

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

УДК 617-001.3/6-06:616.36-08

©М. М. Корда, О. О. Кулянда, В. Ю. Габрусев¹

**ДВНЗ “Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського”
Тернопільський національний педагогічний університет імені Володимира Гнатюка¹**

ОЦІНКА ЕФЕКТИВНОСТІ КОМПЛЕКСНОЇ КОРЕКЦІЇ УРАЖЕННЯ ПЕЧІНКИ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ПОЛІТРАВМІ

ОЦІНКА ЕФЕКТИВНОСТІ КОМПЛЕКСНОЇ КОРЕКЦІЇ УРАЖЕННЯ ПЕЧІНКИ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ПОЛІТРАВМІ – Метою статті стало оцінити ефективність запропонованої комплексної корекції ураження печінки при експериментальній політравмі у щурів за допомогою прогностичного коефіцієнта К із врахуванням зміни основних маркерів ураження печінки, а саме: АлАТ, АсАТ та лужної фосфатази. Показано, що запропонована математична модель дає можливість оцінити ефективність методу медикаментозної корекції у певний період травматичної хвороби.

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ КОМПЛЕКСНОЙ КОРРЕКЦИИ ПОРАЖЕНИЯ ПЕЧЕНИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ПОЛИТРАВМЕ – Целью статьи стало оценить эффективность предложенной комплексной коррекции поражения печени при экспериментальной политравме у крыс с помощью прогностического коэффициента К с учетом изменения основных маркеров поражения печени, а именно: АлАТ, АсАТ и щелочной фосфатазы. Показано, что предложенная математическая модель дает возможность оценить эффективность метода медикаментозной коррекции в определенный период травматической болезни.

EVALUATION OF COMPREHENSIVE LIVER CORRECTION DAMAGE IN EXPERIMENTAL MULTIPLE TRAUMA – Purpose of the article was to evaluate the effectiveness of the proposed integrated correction of liver injury in experimental multiple trauma in rats using a predictive factor K, taking into account changes in key markers of liver damage, such as ALT, AST and alkaline phosphatase. It is shown that the mathematical model makes it possible to assess the effectiveness of the drug correction in a period of traumatic disease.

Ключові слова: політравма, печінка, АлАТ, АсАТ, ЛФ, корекція.

Ключевые слова: политравма, печень, АлАТ, АсАТ, ЩФ, коррекция.

Key words: polytrauma, liver, ALT, AST, alkaline phosphatase.

ВСТУП Результати лікування постраждалих свідчать, що політравма відрізняється тяжкістю клінічного перебігу і високою летальністю [9, 3, 5, 13]. Зокрема, у печінці при критичному стані виникають ознаки жирової дистрофії, порушення білкового обміну [10, 12]. При цьому, пригнічення функціонування

системи детоксикації організму швидко призводить до виражених порушень процесів дезамінування, зниження активності та вмісту основних компонентів монооксигеназної системи гепатоцитів [1]. Встановлено виражене зниження активності анілінгідроксилази й амідопірин-М-метиلاзи, а також вмісту в печінці мікросомальних білків, у тому числі цитохромів Р-450 і В5, що свідчить про формування так званого цитолітичного синдрому і розвитку “traumatic hepatitis” [11].

Гіперферментемію в умовах травматичного пошкодження прийнято розцінювати як неспецифічну реакцію організму на вплив зовнішнього фактора надлишкової інтенсивності з порушенням проникності біомембран та ішемізації клітин. Підвищення рівня АлАТ, АсАТ, гаммаглутамілтранспептидази спостерігається на тлі збільшення вмісту загального білірубину, сечовини, креатиніну, ліпідів [8]. У міру залучення в процес паренхіми печінки відзначається зниження активності аденозиндезамінази [7] і лужної фосфатази [4], що може свідчити про розвиток гострої печінкової недостатності.

Метою роботи було оцінити ефективність запропонованої комплексної корекції ураження печінки при експериментальній політравмі у щурів.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ З метою реалізації поставлених завдань проведено досліди на 170 білих статево-зрілих нелінійних щурах-самцях, яких утримували на стандартному раціоні віварію ДВНЗ “Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України”. Умови утримання тварин відповідали правилам, які рекомендовані Європейською конвенцією із захисту хребетних тварин, що використовуються для наукових цілей (Страсбург, 1986).

Експериментальних тварин з вихідною масою 170–180 г рандомізували методом випадкової вибірки. Усіх піддослідних тварин поділили на групи, які наведені у таблиці 1.

Досліди проводили відповідно до положень Загальних етичних принципів експериментів на тваринах, ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001) [2], Європейської конвенції про

Таблиця 1. Поділ експериментальних тварин на групи за засобами корекції, які застосовували

Умова досліду	Група тварин	Біохімічні та гістологічні дослідження (кількість тварин)
Засіб для корекції	Контроль	10
	Травмовані тварини з політравмою без корекції (1 група)	32
	Корекція пентоксифіліном (2 група)	32
	Корекція 1400 W (3 група)	32
	Корекція ліпофлавоном (4 група)	32
	Корекція комплексом (5 група)	32
Усього		170

захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986) та вимог комісії з біоетики ДВНЗ "Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України" (протокол № 15 від 8.01.2013 р.).

У першій групі було відтворено модель політравми. Під тіопентало-натрієвим знеболюванням (40 мг на кілограм маси) в асептичних умовах у тварин викликали кровотечу зі стегової вени (близько 20 % об'єму циркулюючої крові), 1 мл якої вводили у паранефральну клітковину для відтворення ендогенної інтоксикації. Далі щипцями Люера ламали ліву стегонову кістку.

Декапітацію тварин проводили під тіопенталовим наркозом через 24 год після останнього введення засобів корекції. Для дослідження використовували плазму крові, сироватку крові, гомогенат печінки та тканину печінки для гістологічного дослідження.

Коригуючі чинники вводили внутрішньочеревно один раз на добу щоденно протягом семи днів відповідно до моделі ураження та її корекції.

Селективний інгібітор iNOS – N-(3-(амінометил)-бензил)ацетамідин (1400 W) ("Sigma", USA) вводили одноразово у дозі 1,5 мг/кг. Пентоксифілін вводили одноразово у вигляді 2 % водного розчину в дозі 25 мг/кг. Ліпофлавіон вводили щоденно в дозі 25 мг/кг маси тварини.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ Введення тваринам комплексу препаратів вже на першу добу призвело до зниження активності АлАТ та АсАТ у плазмі крові тварин. Так, на першу добу рівень АлАТ знижувався на 30,35 %, а рівень АсАТ був на 34,40 % нижчим від травмованих тварин без проведення корекції. При повторному введенні комплексу препаратів на третю і сьому доби активність трансаміназ була достовірно нижчою, ніж у відповідні

строки у групі тварин, яким не проводили корекцію. Так, на третю добу АлАТ як і АсАТ були на 40,84 та 35,84 % нижчими, а на сьому відповідно на 55,81 і 47,74 % відповідно (табл. 2).

Також слід відмітити, що на першу і на третю доби експерименту ми не виявили достовірної різниці між показниками активності цитозольних ферментів залежно від методу медикаментозної корекції. Лише у другій групі тварин, де проводилась корекція пентоксифіліном, на першу добу активність АлАТ була достовірно нижчою за відповідний показник п'ятої групи, де була застосована комплексна корекція.

Проте на сьому добу ми отримали іншу динаміку. Після комплексної корекції активність АлАТ і АсАТ була достовірно нижчою за відповідні показники у другій, третій та четвертій групах спостережень.

Таким чином, можна зробити висновок, що вибраний комплекс препаратів має триваліший терапевтичний ефект, ніж монотерапія з максимумом ефективності на сьому добу експерименту.

Про стан мембранних структур гепатоцитів після комплексної медикаментозної корекції свідчать результати досліджень органоспецифічного ферменту – лужної фосфатази в гомогенаті печінки.

Результати, наведені в таблиці 3, вказують на те, що активність органоспецифічного ферменту – лужної фосфатази в гомогенаті печінки піддослідних тварин під дією комплексної корекції достовірно знижувалась з першої до сьомої доби спостереження. Так, активність ЛФ в гомогенаті печінки на першу добу була на 33,53 % нижчою від рівня щурів, яким на фоні змодельованої політравми не проводилась корекція. На третю добу цей показник був нижчим на 34,26 %. На сьому добу експерименту активність ЛФ в гомогенаті печінки була на 39,79 % нижчою за відповідний показник групи травмованих тварин без медикаментозної корекції.

Таблиця 2. Активність АлАТ і АсАТ в крові щурів у різних групах спостережень (M±m; n=10)

Показник	Група тварин					
	контроль	1 група	2 група	3 група	4 група	5 група
1 доба						
АлАТ, ммоль/(л·год)	0,30±0,10	0,57±0,01 p<0,02*	0,45±0,02 p<0,001**#	0,42±0,04 p>0,05**	0,41±0,03 p<0,001**	0,39±0,02 p<0,001**
АсАТ, ммоль/(л·год)	0,42±0,03	0,94±0,12 p<0,001*	0,75±0,04 p<0,02**	0,50±0,03 p<0,05**	0,75±0,16 p<0,02**	0,61±0,15 p<0,01**
3 доба						
Група тварин						
Показник	Контроль	1 група	2 група	3 група	4 група	5 група
АлАТ, ммоль/(л·год)	0,30±0,01	0,72±0,06 p<0,001*	0,52±0,04 p<0,02**	0,60±0,09 p<0,02**	0,49±0,05 p<0,02**	0,42±0,03 p<0,001**
АсАТ, ммоль/(л·год)	0,42±0,03	1,06±0,10 p<0,001*	0,83±0,11 p<0,001**	0,82±0,13 p<0,001**	0,82±0,16 p<0,001**	0,68±0,12 p<0,01**
7 доба						
Група тварин						
Показник	Контроль	1 група	2 група	3 група	4 група	5 група
АлАТ, ммоль/(л·год)	0,30±0,01	0,86±0,03 p<0,001*	0,59±0,01 p<0,001**#	0,76±0,06 p<0,001**#	0,55±0,02 p<0,001**#	0,38±0,06 p<0,001**
АсАТ, ммоль/(л·год)	0,42±0,03	1,11±0,14 p<0,001*	0,77±0,06 p<0,001**#	0,88±0,11 p<0,001**#	0,77±0,04 p<0,001**#	0,58±0,06 p<0,001**

Примітки: 1) * – достовірність відмінностей відносно інтактних тварин;

2) ** – достовірність відмінностей відносно 1 групи;

3) # – достовірні відмінності порівняно з 5 групою.

Таблиця 3. Динаміка вмісту лужної фосфатази в печінці щурів у різних групах спостережень ($M \pm m$; $n=10$)

Показник	Група тварин, перша доба					
	контроль	1 група	2 група	3 група	4 група	5 група
ЛФ, нмоль/(кг·с)	0,91±0,04	1,64±0,06 $p < 0,001^*$	1,29±0,03 $p < 0,001^{**}$	1,01±0,03 $p > 0,05^{**}$	1,44±0,03 $p < 0,05^{**\#}$	1,09±0,14 $p < 0,001^{**}$
Третя доба						
ЛФ, нмоль/(кг·с)	контроль	1 група	2 група	3 група	4 група	5 група
	0,91±0,04	1,79±0,03 $p < 0,001^*$	1,33±0,02 $p < 0,001^{**}$	1,29±0,03 $p < 0,01^{**}$	1,42±0,03 $p < 0,01^{**}$	1,17±0,15 $p < 0,001^{**}$
Сьома доба						
ЛФ, нмоль/(кг·с)	контроль	1 група	2 група	3 група	4 група	5 група
	0,91±0,04	1,82±0,04 $p < 0,001^*$	1,3±0,03 $p < 0,001^{**\#}$	1,35±0,04 $p < 0,01^{**\#}$	1,34±0,02 $p < 0,001^{**\#}$	1,15±0,02 $p < 0,001^{**}$

Примітки: 1) * – достовірність відмінностей відносно інтактних тварин;

2) ** – достовірність відмінностей відносно 1 групи;

3) # – достовірні відмінності порівняно з 5 групою.

Проте ми не виявили достовірної різниці між цим показником у групах тварин, де проводилась корекція одним препаратом у період від першої до третьої доби. Тільки при застосуванні ліпофлавонової активності ЛФ була достовірно вищою на першу добу порівняно з комплексною корекцією.

На сьому добу експерименту наші дані показали достовірне зниження активності ЛФ після корекції комплексом препаратів порівняно з монотерапією.

Ми запропонували методику оцінки ефективності комплексної корекції за допомогою спеціального прогностичного коефіцієнта. За основу було взято методику прогнозування перебігу травматичної хвороби [6]. Ми пропонуємо увести спеціальний прогностичний коефіцієнт K , який характеризує перебіг захворювання залежно від зміни основних показників ефективності вибраного методу корекції.

У нашому випадку, показниками ефективності вибраного методу корекції була зміна рівня АлАТ, АсАТ у сироватці крові щурів та ЛФ в гомогенаті печінки.

Для забезпечення достовірності результатів обчислення прогностичного коефіцієнта брали для розрахунків не абсолютні значення результатів аналізу A_1 , а відносну зміну показника A_d у кожній групі відносно контрольної. Прийmemo значення A_x для конт-

рольної групи рівним 1. Методику розрахунку наведено у формулах 1 та 2.

$$A_{d1} = |A_1 - A_{k1}| / A_{k1} \quad (1)$$

$$K = 1 + \frac{Ad1 + Ad2 + \dots + Adn}{n} \quad (2)$$

Причому, що чим більше прогностичний коефіцієнт наближається до 1, тим більш ефективніше перебігає процес вибраного методу корекції.

Обчислюємо прогностичний коефіцієнт K для першої, другої, третьої, четвертої та п'ятої груп за результатами аналізу зміни АлАТ, АсАТ та ЛФ на першу, третю та сьому доби експерименту.

Остаточні результати показано в таблицях 4–6 та на рисунку 1.

Проаналізувавши динаміку зміни коефіцієнта K (див. табл. 4–6), можна побачити, що корекція одним із запропонованих нами препаратів, втрачала свою динаміку збільшення ефективності вже з третьої доби експерименту і до сьомої доби ефективність монокорекції прогресивно знижувалась.

Навпаки, застосування комплексу препаратів було більш ефективним вже з першої доби порівняно з монокорекцією пентоксифіліном та ліпофлавоном. Лише монокорекція селективним інгібітором iNOS

Таблиця 4. Прогностичний коефіцієнт K на першу добу ($M \pm m$; $n=10$)

Показник	Група тварин					
	контроль	1 група	2 група	3 група	4 група	5 група
АлАТ, ммоль/(л·год)	0,30±0,10	0,57±0,01	0,45±0,02	0,42±0,04	0,41±0,03	0,39±0,02
АсАТ, ммоль/(л·год)	0,42±0,03	0,94±0,12	0,75±0,04	0,50±0,03	0,75±0,16	0,61±0,15
ЛФ, нмоль/(кг·с)	0,91±0,04	1,64±0,06	1,29±0,03	1,01±0,03	1,44±0,03	1,09±0,14
K	1	1,98	1,57	1,23	1,58	1,32

Таблиця 5. Прогностичний коефіцієнт K на третю добу ($M \pm m$; $n=10$)

Показник	Група тварин					
	контроль	1 група	2 група	3 група	4 група	5 група
АлАТ, ммоль/(л·год)	0,30±0,01	0,72±0,06	0,52±0,04	0,60±0,09	0,49±0,05	0,42±0,03
АсАТ, ммоль/(л·год)	0,42±0,03	1,06±0,10	0,83±0,11	0,82±0,13	0,82±0,16	0,68±0,12
ЛФ, нмоль/(кг·с)	0,91±0,04	1,79±0,03	1,33±0,02	1,29±0,03	1,42±0,03	1,17±0,15
K	1	2,30	1,72	1,79	1,72	1,43

Таблиця 6. Прогностичний коефіцієнт К на сьому добу ($M \pm m$; $n=10$)

Показник	Група тварин					
	контроль	1 група	2 група	3 група	4 група	5 група
АЛТ, ммоль/(л·год)	0,30±0,01	0,86±0,03	0,59±0,01	0,76±0,06	0,55±0,02	0,38±0,06
АсАТ, ммоль/(л·год)	0,42±0,03	1,11±0,14	0,77±0,06	0,88±0,11	0,77±0,04	0,58±0,06
ЛФ, нмоль/(кг·с)	0,91±0,04	1,82±0,04	1,3±0,03	1,35±0,04	1,34±0,02	1,15±0,02
К	1	2,50	1,74	2,04	1,71	1,30

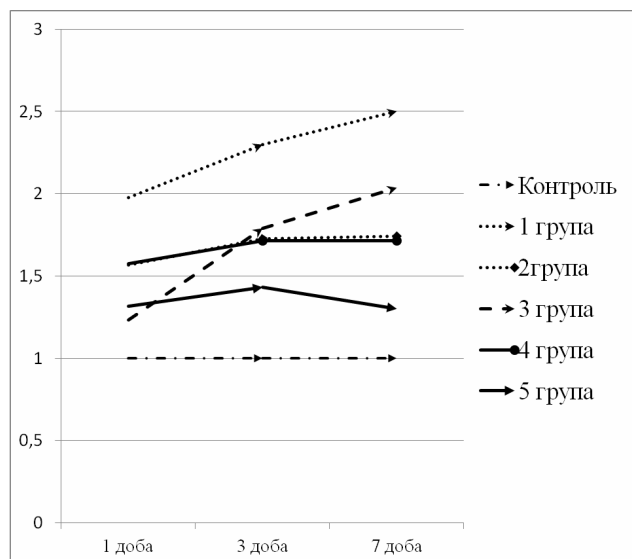


Рис. 1. Ефективність методів корекції.

1400 W на першу добу експерименту була більш ефективною, ніж застосування комплексу препаратів.

ВИСНОВОК Запропонована методика дає можливість оцінити ефективність методу медикаментозної корекції ураження печінки при експериментальній політравмі у певний період травматичної хвороби.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Брюсов П. Г. Прогнозирование в медицине катастроф / П. Г. Брюсов, Г. И. Назаренко, В. Н. Житин. – Томск : изд-во Томского университета, 1995. – 240 с.
2. Загальні етичні принципи експериментів на тваринах // Ендокринологія. – 2003. – Т. 8, № 1. – С. 142–145.

3. Климовицкий В. Г. Лечение пострадавших с сочетанными повреждениями на этапе острого периода травматической болезни / В. Г. Климовицкий, В. Н. Пастернак, Ю. В. Поляченко // Архив клинической и экспериментальной медицины. – 1999. – Т. 8, № 4, прил. 1. – С. 8–13.

4. Костенко В. С. Возможности плазмафереза в комплексной терапии синдрома эндогенной интоксикации. Новый отечественный аппарат для проточного, фильтрационного плазмафереза АПФ-1 "Гемофер" / В. С. Костенко // Біль, знеболювання і інтенсивна терапія. – 2001. – № 2 (Д). – С. 57–59.

5. Лікування постраждалих з полісистемними та поліорганичними пошкодженнями в сільській місцевості / С. О. Гур'єв, П. В. Танасієнко, М. М. Хімич, В. Д. Шишук – Житомир : СГД Медведева, 2008. – 112 с.

6. Пат. 2120634 Российской Федерации, G01N33/52, G01N33/48. Способ прогнозирования течения травматической болезни / Пастернак В.Н., Бабоша В.А., Донченко Л.И.; заявитель и патентообладатель Пастернак В.Н., Бабоша В.А., Донченко Л.И. № 97106704/14, заявл. 22.04.1997; опубл. 20.10.1998.

7. Cell Death Serum Biomarkers Are Early Predictors for Survival in Severe Septic Patients with Hepatic Dysfunction / S. Hofer, T. Brenner, C. Bopp [et al.] // Critical Care. – 2009. – Vol. 13. – P. 93.

8. Decreased Plasma Glutamate in Early Phases of Septic Shock with Acute Liver Dysfunction Is an Independent Predictor of Survival / M. Poeze, Y. C. Luiking, P. Breedveld [et al.] // Clinical Nutrition. – 2008. – Vol. 27, № 4. – P. 523–530.

9. Ferreira A. Organ Dysfunction: General Approach, Epidemiology, and Organ Failure Scores / A. Ferreira, Y. Sakr // Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine. – 2011. – Vol. 32, № 5. – P. 543–551.

10. Ivanov D. E. Liver functional disorders in traumatic stress / D. E. Ivanov, D. M. Puchin'ian // Usp. Fiziol. Nauk. – 1998. – № 1. – P. 58–71.

11. Multiorgan failure is an adaptive, endocrine-mediated, metabolic response to overwhelming systemic inflammation / M. Singer, V. De Santis, D. Vitale, W. Jeffcoate // Lancet. – 2004. – Vol. 364. – P. 545–548.

12. Rensing H. Multiple organ failure. Mechanisms, clinical manifestation and therapeutical strategies / H. Rensing, M. Bauer // Anaesthesist. – 2001. – Vol. 50. – P. 819–841.

13. Trauma fatalities: time and location of hospital deaths / D. Demetriades, J. Murray, K. Charalambides [et al.] // J. Am. Coll. Surg. – 2004. – Vol. 198. – P. 20–26.

Отримано 11.02.15