

Л. О. Юшко, В. В. Сарнацька, Л. О. Сахно, В. О. Мельник,
Л. М. Корнєєва, В. Г. Ніколаєв

Аналіз адсорбції білокзв'язаних метаболітів і токсинів, характерних для печінкової недостатності ентеросорбентами різного походження

(Представлено академіком НАН України В. Ф. Чехуном)

Визначено сорбційний потенціал ентеросорбентів різного походження щодо широкого кола патологічних метаболітів і токсинів ліпофільної природи, які характерні для печінкової недостатності. На особливу увагу заслуговують вуглецеві ентеросорбенти, насамперед, гранульовані активовані адсорбенти ГСГД, сорбційна здатність яких має значну перевагу у вилученні гідрофобних білокзв'язаних речовин. Такі ентеросорбенти можуть бути ефективно використані у терапії хворих з печінковою недостатністю.

Терміни “ентеросорбенти” і “ентеросорбція”, які раніше стосувались тільки певної групи вуглецевих сорбентів, сьогодні включають в себе велику кількість препаратів і харчових домішок із властивими їм механізмами лікувальної дії і схемами вживання. Ефективність лікувальної дії ентеросорбції пов'язана в першу чергу зі здатністю ентеросорбенту активно поглинати токсичну речовину і виводити її з травного тракту. При печінковій недостатності до таких токсичних речовин належать феноли, некон'югований білірубін, жовчні кислоти, середньоланцюгові жирні кислоти та ін., які характеризуються гідрофобною природою і транспортуються за допомогою спеціальних білків-носіїв. Методи сорбційної терапії печінкової недостатності, включаючи ентеросорбцію, спрямовані на поглинання і видалення з організму цих токсичних сполук, які потрапляють до шлунково-кишкового тракту зовні, дифундують у просвіт кишечника з кровоносної і лімфатичної систем або утворюються в самому шлунково-кишкового тракті [1].

У даному повідомленні наведено результати скринінгу поглинальної активності ентеросорбентів різної хімічної природи щодо зв'язаних з білками речовин гідрофобної природи шляхом побудови ізотерм адсорбції. Вивчення індивідуальних можливостей ентеросорбентів дозволить більш ефективно використовувати їх у терапії печінкової недостатності в кожному окремому випадку.

Матеріали і методи. Як тест-об'єкти були використані ентеросорбенти ентеросгель (“Креома-Фарм”, Україна), поліфепан (ЗАО “Екосфера”, Росія), мікрокристалічна целюлоза (МКЦ) (фармацевтична фірма “Дарниця”), вуглецевий ентеросорбент карболайн у вигляді вологих болосів на основі АУТ-М, новий варіант ентеросорбенту на основі АУВМ-МН та ГСГД у вигляді дрібних гранул (останні три ентеросорбенти виробництва Інституту експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р. Є. Кравецького НАН України).

Загальні принципи побудови ізотерм адсорбції та розрахунок поглинальної ємності (x/m , мг/г) ентеросорбентів різного походження детально описані авторами у попередній публікації [2]. Для побудови ізотерм адсорбції сироваткового альбуміну людини (САЛ, мол. маса

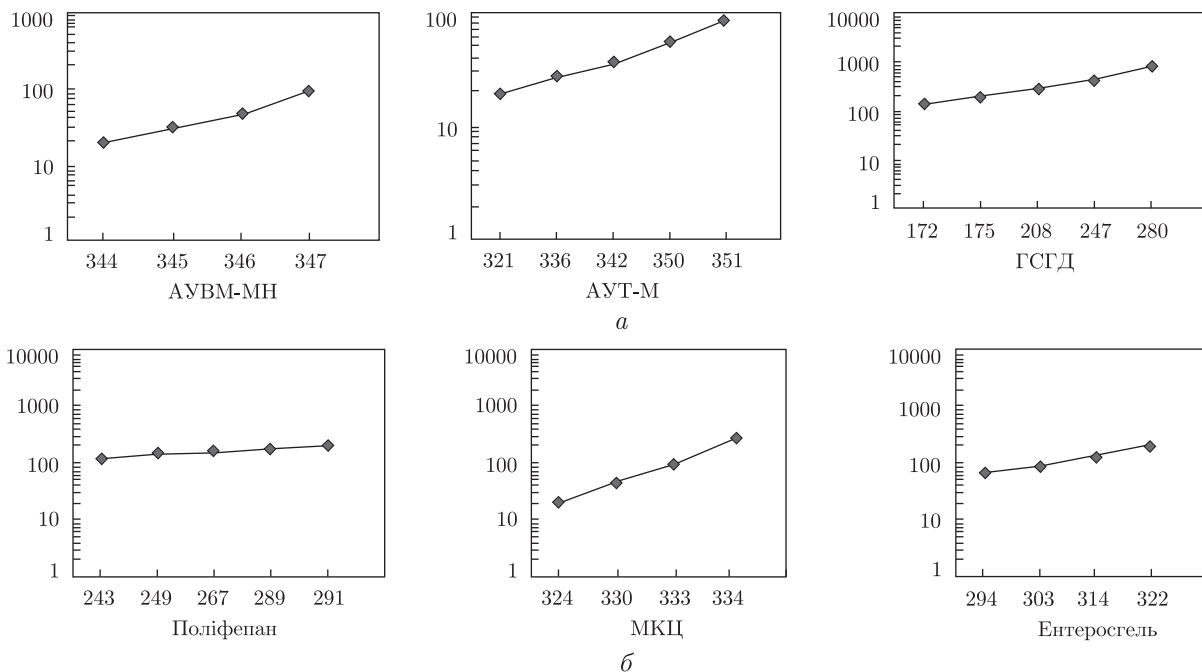


Рис. 1. Ізотерми адсорбції сироваткового альбуміну людини вуглецевими ентеросорбентами (а) та ентеросорбентами на основі органічних і неорганічних сполук кремнію та харчових волокон (б)

67 кДа) з модельних розчинів у діапазоні концентрацій (32 ± 2) мг/мл, а також адсорбції фенолів, некон'югованого білірубіну, каприлату натрію, дезоксихолевої кислоти і 2-індол-карбоксі кислоти з альбуміновмісних розчинів аналітично точна наважка досліджуваних ентеросорбентів в діапазоні від 0,1 до 1,0 г приводилась у контакт з 12 мл розчину сорбату. Час контакту, необхідний для досягнення повного насичення сорбенту, був попередньо визначений за кінетичними кривими і становив 4 год. Концентрацію САЛ до і після контакту з сорбентами визначали методом спектрофотометричного аналізу за калібрувальним графіком, побудованим при довжині хвилі 545 нм. Концентрацію фенолів і білірубіну до і після контакту з сорбентами визначали за стандартними біохімічними методами [3], а каприлату натрію, дезоксихолевої кислоти і 2-індол-карбоксі кислоти — методом диференціальної скануючої мікрокалориметрії за кривою залежності температури плавлення альбуміну від концентрації відповідного маркерного ліганду печінкової недостатності.

Для визначення сорбційного потенціалу ентеросорбентів відносно компонентів жовчі наважки ГСГД, АУВМ-МН, АУТ-М, поліфепану, ентеросгелю і МКЦ масою 0,2016; 1,001; 1,0061; 1,0014; 1,9584 і 1,0028 г відповідно впродовж 4 год приводили у контакт з 12 мл жовчі. Концентрацію фосфоліпідів, холестерину і загальних жовчних кислот визначали на автоматичному аналізаторі.

Результати дослідження та їх обговорення. Порівняльна оцінка ізотерм адсорбції САЛ ентеросорбентами різних груп показала, що ефективність адсорбції на вуглецевих ентеросорбентах зростає у міру збільшення об'єму сорбційних пор (рис. 1). Найбільшу сорбційну ємність виявляє ГСГД ($V_s = 1,57 \text{ см}^3/\text{г}$), що здатний поглинати на 1 г до 850 мг САЛ. Сорбційна ємність АУВМ-МН ($V_s = 1,01 \text{ см}^3/\text{г}$) і АУТ-М ($V_s = 0,52 \text{ см}^3/\text{г}$) становить відповідно 110 і 90 мг/г (див. рис. 1, а). Достатньо висока поглинальна ємність щодо САЛ

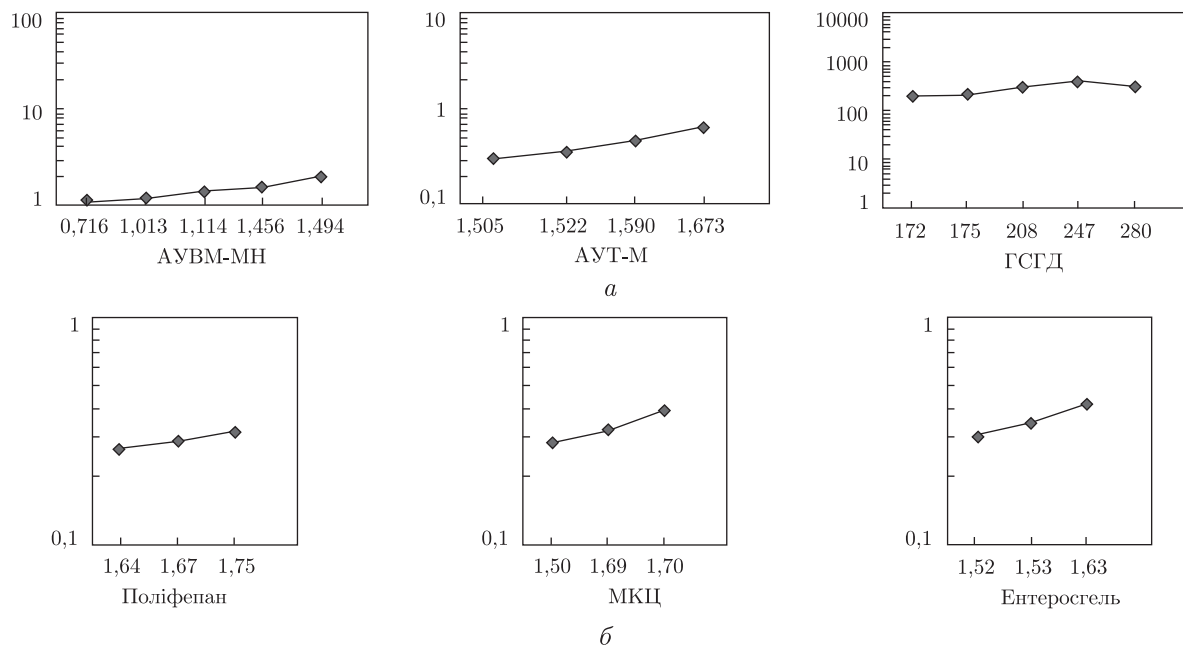


Рис. 2. Ізотерми адсорбції некон'югованого білірубину вуглецевими ентеросорбентами (а) та ентеросорбентами на основі органічних і неорганічних сполук кремнію та харчових волокон (б)

(210 мг/г) характерна для ентеросгелю. Харчові волокна МКЦ ($V_s = 0,023 \text{ см}^3/\text{г}$) і поліфепан ($V_s = 0,12 \text{ см}^3/\text{г}$) також активно поглинають альбумін, адсорбуючи до 250 і 180 мг білка на 1 г відповідного ентеросорбенту (див. рис. 1, б). Відзначимо, що ентеросорбенти МКЦ, поліфепан і ентеросгель мають вдвічі більшу сорбцію САЛ, ніж вуглецеві волокнисті ентеросорбенти АУВМ-МН та АУТ-М, сорбційна ємність яких щодо низькомолекулярних маркерних барвників на 2 порядки вища, ніж кремнієвмісних ентеросорбентів та харчових волокон [2].

На наступному етапі досліджень проведено порівняльну оцінку здатності ентеросорбентів поглинати білокзв'язані метаболіти та токсини з альбумінвмісних розчинів.

Розглянемо результати адсорбції некон'югованого білірубину з САЛ-вмісного розчину представниками різних класів ентеросорбентів. Більш високу поглинальну ємність щодо білірубину мають вуглецеві сорбенти: адсорбція зростає у ряду АУТ-М \rightarrow АУВМ-МН \rightarrow ГСГД і становить відповідно 1,0 \rightarrow 2,5 \rightarrow 11,8 мг/г сорбенту (рис. 2, а). МКЦ, поліфепан і ентеросгель мають істотно меншу сорбційну ємність — 0,38, 0,32 і 0,44 мг/г відповідно (див. рис. 2, б).

Безумовним лідером у поглинанні фенолових тіл з альбумінвмісного розчину є гранульований вуглецевий ентеросорбент ГСГД, сорбційна ємність якого становить 450 мг/г. Ентеросорбенти МКЦ, поліфепан і ентеросгель, незважаючи на перевагу в адсорбції самого САЛ (див. рис. 1, б), поглинають значно меншу кількість фенолу, ніж волокнисті вуглецеві ентеросорбенти. Найбільша сорбційна активність у видаленні фенолу серед не-вуглецевих ентеросорбентів притаманна поліфепану, поглинальна ємність якого значно перевищує поглинальну ємність МКЦ і ентеросгелю — 10,5 мг/г проти 1,2 і 0,5 мг/г відповідно.

Той факт, що вуглецеві сорбенти здатні поглинати значно більшу кількість білокзв'язаних метаболітів, можна пояснити тим, що завдяки своїй гідрофобній поверхні вугле-

цеві сорбенти здатні “забирати” їх з комплексу з протеїном, очищуючи тим самим білок-носії.

Звертає на себе увагу те, що поглинальна ємність ентеросорбентів, особливо вуглецевих, щодо білірубину значно нижча, ніж при адсорбції фенолу. Пояснити це можна дуже високим афінитетом даного пігменту до молекули альбуміну. Константа асоціації білірубину дорівнює 10^8 M^{-1} , у зв'язку з чим його дуже важко вилучити з комплексу із САЛ (для порівняння: константа асоціації фенолу становить 10^3 M^{-1}).

Результати порівняльної оцінки адсорбції білокзв'язаних токсинів печінкової недостатності — каприлату натрію та дезоксихолевої кислоти, а також протеїнотропного токсину — 2-індол-карбоксі кислоти з альбумінвмісних розчинів ентеросорбентами різного походження свідчать про те, що сорбційні можливості вуглецевих та неуглецевих сорбентів подібні до вищеописаних. Поглинальна ємність найменш активного вуглецевого ентеросорбенту АУТ-М значно вища, ніж кремнієвмісного ентеросорбенту ентеросгелю: адсорбція каприлату натрію, дезоксихолевої кислоти і 2-індол-карбоксі кислоти для АУТ-М становить 108,2; 13,1 і 75,3 мг/г відповідно, тоді як для ентеросгелю — лише 2,8; 0,6 і 1,8 мг/г відповідно.

Вивчено сорбційні властивості ентеросорбентів різного походження щодо компонентів жовчі. Чотиригодинна експозиція ГСГД, АУВМ-МН, АУТ-М, ентеросгелю, поліфепану і МКЦ у середовищі жовчі обумовлює зниження концентрації холестерину, що становила 58,6 мг/100 мл, на $(62,1 \pm 0,83)$, $(31,23 \pm 0,83)$, $(18,1 \pm 0,83)$, $(19,2 \pm 0,83)$, $(10,16 \pm 0,83)$, $(9,2 \pm 0,83)\%$ відповідно; фосфоліпідів (вихідна концентрація 9,9 г/л) — на $(48,3 \pm 0,83)$, $(19,5 \pm 0,83)$, $(17,8 \pm 0,83)$, $(10,4 \pm 0,83)$, $(14,7 \pm 0,83)$, $(15,7 \pm 0,83)\%$ відповідно та загальних жовчних кислот (вихідна концентрація 1566,4 мг/100 мл) — на $(23,5 \pm 0,83)$, $(19,0 \pm 0,83)$, $(12,7 \pm 0,83)$, $(10,13 \pm 0,83)$, $(4,6 \pm 0,83)$, $(4,0 \pm 0,83)\%$ відповідно.

Отримані результати свідчать про наявність у ентеросорбентів різного походження помірного деліпідизуючого ефекту, а беручи до уваги те, що жовчні кислоти і холестерин мають загальні прекурсори синтезу, зниження їх концентрації вказує на наявність і дехолестеринизуючого ефекту.

Таким чином, за результатами проведених досліджень визначено сорбційний потенціал ентеросорбентів різного походження щодо широкого кола патологічних метаболітів і токсинів ліпофільної природи. Особливої уваги у цьому зв'язку заслуговують вуглецеві ентеросорбенти, насамперед гранульовані активовані адсорбенти ГСГД, сорбційна здатність яких може бути ефективно використана у терапії хворих з печінковою недостатністю.

1. *Sarnatskaya V. V., Yushko L. A., Nikolaev A. V., Grinenko D. V., Nikolaev V. G.* New approaches to the removal of protein-bound toxins from blood plasma of uremic patients // *Biomater., Artific. Cells & Artific. Organs.* – 2007. – **35**, No 3. – P. 287–309.
2. *Юшко Л. О., Сарнацька В. В., Сахно Л. О., Маслений В. М., Ніколаєв В. Г.* Оцінка кінетичних параметрів і ізотерм адсорбції барвників ентеросорбентами різного походження // *Доп. НАН України.* – 2009. – № 8. – С. 168–172.
3. *Меньшиков В. В.* Лабораторные методы исследований. – Москва: Медицина, 1987. – 368 с.

*Інститут експериментальної патології,
онкології і радіобіології
ім. Р. Є. Кавецького НАН України, Київ
Державна установа “Національний інститут раку”, Київ*

Надійшло до редакції 12.02.2009

L. A. Yushko, V. V. Sarnatska, L. A. Sakhno, V. A. Mel'nik, L. N. Korneeva,
V. G. Nikolaev

**Study of the adsorption of protein-bound metabolites and toxins
characteristic of hepatic insufficiency by enterosorbents of different
nature**

The adsorptive potential of enterosorbents of different nature towards lipophilic pathological metabolites and toxins characteristic of hepatic insufficiency has been experimentally determined. It should be noted that carbonic adsorbents and, first of all, granular activated adsorbents HSGD demonstrated the essential advantage in the process of removal of protein-bound hydrophobic substances. These enterosorbents could be effectively used in therapy of patients with liver failure.