

DOI: 10.15825/1995-1191-2017-3-46-52

ИСПЫТАНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ОБРАЗЦА НОСИМОГО АППАРАТА «ИСКУССТВЕННАЯ ПОЧКА»

Н.А. Базаев¹, В.М. Гринвальд¹, С.В. Селищев¹, А.В. Калинов⁴, А.В. Козачук⁴,
В.В. Косаткин², Ф.Ф. Тюндер³, Д.В. Федерякин⁴

¹ Национальный исследовательский университет «МИЭТ», Москва, Российская Федерация

² ГБУЗ «Областная клиническая больница», Тверь, Российская Федерация

³ НУЗ «Центральная клиническая больница № 2 им. Н.А. Семашко» ОАО «РЖД», Москва, Российская Федерация

⁴ ФГБОУ ВО «Тверской государственной медицинский университет» Минздрава России, Тверь, Российская Федерация

Цель. В статье представлены результаты медико-биологических испытаний носимого аппарата «искусственная почка» на основе перитонеального диализа с постоянной регенерацией диализирующего раствора. **Материалы и методы.** Испытания проводились на собаке весом 15 кг. На первом этапе проводился диализ собаке с работающими почками для оценки влияния аппарата на биохимические параметры крови. На втором этапе собаке введено 200 мл рентгеноконтрастного вещества, для того чтобы вызвать острую почечную недостаточность. **Результаты.** В ходе испытаний аппарат производил непрерывный перитонеальный диализ с регенерацией диализного раствора в течение 39,5 часа. За время второго этапа (34 часа) из диализирующего раствора удалялся креатинин и мочевая кислота со скоростью 0,3 мг/ч и мочевины со скоростью 0,15 г/ч, общий объем удаленного ультрафильтрата составил 350 мл. По окончании второго этапа испытаний биохимические показатели крови стабилизировались до нормальных значений. **Заключение.** Разработанный аппарат позволяет производить искусственное очищение крови с ультрафильтрацией, не оказывая патологического воздействия на биохимические показатели крови.

Ключевые слова: носимый аппарат «искусственная почка», постоянный перитонеальный диализ с регенерацией диализирующего раствора, медико-биологические испытания.

EXPERIMENTAL RESEARCH OF WEARABLE ARTIFICIAL KIDNEY

N.A. Bazaev¹, V.M. Grinvald¹, S.V. Selishchev¹, A.V. Kalinov⁴, A.V. Kozachuk⁴,
V.V. Kosatkin², F.F. Tyunder³, D.V. Federyakin⁴

¹ National Research University of Electronic Technology «MIET», Moscow, Russian Federation

² Regional Clinical Hospital, Tver, Russian Federation

³ N.A. Semashko Central Clinical Hospital 2 of JSC Russian Railways, Moscow, Russian Federation

⁴ Tver State Medical University, Tver, Russian Federation

Aim. The article presents the results of wearable artificial kidney (WAK) biomedical trial based on peritoneal dialysis with continuous dialysate regeneration. **Materials and methods.** The trial was carried out on a 15-kg dog. First stage: dialysis was carried out on healthy dog to evaluate effect of WAK on blood biochemical indicators. Second stage: 200 ml of X-ray contrast agent was injected into dog's bloodstream to simulate acute kidney failure. **Results.** During trial (39.5 hours) WAK was performing continuous peritoneal dialysis with dialysis fluid regeneration. During second stage (34 hours) creatinine and uric acid were eliminated from dialysis solution at the rate of 0.3 mg/h, urea was eliminated at the rate of 0.15 g/h, total removed ultrafiltrate volume was 350 ml. At the end of the second stage blood biochemical indicators stabilised in the range of normal values. **Conclusion.** Developed WAK can perform continuous blood purification and ultrafiltration with no pathologic impact on blood biochemical indicators.

Key words: wearable artificial kidney, continuous peritoneal dialysis with dialysis fluid regeneration, biomedical trial.

Для корреспонденции: Базаев Николай Александрович. Адрес: 124498, Москва, г. Зеленоград, площадь Шокина, д. 1. Тел. (925) 049-14-54. E-mail: bazaev-na@yandex.ru.

For correspondence: Bazaev Nikolai Alexandrovich. Address: 1, Shokin Sq., Zelenograd, Moscow, 124498, Russian Federation. Tel. (925) 049-14-54. E-mail: bazaev-na@yandex.ru

ВВЕДЕНИЕ

Заместительная почечная терапия является основным способом поддержания жизни пациентов, страдающих хронической почечной недостаточностью. В настоящее время в мире несколькими коллективами ведутся работы по созданию прототипа носимого аппарата для внепочечного очищения крови [1, 2]. Носимый аппарат «искусственная почка» по сравнению с гемодиализной аппаратурой обладает следующими достоинствами: повышение мобильности пациента за счет снижения массогабаритных характеристик, носимого исполнения и автономности аппарата, повышение физиологичности процедуры (скорость удаления метаболитов сравнима со скоростью их образования), снижение расхода ресурсов (за одну процедуру используется 2 л диализата вместо 150 л при гемодиализе), снижение стоимости и повышение обеспеченности пациентов диализом (~€ 60 000 против ~€ 80 000 на пациента в год).

Разработан, изготовлен и испытан экспериментальный образец носимого аппарата «искусственная почка». Аппарат реализует метод перитонеального диализа (ПД) с регенерацией отработанного диализата в экстракорпоральном контуре и состоит из гидравлического контура, реализующего рециркуляцию и регенерацию диализата, и электрического контура, реализующего управление ходом процедуры, системой в целом и связь со смартфоном, отображающим пользовательский интерфейс. Функциональная схема биотехнической системы внепочечного очищения крови с помощью разработанного аппарата представлена на рис. 1.

Носимый аппарат «искусственная почка» включает в себя блок управления, аккумуляторную батарею, насосные модули, блок регенерации диализата, магистраль и смартфон. В блок регенерации входят электролизер, дегазатор и сорбционные колонки. Регенерация диализирующего раствора осуществляется путем комбинации сорбционного метода и электролиза. В качестве сорбента используется ФАС, в контуре использовались 2 сорбционные колонки, каждая из которых содержала 35 г сорбента. Электролизер включает в себя 24 титановых электрода с платиновым покрытием общей площадью 1200 см². Насосные модули представляют собой два роликовых насоса Thomas SR10/50 для перемещения диализата в контурах по раствору перитонеального диализа и в контуре по диализату. Данные контуры разделяются диализатором с небольшой площадью поверхности мембран (в эксперименте использовался гемофильтр Aquamax HF03, Baxter). Также возможно использование насоса-дозатора для добавления корректирующего раствора, например, раствора осмотического агента (в ходе эксперимента не использовался). Экстракорпоральная магистраль изготовлена из ПВХ-трубок с внутренним/внешним диаметром 4,6/6,3 мм, а также тройников, разъемов, фильтров и безыгольных соединений компании Promerla (Монако). Экстракорпоральная магистраль крепится к двум установленным в брюшине катетерам для перитонеального диализа (B Braun Celsite T203J, Германия): один используется для забора диализата из брюшной полости, а второй – для возврата очищенного раствора. Управление аппаратом осуществляется с помощью приложения на смартфоне.

Разработанный носимый аппарат «искусственная почка» представляет собой рюкзак с расположенными в нем электрическими и гидравлическими элементами, указанными на функциональной схеме (рис. 1). Масса аппарата составляет 3,5 кг, управление осуществляется с помощью приложения на смартфоне.

Разработанный носимый аппарат «искусственная почка» представляет собой рюкзак с расположенными в нем электрическими и гидравлическими элементами, указанными на функциональной схеме (рис. 1). Масса аппарата составляет 3,5 кг, управление осуществляется с помощью приложения на смартфоне.

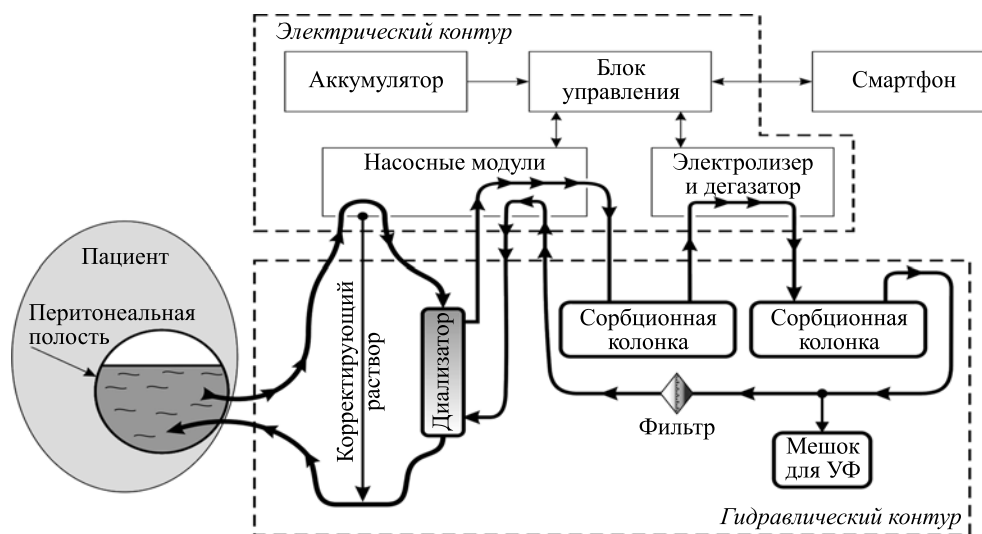


Рис. 1. Функциональная схема аппарата. УФ – ультрафильтрат

Fig. 1. Functional scheme of WAK. УФ – ultrafiltrate

ние может осуществляться как в сервисном режиме с расширенными возможностями с ноутбука, так и со смартфона. Лабораторные испытания *in vitro* показали, что аппарат позволяет удалять из диализирующего раствора мочевины с массовой скоростью от 0,5 до 1,2 г/ч, креатинин и мочевую кислоту с массовыми скоростями до 0,3 мг/ч. Экспериментальные исследования показали возможность использования расходных материалов в течение 24 часов и более. Также в ходе лабораторных испытаний были проведены исследования газовой фазы и гипохлорита натрия. Концентрация гипохлорита натрия после 6 часов регенерации раствора для перитонеального диализа составила 0,026 ммоль/л. Анализ газовой фазы показал наличие в основном угарного газа в концентрации, не представляющей угрозы для человека, содержание аммиака составило 1 мг/м³ (предельно допустимая концентрация аммиака в воздухе составляет 20 мг/м³). Все это позволяет говорить о безопасности и допустимости проведения испытаний аппарата на животной модели.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работах [3, 4] указано, что собаки являются подходящей животной моделью для оценки эффективности ПД. На заседании этического комитета ФГБОУ ВО «Тверской ГМУ» МЗ РФ от 08.11.16 члены комиссии одобрили представленные документы без замечаний, проведение исследования на собаке было одобрено единогласно. В качестве лабораторного животного была выбрана собака массой 15 кг. Критерии выбора: здоровое животное с достаточной массой тела, и как следствие, объемом брюшной полости для проведения эффективного ПД. В брюшную полость открытым доступом были установлены 2 катетера Тенкхоффа для проведения перитонеального диализа. Катетеры были подключены к экстракорпоральному контуру аппарата.

В ходе исследования собака пила, принимала пищу, для предупреждения непреднамеренных повреждений аппарата и магистралей применялась стандартная медикаментозная седация по показаниям.

Для интраперитонеальных заливок использовались следующие растворы:

- Экстранил (Baxter International Inc. США), состав на 1 л: икодекстрин 75 г, NaCl 5,4 г, C₃H₅NaO₃ 4,5 г, CaCl₂·H₂O 0,257 г, MgCl₂·6H₂O 0,051 г; ионный состав: Na⁺ 133,0 ммоль/л, Ca²⁺ 1,75 ммоль/л, Mg²⁺ 0,25 ммоль/л, Cl⁻ 96 ммоль/л, pH 5–6;
- Баланс 1,5% (Fresenius Medical Care Deutschland GmbH, Германия), состав на 1 л: глюкоза 16,5 г, NaCl 5,64 г, C₃H₅NaO₃ 3,925 г, MgCl₂·6H₂O 0,1017 г; ионный состав: Na⁺ 134,0 ммоль/л, Ca²⁺

1,25 ммоль/л, Mg²⁺ 0,5 ммоль/л, Cl⁻ 100,5 ммоль/л, pH 6,8–7,4.

Лабораторные методы исследования: забор крови и оценка лабораторных показателей (креатинин, электролиты, общий белок с фракциями) с помощью картриджного анализатора i-STAT Handheld Blood Analyzer (Abbott, США); забор образцов отработанного раствора для перитонеального диализа и замер концентраций основных маркеров диализа (мочевины, креатинина, мочевой кислоты) с помощью биохимического анализатора StatFax 3300 (Awareness Technology, США) и концентраций ионов (Na⁺, K⁺, Cl⁻, Ca²⁺) с помощью анализатора электролитов АЭК-01 (КвертиМед, РФ).

Испытания аппарата проводились в два этапа.

1. Лабораторное животное со здоровыми почками (для оценки воздействия аппарата исключительно на биохимические параметры крови) – первый этап эксперимента длительностью 8 часов. Вначале было проведено заполнение перитонеальной полости раствором Баланс 1,5% (0,6 л в полости, 0,4 л в магистрале аппарата), через 2 ч аппарат был включен без электролиза, затем через 5 ч был включен электролиз на 30 мин.
2. Лабораторное животное с острой почечной недостаточностью (для оценки эффективности функционирования аппарата с точки зрения искусственного очищения организма). Для того чтобы вызвать острую почечную недостаточность, лабораторному животному было введено 200 мл рентгеноконтрастного вещества, которое вызывает обструкцию почечных канальцев и временную острую почечную недостаточность. Проводилась непрерывная циклическая очистка раствора для перитонеального диализа, с периодическим включением электролизера для элиминации мочевины. Использовались два раствора: Экстранил и Баланс 1,5% (0,6 л в полости, 0,4 л в магистрале аппарата).

Контраст-индуцированная нефропатия (КИН) – ятрогенное острое повреждение почек, возникающее после внутрисосудистого введения йодсодержащего рентгеноконтрастного препарата, при исключении других альтернативных причин.

КИН диагностируется при наличии одного из критериев:

- повышение креатинина сыворотки (SCr) на $\geq 26,5$ мкмоль/л от исходного уровня в течение 48 часов или
- повышение SCr в 1,5 раза по сравнению с известным исходным уровнем в течение недели до исследования.

Полагают, что КИН возникает в результате синергической комбинации нарушения почечной гемодинамики (вазоконстрикция с медуллярной ишемией) и прямого токсического действия РКП на эпители-

альные клетки канальцев. Могут быть задействованы оба механизма – осмотический и химический (токсический), предполагают также наличие агент-специфической химической токсичности [5, 6].

В ходе проведения второго этапа испытаний было зарегистрировано повышение концентрации креатинина в крови до 162 мкмоль/л. Кроме того, на протяжении всего второго этапа испытаний у лабораторного животного была анурия. Это позволяет сделать заключение о наступлении ОПН у лабораторного животного в ходе второго этапа испытаний.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты испытаний на модели здорового организма представлены на рис. 2–3 и в табл. 1.

На рис. 2 представлена динамика мочевины в растворе для перитонеального диализа. Ввиду того что сорбент не элиминировал мочевины в течение первых 6 часов и 45 минут, происходило ее накопление в растворе. После включения электролиза за час концентрация мочевины уменьшилась на 2,54 ммоль/л (массовая скорость элиминации

150 мг/ч). В то же время используемый сорбент хорошо элиминировал креатинин и мочевую кислоту (рис. 3). В первые три часа регенерация раствора для перитонеального диализа не осуществлялась, вследствие чего наблюдался рост концентрации метаболитов в растворе для перитонеального диализа. После включения аппарата были отмечены снижение концентрации креатинина и мочевой кислоты и их стабилизация на уровне 35 ммоль/л. Анализ концентрации ионов показал их незначительные изменения в ходе испытания, pH раствора сдвинулся в щелочную область.

За время эксперимента биохимические показатели крови изменились незначительно, однако остались в диапазоне нормальных значений. Таким образом, можно утверждать, что работа аппарата «искусственная почка» в течение 5 часов не ухудшила состояния животного, а также позволила улучшить коэффициент полезного действия раствора для перитонеального диализа. По графику на рис. 3 можно оценить количество креатинина и мочевой кислоты, удаляемых в ходе стандартной процедуры перитонеального диализа – 75 и 55 мкмоль

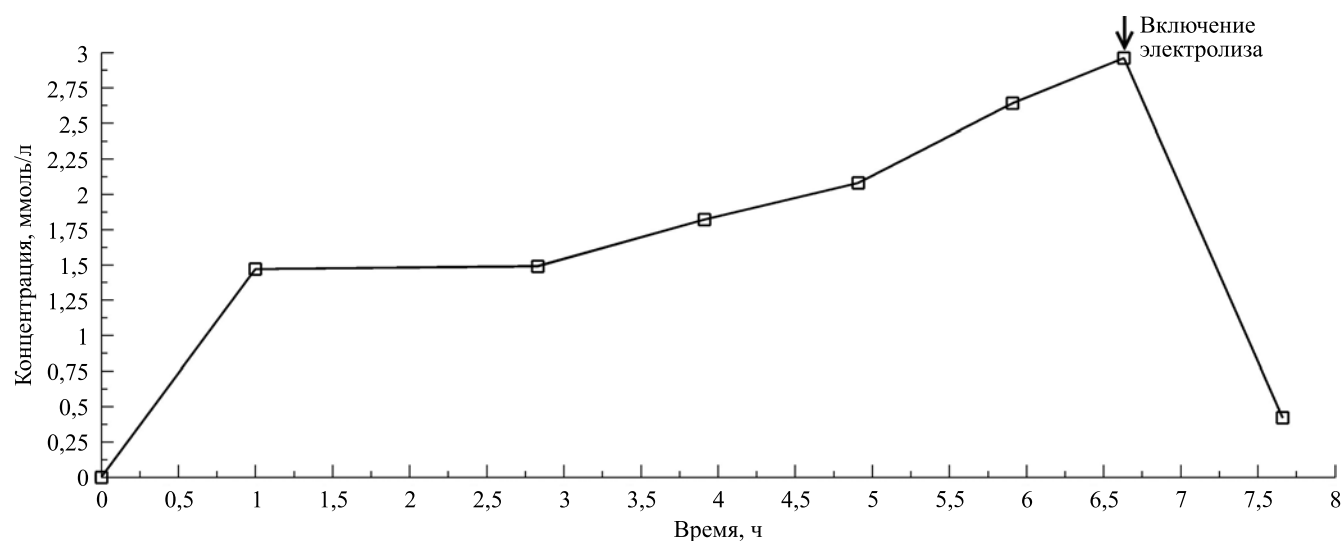


Рис. 2. Динамика концентрации мочевины в диализате во время испытаний аппарата на здоровом биологическом объекте

Fig. 2. Urea concentration dynamics in dialysate during experiment in healthy biological object

Таблица 1

Показатели биохимического анализа крови здорового биологического объекта (в скобках указаны референсные значения для собак)

Blood biochemical analysis of healthy biological object (reference values for dogs are in brackets)

Показатель	Время	
	00:00	7:40
K ⁺ , ммоль/л (4,3–6,2)	4,4	4,8
Na ⁺ , ммоль/л (138,0–164,0)	149,0	158,6
Общий белок, г/л (40,0–73,0)	70,0	63,0
Креатинин, мкмоль/л (26,0–120,0)	96,0	74,0

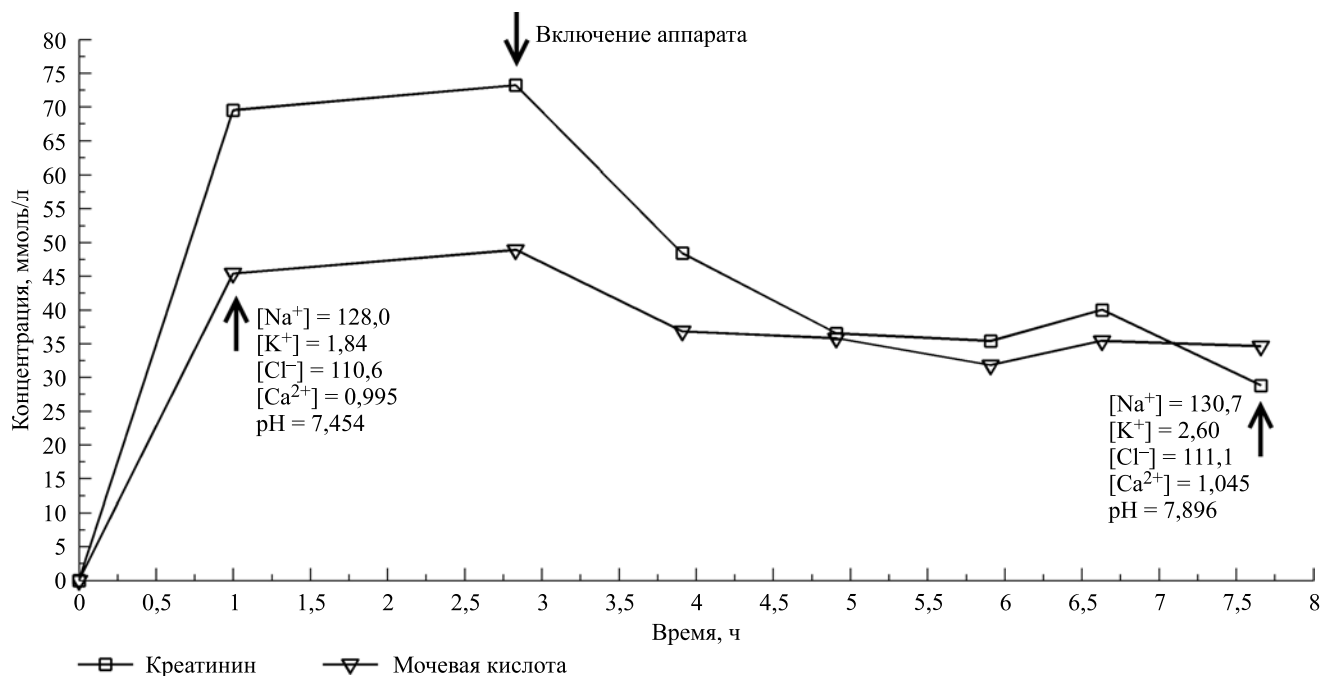


Рис. 3. Динамика концентрации креатинина, мочевой кислоты, ионов и pH в диализате во время испытаний аппарата на здоровом биологическом объекте

Fig. 3. Creatinine, uric acid, ions and pH concentrations dynamics in dialysate during experiment in biological object

соответственно. В то время как использование носимого аппарата «искусственная почка» позволяет удалить за те же 6 часов 145 и 85 мкмоль креатинина и мочевой кислоты соответственно.

Результаты испытаний на животной модели с острой почечной недостаточностью представлены на рис. 4–5 и в табл. 2.

На рис. 4 представлена динамика концентрации мочевины в растворе для перитонеального диализа. Следует отметить, что включение электролизера приводило к резкому уменьшению концентрации мочевины. Также заслуживает внимания то, что по окончании электролиза на 27-м часу эксперимента наблюдалась стабилизация концентрации мочевины на уровне 3 ммоль/л, что соответствует максимальной концентрации мочевины в эксперименте со здоровыми почками и может свидетельствовать о восстановлении функции почек. В течение вто-

рого этапа испытаний средняя скорость удаления мочевины из организма лабораторного животного составила около 50 мг/ч, при этом аппарат позволял в ходе электролиза убирать из раствора мочевины с массовой скоростью 150 мг/ч, а здоровые почки у собак со сравнимой массой тела выделяют мочевины со скоростью около 250 мг/ч.

На рис. 5 представлена динамика концентраций мочевой кислоты и креатинина. В целом следует отметить, что происходит стабилизация их концентраций в диапазоне от 25 до 35 ммоль/л с временными скачками в область высоких концентраций – 30–50 ммоль/л. Анализ концентрации креатинина и мочевой кислоты до и после блока регенерации позволяет судить о том, что они сокращаются в два раза после однократного прохождения через него. Таким образом, в ходе эксперимента было удалено 110 мг креатинина и 190 мг мочевой кислоты. Аналогич-

Таблица 2

Показатели биохимического анализа крови биологического объекта с острой почечной недостаточностью (в скобках указаны референсные значения для собак)

Blood biochemical analysis of biological object with acute kidney failure (reference values for dogs are in brackets)

Показатель	Время		
	09:30	17:30	33:30
K ⁺ , ммоль/л (4,3–6,2)	3,9	3,9	4,1
Na ⁺ , ммоль/л (138,0–164,0)	149,0	150,4	146,0
Общий белок, г/л (40,0–73,0)	59,0	60,0	45,0
Креатинин, мкмоль/л (26,0–120,0)	129,0	162,0	44,0

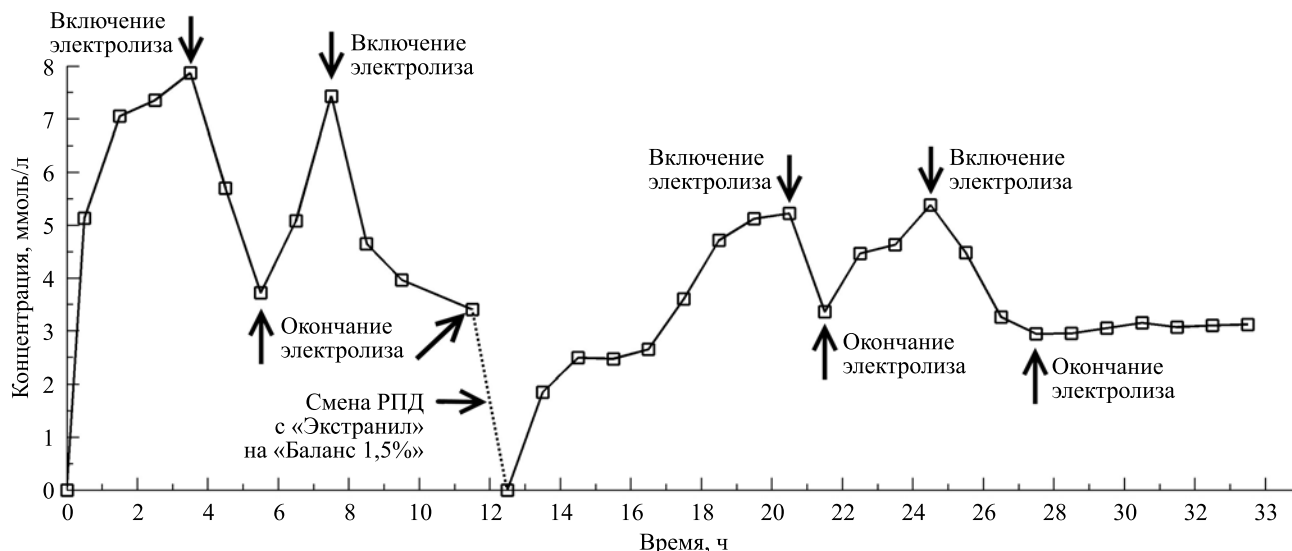


Рис. 4. Динамика концентрации мочевины в диализате во время испытаний аппарата на биологическом объекте

Fig. 4. Urea concentration dynamics in dialysate during experiment in biological object

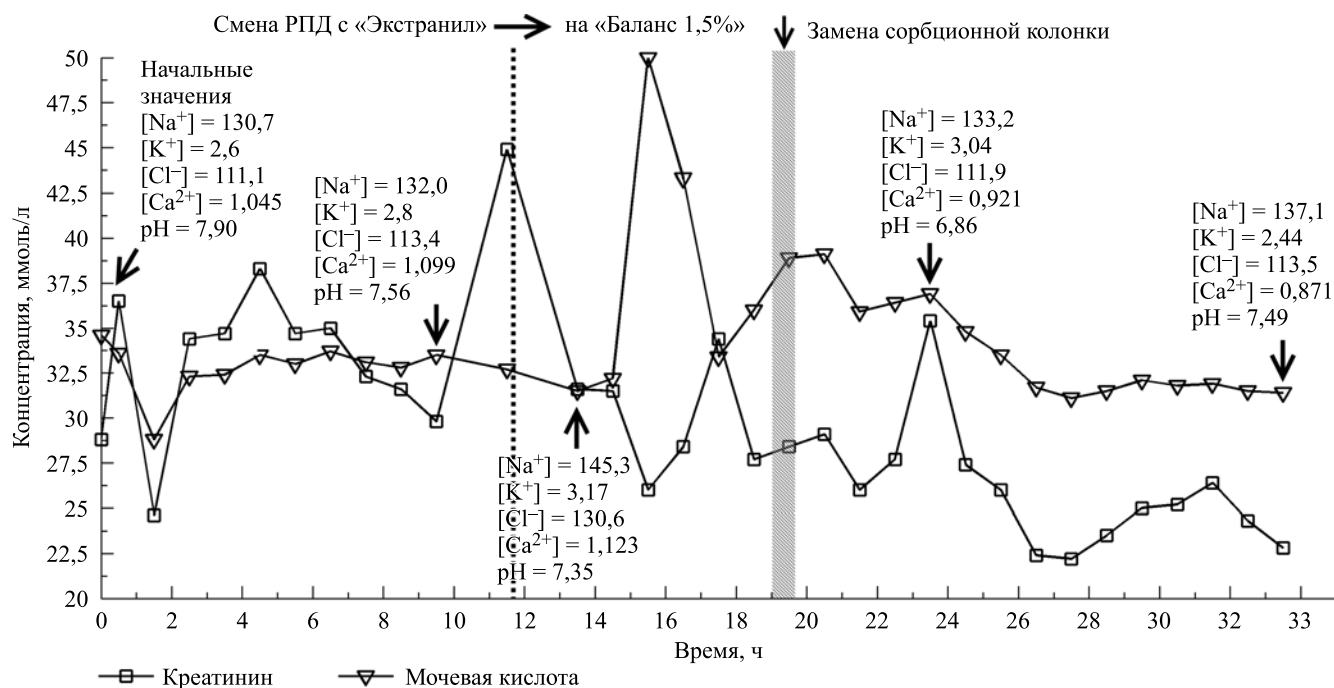


Рис. 5. Динамика концентрации креатинина, мочевой кислоты, ионов и pH в диализате во время испытаний аппарата на биологическом объекте

Fig. 5. Creatinine, uric acid, ions and pH concentrations dynamics in dialysate during experiment in biological object

ные показатели уменьшения концентраций были получены и в ходе лабораторных экспериментов: независимо от начальной концентрации метаболита в случае постоянного его добавления в раствор (для поддержания исходной концентрации) концентрация метаболита в растворе стабилизировалась на уровне $1/2$ от исходного значения.

Ионный состав растворов для перитонеального диализа был в диапазоне $\pm 10\%$ от исходного значения, pH раствора стабилизировался около нормаль-

ных значений pH крови, без скачков в щелочную или кислотную области. Показатели биохимического анализа крови также подтверждают стабильное состояние лабораторного животного на протяжении всего времени испытаний.

За время проведения эксперимента по медицинским показаниям было удалено 350 мл ультрафильтрата.

У собаки была вызвана острая почечная недостаточность, что подтверждается биохимическими

анализами крови и динамикой концентраций метаболитов в диализирующем растворе. После 34 ч диализа с помощью носимого аппарата «искусственная почка» у собаки нормализовались биохимические показатели крови. Эксперимент был остановлен по факту нормализации биохимических параметров крови.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Были проведены медико-биологические испытания носимого аппарата «искусственная почка» на животной модели. Испытания на здоровом животном показали, что аппарат не оказывает патологического воздействия на биохимические показатели крови, позволяет производить элиминацию метаболитов из раствора для перитонеального диализа. В ходе испытаний на животном с ОПН достигнуты следующие показатели очищения диализирующего раствора: массовая скорость удаления мочевины из отработанного раствора для перитонеального диализа 0,15 г/ч, массовые скорости удаления креатинина и мочевой кислоты 0,3 мг/ч. Ожидается, что эффективность очищения крови у пациентов с ХПН будет в 2–4 раза выше. Это связано с большей площадью перитонеальной мембраны у человека и большим объемом раствора для перитонеального диализа в перитонеальной полости. В ходе лабораторных испытаний *in vitro* было показано, что при проведении перитонеального диализа с помощью аппарата скорость удаления метаболитов достаточна для поддержания стабильного состояния организма при острой почечной недостаточности (скорость удаления мочевины от 0,5–1,2 г/ч, креатинина и мочевой кислоты до 0,3 мг/ч).

Тем не менее, несмотря на достаточно хорошие результаты, полученные в ходе эксперимента, следует отметить необходимость в проведении дополнительных исследований. В частности, необходимо провести дополнительные углубленные исследования электролиза отработанного диализирующего

раствора, продолжать поиск материалов для изготовления электродов для замещения драгоценных металлов, а также продолжать исследования возможностей еще большей стабилизации pH и ионного состава раствора для перитонеального диализа.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ, идентификатор проекта: REMEF157814X0011.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Armignacco P, Garzotto F, Neri M, Lorenzin A, Ronco C.* WAK Engineering Evolution. *Blood Purification.* 2015; 39 (1–3): 110–114. doi: 10.1159/000368955. PMID: 25659421.
2. *Ronco C, Fecondini L.* The Vicenza Wearable Artificial Kidney for Peritoneal Dialysis (ViWAK PD). *Blood Purification.* 2007 Mar; 25 (4): 383–388. doi: 10.1159/000107775. PMID: 17785968.
3. *Nikitidou O, Peppas VI, Leivaditis K, Eleftheriadis T, Zargiannis SG, Liakopoulos V.* Animal models in peritoneal dialysis. *Frontiers in Physiology.* 2015 Jan; 6. doi: 10.3389/fphys.2015.00244. PMID: 26388781.
4. *Wieczorowska-Tobis K, Breborowicz A, Pawlaczyk K, Kuzlan-Pawlaczyk M, Polubinska A, Oreopoulo DG.* Animal models for peritoneal dialysis. *Peritoneal dialysis international.* 1999; 19 (Suppl. 2): S189–S192. PMID: 10406517.
5. European Renal Best Practice (ERBP) position statement on the Kidney Disease Improving Global Outcomes (KDIGO) Clinical Practice Guidelines on Acute Kidney Injury: Part 1: definitions, conservative management and contrast-induced nephropathy. The ad-hoc working group of ERBP: D. Fliser, M. Laville, A. Covic et al. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2012; 27 (12): 4263–4272.
6. *Newhouse JH, Kho D, Rao QA, Starren J.* Frequency of serum creatinine changes in the absence of iodinated contrast material: implications for studies of contrast nephrotoxicity. *Am. J. Roentgenol.* 2008 Aug; 191 (2): 376–382.

*Статья поступила в редакцию 20.03.2017 г.
The article was submitted to the journal on 20.03.2017*