“ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ТА КЛІНІЧНА ФІЗІОЛОГІЯ І БІОХІМІЯ”
 “EXPERIMENTAL AND CLINICAL PHYSIOLOGY AND BIOCHEMISTRY”
 Науково-практичний журнал/Scientific-practical journal

Наукові статті / Research article
 ECPB 2018, 3(83): 52–60. <https://doi.org/>

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

Обґрунтування безпеки застосування колоїдно-гіперосмолярних розчинів для корекції функціонального стану організму та легень у експерименті на щурах

А.О. ОЧЕРЕТНЮК¹, Б.О. КОНДРАЦЬКИЙ², О.В. ПАЛАМАРЧУК¹, В.А. ВАЩУК¹

¹ Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова
 МОЗ України, Вінниця, Україна

² ДУ “Інститут патології крові та трансфузійної медицини НАМН України”, Львів, Україна

E-mail: anna.ocheretniuk@gmail.com, b.kondr@gmail.com

Забезпечення спеціалізованих відділень високоефективними, безпечними, доступними за вартістю вітчизняними кровозамінниками з органопротекторними властивостями є актуальним завданням сучасної фармакології [1–3]. Одним із таких препаратів є колоїдно-гіперосмолярний розчин HAES-LX-5%, створений у ДУ «Інститут патології крові та трансфузійної медицини НАМН України» і зареєстрований в Україні під торговою назвою «Гекотон». Препарат містить ГЕК 130/0,4 (5 %), п'ятиатомний спирт ксилітол (5 %), за- лужнювальний компонент натрію лактат (1,5 %), електроліти Na^+ , K^+ , Ca^{++} , Mg^{++} та Cl^- , теоретична осмолярність – 890 мОсм/л [4]. Він єдиний препарат у своєму класі – колоїдно-електролітний гіперосмолярний розчин, створений на основі гідроксиетилкрохмалю (ГЕК) III генерації. Це вигідно виокремлює препарат серед аналогічних, створених на основі нативних протеїнів, які частіше спричиняють тяжкі анафілактоїдні реакції та є небезпечними щодо ризику передавання трансмісивних інфекцій [3,5,6]. У результаті доклінічного вивчення препарату виявлено його здатність підтримувати вітальні функції організму щурів і органопротекторний вплив на печінку, нирки, легені в умовах експериментальної опікової хвороби [7–9]. Із огляду на це, важливо дослідити вплив препарату на функціональний стан організму та легень інтактних щурів, що актуалізує дослідження у цьому напрямі.

Мета дослідження. Експериментально обґрунтувати безпечність за- стосування колоїдно-гіперосмолярного розчину на основі гідроксиетильо- ваного крохмалю HAES-LX-5% і дослідити вплив на функціональний стан організму та легень щурів на органному й клітинному рівнях. Дослідження є фрагментом комплексного доклінічного вивчення розчину HAES-LX-5%.

Матеріали й методи дослідження. Досліди проведено на 96 білих щурах-самцях масою 160–180 г, які перебували в стандартних умовах ві- варію, з дотриманням етичних норм проведення експериментальних до- сліджень згідно з принципами Європейської конвенції про захист хребет- них тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986), «Загальними принципами роботи на тваринах», затвер- дженими І Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001), та законом України «Про захист тварин від жорстокого поводження» від 26.02.2006 р.) [10]. Дотримання біоетичних норм засвідчено висновком комітету з біоетики ВНМУ ім. М. І. Пирогова (протокол № 12 від 10.12.2015 р.). Усі маніпуляції

з тваринами, зокрема катетеризацію магістральних судин та декапітацію, здійснювали за умов пропофолового наркозу (60 мг/кг в/о) за методикою F. S. Regas, H. P. Ehrlich [11].

У дослідженні тварин поділили на чотири групи: три дослідні групи щурів, яким вводили інфузійні препарати, та одна група інтактних щурів. Для інфузійної терапії використано досліджуваний розчин HAES-LX-5%, препарат порівняння – білково-сольовий гіперосмолярний розчин лактопротеїн із сорбітолом (ЛПС) [12] і контрольний препарат – 0,9 % розчин NaCl (0,9 %NaCl). Розчини HAES-LX-5%, ЛПС та 0,9 % NaCl застосовували дозою 10 мл/кг в/в упродовж 5 хв раз на добу впродовж 7 діб.

Для оцінки досліджуваного розчину визначали: в сироватці крові біохімічні показники – лейкоцитарний індекс інтоксикації (ЛІІ) за формулою Я. Кальф-Каліфа [13], у тканинах легень – макрометричні (абсолютна та відносна маса, об’єм, загальний показник макроскопічного стану легень: кольору, поверхні, консистенції, наявності крововиливів) – за методикою О. В. Волкова та співавторів [14]. Цитофлюорометричні дослідження – за методикою А. J. Singer, V. Galani et al. [15,16].

Отримані результати опрацьовували методом варіаційної статистики з використанням критерію Стьюдента (*t*) та непараметричних методів аналізу (U-критерію Манна-Вітні) за допомогою комп’ютерних програм STATISTICA 6.1 (Stat Soft Inc, США) та Ms Excel у середовищі Windows-2007 (Microsoft, США). Відмінності вважали статистично значущими при *p* < 0,05.

Результати дослідження та їх обговорення. На першому етапі дослідження вивчено вплив HAES-LX-5% порівняно з референс-препаратом ЛПС на загальнотрофічні процеси у щурів за динамікою маси тіла щурів на 1-шу, 3-тю, 7-му добу (табл. 1). Констатовано, що маса тіла інтактних тварин фізіологічно зростала з 1-ї по 7-му добу з $164,7 \pm 2,8$ до $175,7 \pm 2,5$ г упродовж 7 діб. У тварин дослідних груп при введенні трьох досліджуваних розчинів спостерігали поступове збільшення маси тіла впродовж 7 діб експерименту: при введенні 0,9 % NaCl – на 9,9 % (*p* < 0,05) у термін із 1-ї по 3-тю добу та на 6,1 % (*p* < 0,05) у термін із 3-ї по 7-му добу; при введенні ЛПС – на 9,9 % (*p* < 0,05) з 1-ї по 3-тю добу та на 5,0 % (*p* = 0,054) із 3-ї по 7-му добу; при введенні HAES-LX-5% – на 9,5 % (*p* < 0,05) із 1-ї по 3-тю добу та на 4,4 % (*p* < 0,05) із 3-ї по 7-му добу. При цьому вірогідні відмінності у динаміці маси тіла тварин на тлі введення розчинів порівняно з інтактними тваринами на 3-ю й 7-му добу, що свідчить про відсутність токсичного впливу препаратів на загальнотрофічні процеси, а також про наявність гідратаційного і енергетичного ефекту препаратів [3,17]. При порівнянні маси тіла у дослідних тварин на тлі введення усіх трьох розчинів у однакові терміни спостереження достовірних або тенденцій відмінностей не виявлено. Отже, за відсутністю негативного впливу на організм щурів розчини є зіставними.

Таблиця 1

Маса тварин на тлі введення інфузійних препаратів (*M* ± *m*, *n* = 6)

Групи тварин	Вихідні дані	Маса тварин (г) на		
		1-шу добу	3-тю добу	7-му добу
Інтактні тварини	164,2 ± 1,8	164,7 ± 2,8	168,8 ± 2,6	175,7 ± 2,5 ^{&@}
Група тварин «0,9% NaCl»	165,2 ± 1,6	169,2 ± 1,6 [@]	180,5 ± 3,4 ^{^@#}	189,5 ± 1,7 ^{^@&}
Група тварин «ЛПС»	164,2 ± 1,0	167,2 ± 2,6	179,8 ± 0,7 ^{^@#}	187,7 ± 0,9 ^{^@&}
Група тварин «HAES-LX-5%»	164,2 ± 1,0	166,2 ± 3,0	179,8 ± 0,7 ^{^@#}	187,7 ± 0,9 ^{^@&}

Примітки: ^ – статистично достовірні відмінності відносно показників інтактного контролю (*p* < 0,05); @ – статистично достовірні відмінності щодо вихідних даних у межах однієї групи (*p* < 0,05); # – статистично достовірні відмінності між відповідними показниками на 3-тю добу щодо даних на 1-шу добу в межах однієї групи (*p* < 0,05); & – статистично достовірні відмінності між відповідними показниками на 7-му добу щодо даних на 3-тю добу в межах однієї групи (*p* < 0,05).

Відомо, що при введенні лікарських засобів у організм тварини або людини відбувається їх метаболізм, спрямований на утворення водорозчинних метаболітів, які можуть легко виводитись із організму. Дезінтоксикаційні метаболічні процеси дуже часто можуть призводити до утворення токсичних метаболітів та інтоксикації організму [18,19]. Із огляду на наведене вище, здійснено оцінку стану дезінтоксикаційних процесів організму щурів при введенні досліджуваних розчинів за показником лейкоцитарного індексу.

Результати дослідження показали, що введення тваринам усіх трьох розчинів (0,9 % NaCl, ЛПС та HAES-LX-5%) не приводило до вірогідних змін показника ЛІІ відносно інтактного контролю упродовж усього періоду дослідження (табл. 2). Це свідчить про відсутність токсичного впливу цих засобів на організм щурів.

Таблиця 2

Рівень лейкоцитарного індексу інтоксикації в сироватці крові щурів на тлі введення інфузійних препаратів ($M \pm m$, $n = 6$)

Характеристика груп тварин		Лейкоцитарний індекс інтоксикації (ЛІІ)
Інтактний контроль		$0,165 \pm 0,098$
Група тварин «0,9% NaCl»	1-ша доба	$0,150 \pm 0,086$
	3-тя доба	$0,158 \pm 0,076$
	7-ма доба	$0,165 \pm 0,035$
Група тварин «ЛПС»	1-ша доба	$0,197 \pm 0,079$
	3-тя доба	$0,209 \pm 0,053$
	7-ма доба	$0,239 \pm 0,085$
Група тварин «HAES-LX-5%»	1-ша доба	$0,164 \pm 0,055$
	3-тя доба	$0,193 \pm 0,036$
	7-ма доба	$0,215 \pm 0,089$

Примітки: p_1 – достовірність порівняно з показниками інтактного контролю; p_2 – достовірність порівняно з показниками на 1-шу добу в межах однієї групи; p_3 – достовірність між відповідними показниками на 7-му добу щодо даних на 3-тю добу в межах однієї групи; $p_1 - p_3 > 0,05$.

На другому етапі досліджували вплив HAES-LX-5% на стан легень за макрометричними (абсолютна та відносна маса, об'єм) і макроскопічними (колір, поверхня, консистенція, наявність крововиливів) показниками. У щурів при введенні 0,9 % NaCl, ЛПС та HAES-LX-5% не виявлено достовірних відмінностей зміни абсолютної та відносної маси легень від 1-ї до 7-ї доби порівняно з інтактними тваринами, що свідчить про відсутність токсичного впливу препаратів на функціональний стан легень щурів (табл. 3). При визначенні об'єму легень тварин дослідних груп упродовж усього експерименту при введенні 0,9 % NaCl, ЛПС та HAES-LX-5% достовірних відмінностей або тенденцій цього показника не зафіксовано як у динаміці, так і між відповідними розчинами в однакові терміни спостереження, що відповідає об'єму легень статевозрілих щурів масою 160–170 г. Таким чином, за результатами макрометричних досліджень показано, що розчини HAES-LX-5% і ЛПС не викликали змін абсолютної і відносної маси та об'єму легень щурів.

Макроскопічний стан легень досліджували за такими показниками: колір, поверхня, консистенція, крововиливи – за п'ятибальною шкалою. Загальний показник макроскопічного стану легень визначали як суму балів усіх показників: що вища сума балів, то більше ушкоджень мають легені кожної тварини (табл. 4). При дослідженні легень катетеризованих інтактних щурів візуально виявлено, що легені світло-рожевого кольору з яскраво-блискучою поверхнею, покриті вісцеральною плеврою, еластичні, зовнішньо крововиливи відсутні, загальний показник макроскопічного стану склав 0,00 балів. У щурів, яким упродовж 7 діб вводили розчини 0,9 % NaCl,

ЛПС та HAES-LX-5%, та легені були світло-рожеві, блискучі, еластичні, зрідка з точковими крововиливами. Загальний показник макроскопічного стану легень цих тварин склав відповідно 1,33 бала на тлі дії 0,9 % NaCl, 0,50 балів під впливом розчину HAES-LX-5% та 0,67 балів на тлі дії ЛПС, що не були статистично вірогідними порівняно з інтактним контролем (див. табл. 4). Отже, на тлі досліджуваних засобів макроскопічний стан органа був подібний до такого у тварин інтактного контролю, що свідчить про відсутність токсичного впливу інфузійних розчинів на стан легень щурів.

Таблиця 3

Характеристика груп тварин		Абсолютна маса легень тварин, г	Відносна маса легень тварин, %	Об'єм легень тварин, мл
Інтактні тварини	1-ша доба	1,350 ± 0,030	0,760 ± 0,010	40,2 ± 0,01
	3-тя доба	1,300 ± 0,050	0,720 ± 0,030	40,1 ± 0,01
	7-ма доба	1,390 ± 0,030	0,730 ± 0,020	40,1 ± 0,02
Група тварин «0,9% NaCl»	1-ша доба	1,219 ± 0,047	0,740 ± 0,026	40,15 ± 0,02
	3-тя доба	1,290 ± 0,034	0,772 ± 0,025	40,16 ± 0,02
	7-ма доба	1,296 ± 0,089	0,683 ± 0,045	40,16 ± 0,02
Група тварин «ЛПС»	1-ша доба	1,247 ± 0,095	0,759 ± 0,027	40,16 ± 0,02
	3-тя доба	1,270 ± 0,040	0,704 ± 0,021	40,16 ± 0,02
	7-ма доба	1,312 ± 0,043	0,692 ± 0,021	40,16 ± 0,02
Група тварин «HAES-LX-5%»	1-ша доба	1,256 ± 0,046	0,766 ± 0,030	40,16 ± 0,01
	3-тя доба	1,297 ± 0,032	0,721 ± 0,018	40,16 ± 0,02
	7-ма доба	1,296 ± 0,051	0,691 ± 0,028	40,15 ± 0,02

Примітки: p_1 – достовірність порівняно з показниками інтактного контролю; p_2 – достовірність порівняно з показниками на 1-шу добу в межах однієї групи; p_3 – достовірність між відповідними показниками на 7-му добу щодо даних на 3-тю добу в межах однієї групи; $p_1 - p_3 > 0,05$.

Таблиця 4

Макроскопічні зміни легень щурів на тлі введення інфузійних препаратів на 7-му добу (M (min; max); $n = 6$)

Групи тварин	Макроскопічні показники, бали				Загальний показник макроскопічного стану легень, бали
	колір	поверхня	консистенція	крововиливи	
Інтактні тварини	0,00 (0; 0)	0,00 (0; 0)	0,00 (0; 0)	0,00 (0; 0)	0,00 (0; 0)
Група тварин «0,9% NaCl»	0,00 (0; 0)	0,33 (0; 1)	0,00 (0; 0)	1,00 (1;1)	1,333 (1; 2)
Група тварин «ЛПС»	0,00 (0; 0)	0,00 (0; 0)	0,00 (0; 0)	0,67 (0; 1)	0,67 (0; 1)
Група тварин «HAES-LX-5%»	0,00 (0; 0)	0,00 (0; 0)	0,00 (0; 0)	0,50 (0; 1)	0,50 (0; 1)

Беручи до уваги чутливість легень до фармакологічних агентів, їх здатність до кумуляції ліпофільних речовин, що можуть викликати ушкодження клітинних і субклітинних структур, оцінювали можливий вплив 0,9 % NaCl, ЛПС і HAES-LX-5% на показники клітинного циклу та фрагментації ДНК у щурів. Визначено такі фази клітинного циклу: проліферативного спокою (G_0G_1), проліферативної активності (G_2+M), синтезу (S), а також

індекс проліферації (IP), блок проліферації (BP) та показник апоптозу (SUB-G₀G₁) (табл. 5). Під час дослідження відмінностей між фармакодинамічними ефектами трьох розчинів не виявлено, а тому їх можна вважати нейтральними щодо клітинного відновлення у щурів.

Таблиця 5

Показники клітинного циклу клітин легень щурів на тлі введення інфузійних препаратів за даними проточної ДНК-цитометрії (M (min-max))

Показники клітинного циклу, %	Групи тварин (min-max)		
	0,9 % NaCl (n = 6)	ЛПС (n = 6)	HAES-LX-5% (n = 6)
через 1 добу від початку експерименту			
G ₀ G ₁	80,09 (76,58–86,71)	79,05 (76,9–81,71)	70,97 (77,17–83,66)
S	3,33 (2,05–4,54)	3,05 (1,64–4,27)	3,09 (2,01–4,17)
G ₂ + M	16,58 (11,23–19,79)	17,91 (16,6–18,89)	16,94 (13,61–18,81)
IP	19,91 (13,28–23,42)	20,96 (18,29–23,13)	20,03 (16,34–22,83)
SUB-G ₀ G ₁	4,49 (2,6–6,16)	4,24 (3,91–4,64)	3,81 (2,58–5,16)
BP	0,20 (0,16–0,25)	0,17 (0,09–0,23)	0,18 (0,12–0,24)
через 3 доби від початку експерименту			
G ₀ G ₁	81,26 (78,16–83,84)	80,18 (77,39–86,16)	80,19 (78,22–84,13)
S	2,66 (1,45–4,08)	3,48 (2,58–4,86)	3,19 (2,28–4,21)
G ₂ + M	16,08 (13,73–19,66)	16,33 (11,06–17,88)	16,61 (13,38–18,75)
IP	18,74 (16,16–21,84)	19,82 (13,84–22,6)	19,80 (15,87–21,78)
SUB-G ₀ G ₁	3,77 (2,16–5,07)	4,19 (3,23–5,5)	3,47 (2,46–5,51)
BP	0,17 (0,08–0,29)	0,22 (0,15–0,27)	0,19 (0,13–0,25)
через 7 діб від початку експерименту			
G ₀ G ₁	81,12 (77,54–86,99)	81,23 (78,38–86,2)	80,49 (77,77–84,41)
S	3,04 (1,76–4,28)	2,90 (1,6–4,24)	3,01 (2,27–4,03)
G ₂ + M	15,85 (10,2–18,18)	15,87 (11,35–17,71)	16,50 (13,02–18,35)
IP	18,89 (13,01–22,46)	18,77 (13,81–21,62)	19,51 (15,6–22,23)
SUB-G ₀ G ₁	4,09 (2,61–5,54)	3,61 (2,13–5,14)	3,47 (2,23–4,56)
BP	0,20 (0,1–0,28)	0,18 (0,09–0,25)	0,18 (0,14–0,22)

Примітки: G₀G₁ – фаза проліферативного спокою (вміст ДНК = 2 с); S – фаза синтезу ДНК (вміст ДНК > 2 с і < 4 с); G₂ + M – фаза проліферативної активності (ДНК = 4 с); IP – індекс проліферації, оцінювали за сумою показників S + G₂ + M; BP – блок проліферації, оцінювали за співвідношенням S/(G₂+M); SUB-G₀G₁ – показник апоптозу, відсоток клітин із фрагментованою ДНК < 2 с; n – кількість тварин у групі.

ДНК-гістограми ядерної суспензії клітин легень шурів через 1 добу після застосування:
а) 0,9% NaCl (RN₁ (SUB-G₀G₁, фрагментація ДНК) = 2,83 %);
б) ЛПС (RN₁ (SUB-G₀G₁, фрагментація ДНК) = 4,45 %);
в) HAES-LX-5% (RN₁ (SUB-G₀G₁, фрагментація ДНК) = 4,79 %).

На ДНК-гістограмах шурів, які отримували 0,9 % NaCl, реєструвався невеликий відсоток подій, визначений у інтервалі (SUB-G₀G₁), що вказував на ядра з фрагментованою ДНК, на апоптотичні клітини (див. рисунок). Показник інтервалу SUB-G₀G₁ становив 2,83 % загальної кількості клітинних подій. На ДНК-гістограмах суспензій ядер клітин легень на тлі введення

HAES-LX-5% інтервал SUB-G₀G₁ становив при введенні ЛПС 4,79 і 4,45 % загальної кількості клітинних подій. Достовірної різниці між аналогічними показниками клітинного циклу та фрагментації ДНК клітин легень між групами шурів, які отримували 0,9 % NaCl, HAES-LX-5% і ЛПС, в усі терміни дослідження (1-ша, 3-тя, 7-ма доба) не виявлено. Це свідчить про відсутність будь-якого небажаного впливу досліджуваних препаратів на нормальні процеси проліферації та апоптозу в легенях шурів.

Висновки. Таким чином, з'ясовано, що інфузійний препарат HAES-LX-5% і препарат порівняння ЛПС сприяли вірогідному підвищенню ($p < 0,05$) маси тіла тварин у середньому на 14,3 % упродовж 7 діб порівняно з вихідними даними, що було вірогідно вищим щодо інтактних тварин на 3–7-му добу досліджу. Ці розчини вірогідно ($p < 0,05$) не підвищували лейкоцитарний індекс інтоксикації, що свідчить про відсутність їх негативного впливу на загальнотрофічні та детоксикаційні процеси у тварин без опіку. Констатовано відсутність токсичного впливу препаратів HAES-LX-5% і ЛПС на функціональний стан легень шурів за макрометричними показниками. Розчини не викликали статистично достовірних змін абсолютної і відносної маси, об'єму, а також макроскопічного стану легень тварин. Досліджуваний розчин і препарат порівняння не чинили негативного впливу на проліферацію та апоптоз у легенях шурів.

Рекомендовано до друку комісією з біоетики

ПОСИЛАННЯ

1. Козинець ГП, Циганков ВП, Коваленко ОМ. Сучасна інфузійна терапія в опіковому шоці. Український журнал гематології та трансфузіології. 2012;4(15):39–42 (Kozinets GP, Cygankov VP., Kovalenko OM. Modern infusion therapy in burn shock. *Ukrainian Journal of Hematology and Transfusiology*. 2012;4(15):39-42).
2. Нагайчук ВІ. Сучасні підходи до надання допомоги хворим з опіками. Мистецтво лікування. 2010;5:24–9 (Nagaichuk VI. *Modern approaches to helping patients with burns. The Art of Treatment*. 2010;5:24-9).
3. Шлапак ІП, Кондрацький БО, Новак ВЛ, Кондрацький ЯБ. Інфузійна терапія в практиці лікаря внутрішньої медицини: навч. посіб. К.: Логос; 2013. 307 (Shlapak IP, Netjazhenko VZ, Galushko OA. *Infusion therapy in the practice of a doctor of internal medicine*. K.: Logos; 2013. 307).
4. Пат. 93776 Україна МПК А 61 К 9/08, А 61 К 47/36. Комплексний колоїдно-гіперосмолярний інфузійний препарат. Кондрацький БО, Новак ВЛ, Кондрацький ЯБ. Заявка № а 200908880; заявл. 25.08.2009; опубл. 10.03.2011, Бюл. № 5 (Patent for invention 93776 Ukraine, ІПК А 61 К 9/08, А 61 К 47/36. *The complex colloid hyperosmolar infusion medication*. Kondratskyi BO, Novak VL, Kondratskyi YB. Request N a 200908880; appl. 25.08.2009; publish. 10.03.2011, Bull. N 5, 2011).
5. Кондрацький БО, Новак ВЛ, Кондрацький ЯБ. Новий колоїдно-гіперосмолярний інфузійний розчин HAES-LX-5% як засіб для малооб'ємної ресусcitaції на догоспітальному етапі. Збірник наукових праць співробітників НМАПО ім. П.Л. Шупика. Вип. 5, Кн. 24. К.; 2015. 132–7 (Kondratskyi BO, Novak VL, Kondratskyi YB. *New colloid hyperosmolar infusion solution HAES-LX-5% as a means for small volume resuscitation on the prehospital phase*. Collection of Scientific Works of Staff Members of PL. Shupyk NMAPE. Ed. 5, book 24. K.; 2015. 132-7).
6. Клименко МО, Нетьухайло ЛГ. Патобіохімія обміну речовин. Полтава; 2012. 137 (Klimenko MO, Netyukhaylo LG. *Pathobiochemistry of metabolism*. Poltava; 2012. 137).
7. Очеретнюк АО, Черешнюк ІЛ, Лисенко ДА, Прокопенко СВ. Дослідження фрагментації ДНК у легенях шурів на фоні застосування 0,9 % розчину NaCl, лактопротеїну з сорбітолом або HAES-LX-5% у гострий період опікової хвороби. Фармакологія та лікарська токсикологія. 2014;4-5(40):66–72 (Ocheretniuk AO, Chereszniuk IL, Lysenko DA, Prokopenko SV. *Investigation of DNA fragmentation in rats' lungs with 0.9% NaCl solution, Lactoprotein with sorbitol or HAES-LX-5% in the acute period of burn disease*. Pharmacology and Drug Toxicology. 2014;4-5(40):66-72).
8. Семененко АІ. Порівняльна оцінка терапевтичного ефекту комбінованих гіперосмолярних розчинів в умовах опікової хвороби за динамікою показників оксидантно-антиоксидантної рівноваги в печінці. Вісник морфології. 2010;Т.16,4:806–10 (Semenenko AI. *Comparative evaluation of the therapeutic effect of combined hyperosmolar solutions in conditions of burn disease according to the dynamics of indicators of oxidant-antioxidant balance in the liver*. Reports of Morphology. 2010;T.16,4:806-10).
9. Семененко ОМ, Яковлева ОО, Семененко СІ. Порівняльна оцінка терапевтичного ефекту розчинів HAES-LX-5% та лактопротеїну з сорбітолом в умовах опікової хвороби за динамікою показників біоенергетичних процесів у нирках. Клінічна та експериментальна патологія. 2015;Т. 14,2(52):180–4 (Semenenko OM, Yakovleva OO, Semenenko SI. *Comparative evaluation of the therapeutic effect of solutions of HAES-LX-5% and Lactoprotein with sorbitol in conditions of burn disease according to the dynamics of indicators of bioenergetic processes in the kidneys*. Clinical and Experimental Pathology. 2015;T. 14,2(52):180-4).
10. Доклінічні дослідження лікарських засобів:

методичні рекомендації [за ред. ОВ Стефанова]. К.: Авіцена; 2001. 528 (*Preclinical studies of medications: methodical recommendations [red. OV Stefanov]. K.: Avicena; 2001. 528*). 11. Regas FC, Ehrlich HP. Elucidating the vascular response to burns with a new rat model. *J Trauma*. 1992;32(5):557-63. 12. Пат. 32467 Україна МПК А 61К 9/08. Плазмозамінювальний розчин комплексної дії «Лактопротеїн з сорбітолом». Миндюк МВ, Качоровський БВ, Новак ВЛ, Винарчик МІ, Кондрацький БО, Орлик ВВ. Заявка № 99074351; заявл. 28.07.1999; опубл. 15.12.2000, Бюл. № 7 (*Patent for invention 32467 Ukraine, МПК А 61 К 9/08, А 61 К 47/36. Plasma-like solution «Lactoprotein with sorbitol». Myndiuk MV, Kachorovskyi BV, Novak VL, Vynarchuk MJ, Kondratskyi BO, Orlyk VV. Request N a 200908880; appl. 25.08.2009; publish. 10.03.2011, Bull. N 5, 2011*). 13. Горячковський ОМ. Клінічна біохімія в лабораторній діагностиці: довід. посіб. / Горячковський ОМ. [3-тє вид., випр. і доп.]. Одеса: Екологія; 2005. 616 (*Horyachkovskiy OM. Clinical biochemistry in laboratory diagnostics: A Reference Guide / Horyachkovskiy OM. [3rd ed., straighten. and add.]. Odesa: Ecologiya; 2005. 616*). 14. Волкова ОВ, Елецький ЮК. Основы гистологии с гистологической техникой. М.: Медицина; 1982. 304 (*Volkova OM, Yeletskeyi UK. Basics of histology with histological technique. M.: Medicine; 1982. 304*). 15. Singer AJ, McClain SA, Taira BR, Guerriero JL, Zong W. Apoptosis and necrosis in the ischemic zone adjacent to third degree burns. *Acad Emerg Med*. 2008;15(6):549-54. 16. Galani V, Tatsaki E, Bai M, Kitsoulis P, Lekka M, Nakos G, Kanavaros P. The role of apoptosis in the pathophysiology of Acute Respiratory Distress Syndrome (ARDS): an up-to-date cell-specific review. *Pathol Res Pract*. 2010;206(3):145-50. 17. Donahoe M. Acute respiratory distress syndrome. A clinical review *Pulm Circ*. 2011;1(2):192-211. 18. Гусак ВК, Фисталь ЭЦ, Сперанский ИИ, Гринь ВК, Коломоец ЛІ, Бердо ЛМ. Оценка тяжести эндогенной интоксикации и выбор метода детоксикационной терапии у обожженных по данным лейкоцитограммы и биохимического мониторинга. Клиническая лабораторная диагностика. 2000;10:36 (*Gusak VK, Fistal ES, Speranskyi II, Grin VK, Kolomojets LI, Berdo LM. Assessment of the severity of endogenous intoxication and the choice of the method of detoxification therapy feces leukocytoagrams and biochemical monitoring according to data. Wedge Lab. Diagnostics. 2000;10:36*). 19. Ерохина ВВ, Романова ЛК. Клеточная биология легких в норме и при патологии: руководство для врачей. М.: Медицина; 2000. 494 (*Erokhina VV, Romanova LK. Cellular biology of the lungs in norm and in pathology: a manual for doctors. M.: Medicine; 2000. 494*).

Стаття надійшла до редколегії 24.07.2018

RESEARCH ARTICLE

The Rationale for the Safety of Colloid-Hyperosmolar Solutions for the Correction of the Functional State of the Body and Lungs in the Experiment on Rats

A.A. OCHERETNIUK¹, B.A. KONDRATSKYI², O.V. PALAMARCHUK¹,
V.A. VASHCHUK¹

¹ Vinnytsia National M.I. Pirogov Memorial Medical University of the Ministry of Health of Ukraine, Vinnytsia, Ukraine

² PI (Public Institution) "The Institute for Blood Pathology and Transfusion Medicine of the Academy of Medical Sciences of Ukraine", Lviv, Ukraine

E-mail: anna.ocheretniuk@gmail.com, b.kondr@gmail.com

Introduction. The experimental investigation is concerned with the preclinical study of safety of colloid-hyperosmolar solution HAES-LX-5% application, the comparative preparation - protein-salt solution of Lactoprotein with sorbitol (LPS) and the control solution of 0.9% NaCl on intact rats.

Purpose. The effect of solutions on some indicators of the functional body state and rats' lungs in the organ and cellular levels was investigated.

Results. Significant differences ($p < 0.05$) in the dynamics of animals body weight against the background of solutions administration in comparison with intact animals during the period from 72 to 168 hours were established, indicating the absence of toxic effects of drugs on general trophic processes, as well as the presence of hydration and energy effect preparations. When assessing the state of detoxification processes in the rats' bodies according to the leukocyte intoxication index (LII), it was discovered that the administration of all three solutions (0.9 % NaCl, LPS and HAES-LX-5%) to animals did not lead to significant changes ($p > 0,05$) of LII indicator relative to the intact control during the entire study period.

The influence of solutions on the lungs state according to the macrometric (absolute and relative mass, volume) and macroscopic (color, surface, consistency, presence of hemorrhages)

indices was studied. It has been established that there are no significant differences in the volume, absolute and relative mass of rats' lungs from 24 to 168 hours as compared to intact animals. According to the macroscopic indices, the organ state of animals administered with infusion preparations was similar to that of intact control animals, indicating the absence of toxic effects of infusion solutions on the state of rats' lungs.

The following phases of the cell cycle: proliferative dormancy (G_0G_1), proliferative activity (G_2+M), synthesis (S), proliferation index (IP), proliferation block (BP), index of apoptosis (SUB- G_0G_1) were determined to assess the possible effect of solutions on the cell cycle and DNA fragmentation parameters in rats. The differences between the pharmacodynamic effects of the three solutions have not been found, which allows us to consider them neutral in regard to the processes of cellular renewal in intact rats. On DNA histograms of rats receiving solutions, there was no significant difference between similar cell cycle parameters and DNA fragmentation at all study periods (24-72-168 hours). This indicates the absence of any undesirable effects of the analysed drugs.

Conclusions. Thus, it has been experimentally proved that the preparations of HAES-LX-5%, LPS and 0.9 % NaCl in a dose of 10 ml/kg for 168 hours have no negative effect on general trophic and detoxification processes in animals. The solutions did not cause statistically significant changes in the absolute and relative mass and volume of rats' lungs, as well as the macroscopic state of animals' lungs. The absence of negative influence of the investigated solutions on the processes of proliferation and apoptosis in the rats' lungs was confirmed.

Key words: infusion therapy, colloid-hyperosmolar solutions, hydroxyethyl starch, lacto-protein with sorbitol, safety.