печени.

Таблица 5. — Значения показателей, характеризующих функциональное состояние сердечно-сосудистой системы крыс при изучении субхронической токсичности разрабатываемого аминокислотного инфузионного раствора

Серии эксперимента	ЧДД (кол-во дых. движений/мин)	ЧСС, уд./мин	УОК, мл	МОК, мл/мин	SpO ₂ , %
Самцы					
Интактные животные	75,11±1,27	391,20±18,84	0,35±0,03	138,60±16,13	72,18±4,60
1 опытная (доза 50 мл/кг)	74,31±3,71	402,00±40,77	0,26±0,02	106,10±12,38	67,81±3,97
2 опытная (доза 30 мл/кг)	75,70±3,14	395,50±31,66	0,33±0,05	128,40±20,18	70,94±6,79
Самки					
Интактные животные	78,76±8,34	455,70±33,10	0,30±0,04	131,9±19,93	79,20±7,65
1 опытная (доза 50 мл/кг)	74,06±5,65	334,80±26,10*	0,20±0,03	70,03±5,68*	69,11±6,54
2 опытная (доза 30 мл/кг)	73,31±6,54	360,00±11,14*	0,20±0,04	73,32±14,06*	71,31±10,53

* — достоверность различий по сравнению со значениями в серии интактных животных по критерию Тьюки (ANOVA) при уровне значимости p<0,05

По результатам макроскопического исследования изучаемых органов (тимус, сердце, легкие, печень, селезенка, почки, желудок, надпочечники, головной мозг) существенных различий между опытными сериями не установлено. Внутривенное курсовое введение разрабатываемого ЛС во всем диапазоне используемых доз не вызвало статистически значимых изменений весовых коэффициентов основных органов жизнеобеспечения самцов и самок крыс по сравнению со значениями соответствующих показателей в серии интактных животных.

Заключение. В результате исследований, проведенных в строгом соответствии с нормативными требованиями, установлено отсутствие у разрабатываемого отечественного инфузионного раствора на основе аминокислот токсических свойств в условиях однократного и курсового введения, что позволяет рассматривать его в качестве потенциальной альтернативы используемым в настоящее время зарубежным ЛС для аминокислотного парентерального клинического питания.

Литература

1. Unger, N. Stability and assessment of amino acids in parenteral nutrition solutions / N. Unger, U. Holzgrabe // J. Pharm. Biomed. Anal. — 2018. — Vol. 147. — P. 125–139.
2. Hoffer, L. J. Appropriate protein provision in critical illness: A systematic and narrative review / L. J. Hoffer, B. R. Bistrian // Am. J. Clin. Nutr. — 2012. — Vol. 96, № 3. — P. 591–600.
3. Hoffer, L. J. Protein requirement in critical illness / L. J. Hoffer // Appl. Physiol. Nutr. Metab. — 2016. — Vol. 41, № 5. — P. 573–576.
4. Попова, Т. С. Парентеральное питание: общие принципы и новые подходы / Т. С. Попова // Consilium medicum. — 2007. — № 7. — С. 86–91.
5. Wolfe, R. R. Proteins and amino acids are fundamental to optimal nutrition support in critically ill patients / R. R. Wolfe [et al.] // Crit. Care. — 2014. — Vol. 18, № 36. — P. 591.
6. Надлежащая лабораторная практика: ТКП 125-2008 (02040). — Введ. 28.03.2008. — Минск : М-во здравоохранения Республики Беларусь, 2008. — 35 с.
7. Миронов, А. Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / А. Н. Миронов. — М. : Гриф и К°, 2012. — 944 с.

THE STUDY OF GENERAL TOXIC PROPERTIES OF THE NEW DOMESTIC INFUSION AMINO ACID SOLUTION FOR PARENTERAL NUTRITION AT A SINGLE AND COURSE ADMINISTRATION

Ivanov D. S., Andreev S. V., Gapanovich V. N., Berdina E. L., Pavlenko V. S., Elina T. S.

Republican Unitary Enterprise "Scientific and Practical Center LOTIOS", Minsk, Republic of Belarus

Currently, in medical practice parenteral nutrition is actively used as a basis for providing the patient with nutrients, including amino acids. Until recently, medicines of this group have not been produced in the Republic of Belarus, and therefore the significant needs of domestic health care were met only through import purchases. As part of the State Program for the Development of the Pharmaceutical Industry of the Republic of Belarus for 2016–2020, domestic scientists are developing an innovative drug — an infusion solution, which includes 16 essential and non-essential amino acids, as well as the original composition of ions.

Keywords: parenteral nutrition, amino acids, preclinical studies, LD₅₀, acute toxicity, subchronic toxicity.

Поступила 10.07.2018