



УКРАЇНА

(19) UA (11) 5458 (13) U

(51) 7 A61K38/18, C12N5/06

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ МОДЕЛЮВАННЯ СТАНДАРТИЗОВАНОЇ ПОЛІТРАВМИ

1

2

(21) 20040604638

(22) 14.06.2004

(24) 15.03.2005

(46) 15.03.2005, Бюл. № 3, 2005 р.

(72) Пішак Василь Павлович, Коган Андрій Олександрович

(73) БУКОВИНСЬКА ДЕРЖАВНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ

(57) Спосіб моделювання стандартизованої політравми шляхом проведення тупої травми м'яких тканин гомілки, перелому малої гомілкової кістки, проникного асептичного поранення черевної порожнини і спленектомії, який відрізняється тим, що проводять вказані пошкодження під загальною анестезією та в асептичних умовах.

Корисна модель відноситься до галузі експериментальної медицини і може бути використаним для вивчення особливостей патогенезу порушення функції органів і систем при політравмі.

Проблема лікування політравми залишається актуальною, оскільки частота екстремальних ситуацій, що супроводжуються масовим травматизмом, на жаль, зростає. Відомо, що у механізмах розвитку клінічних проявів політравми найбільше практичне значення мають дві основні групи змін. До першої належать прогресуючі порушення морфологічних, гуморальних і функціональних характеристик серцево-судинної системи внаслідок шоку, до другої - прояви поліорганної функціональної недостатності з дуже несприятливим прогнозом у зв'язку з порушеннями функцій серця, легень, головного мозку, печінки і нирок. При поліорганній недостатності центральне місце у патогенезі порушень функції органів і систем належить змінам регуляції агрегатного стану крові, оскільки саме на них замикається порочне коло патологічного процесу [Котельников Г.П., Кондурцев В.А., Чеснокова И.Г. Травматическая болезнь: клинко-патогенетическое, диагностическое и прогностическое значение изменений в системе гемостаза // Клиническая медицина. - 1998. - №1. - С. 31-34.] На думку Грінцова О.Г. та співавторів [Грінцов О.Г., Єльський В.М., Длугоканський Д.М., Крюк Ю. Я. Клініко-патологічні особливості ускладненого перебігу травматичної хвороби при закритій торакоабдомінальній травмі // Физиол. журн. - 2000. - Т.46, № 2. - С.75.], науково обґрунтована оцінка ризику ускладнень і летальності у постраждалих з множинними комбінованими травмами є не-

обхідною для планування лікування, визначення строків проведення операції і вибору способів профілактичної терапії з врахуванням змін стану гемокоагуляційної, імунної, ендокринної, нервової систем організму, а також метаболічних процесів. Однак, механізми розвитку декомпенсаційних розладів функцій органів і систем при політравмі остаточно не з'ясовані, що стримує розробку нових патогенетичних способів попередження поліорганної недостатності і оптимізації лікування постраждалих з політравмою.

Проблема розробки нових і удосконалення відомих методів лікування хворих з політравмою, а також профілактики поліорганної недостатності, пов'язана з проблемою стандартизації політравми в експерименті, оскільки не стандартизована множинна травма викликає неоднозначні функціональні порушення в багатьох життєво важливих системах організму.

Прототипом корисної моделі є спосіб моделювання політравми шляхом проведення тупої травми м'яких тканин гомілки, перелому малої гомілкової кістки, проникного асептичного поранення черевної порожнини і спленектомії [Котельников Г.П., Кондурцев В.А., Чеснокова И.Г. Травматическая болезнь: клинко-патогенетическое, диагностическое и прогностическое значение изменений в системе гемостаза // Клиническая медицина. - 1998. - № 1. - С. 31-34].

Недоліками прототипу є те, що виконання вказаних пошкоджень може призводити до комплексу різноманітних порушень і не є стандартизованим.

Нами пропонується рішення, що усуває вка-

(13) U

(11) 5458

(19) UA

зані недоліки.

В основу корисної моделі поставлене завдання розробити спосіб моделювання стандартизованої політравми шляхом проведення поєднаного пошкодження внутрішніх органів під загальної анестезією та в асептичних умовах для оптимізації методики вивчення патогенезу порушень функції органів і систем у травмованих експериментальних тварин.

Поставлене завдання вирішується тим, що у способі моделювання стандартизованої політравми шляхом проведення тупої травми м'яких тканин гомілки, перелому малої гомілкової кістки, проникного асептичного поранення черевної порожнини і спленектомії, згідно до корисної моделі, проводять вказані пошкодження під загальною анестезією та в асептичних умовах.

Спільними ознаками прототипу та корисної моделі, що заявляється, є те, що для моделювання політравми проводять поєднане пошкодження (тупу травму м'яких тканин гомілки, перелом малої гомілкової кістки, проникне асептичне поранення черевної порожнини і спленектомію). Корисна модель відрізняється від прототипу тим, що вказане поєднане пошкодження виконується під загальною анестезією та в асептичних умовах.

Спосіб виконується наступним чином.

Для проведення моделювання стандартизованої політравми, у щурів проводиться в асептичних умовах під нембуталовим наркозом (40 мг/кг маси тіла) серединну лапаротомію, перев'язка судини селезінки шовком і видаляли її [спленектомія за Стручко Г.Ю.: Стручко Г.Ю. Изменения ней-ромедиаторной системы тимуса у крыс после спленэктомии // Морфология. - 1998. - Т.13, № 1. - С.105-108.]. Перелом малої гомілкової кістки проводять після її оголення через шкірний розріз, відсуваючи м'язи тупим способом. Кістку пересікають ножицями в асептичних умовах. Нефрєктомію проводять через позаочеревинний доступ, відокремлюючи наднирник від лівої нирки, що видаляється, і перев'язуючи судини ниркової ніжки в асептичних умовах. Після завершення операції тваринам внутрішньом'язово вводять розчин анальгину із розрахунку 1 мг на кг маси тіла кожні 4 години для попередження больового шоку.

Теоретичні передумови для використання способу.

Нами досліджено 43 статевозрілих самців білих щурів. Проводили моделювання стандартизованої політравми, котра включала перелом малої гомілкової кістки, проникне лапаротомічне поранення черевної порожнини, травму м'яких тканин гомілки і спленектомію. Після завершення операції тваринам внутрішньом'язово вводили розчин анальгину із розрахунку 1 мг на кг маси тіла кожні 4 год. для попередження больового шоку. Контрольні тварини отримували анальгін за такою самою схемою. Післяопераційний період характеризувався досить високою смертністю експериментальних тварин: впродовж першої доби після завершення операції загинуло 7 із 18 оперованих щурів. Тобто смертність через 24 год. після операції складала 38,9%.

Для визначення адекватності запропонованого нами способу, провели оцінку змін

функціонального стану нирок і порушень агрегатного стану крові у щурів зі стандартизованою політравмою, яка була змодельована за способом, що заявляється.

Для адекватного порівняння параметрів функціонального стану нирок і регуляції агрегатного стану крові використовували дві контрольні групи щурів. Тварини першої контрольної групи були представлені 13-ма інтактними щурами, тварини другої контрольної групи (12 щурів) отримували нембуталовий наркоз одночасно з піддослідними щурами, а після виходу з наркозу їм також вводили анальгін. Евтаназію щурів проводили через 24 год. після операції під легкою ефірною анестезією. Функціональний стан нирок визначали кліренс-методом оцінки діяльності судинно- клубочкового апарата і функції проксимального та дистального канальцевих відділів нефронів в умовах водного навантаження. Концентрації іонів натрію і калію в сечі та плазмі крові досліджували методом фотометрії полум'я на "ФПЛ-1", креатиніну - за реакцією з пікріновою кислотою з реєстрацією показників екстинції за допомогою фотокolorиметру "КФК-2" і спектрофотометру "СФ-46". Вміст білка в сечі визначали сульфосаліциловим методом. Визначення рН сечі здійснювали за допомогою мікробіоаналізатора "Redelkys" (Угорщина), вмісту титрованих кислот і амонійних солей в сечі - методом титрування.

При дослідженні параметрів системи гемостазу для стабілізації крові використовували 3,8%-ний розчин цитрату натрію. Кров збирали з черевної аорти сіліконованим шприцом, під нембуталовим наркозом (40 мг/кг маси тіла), стабілізували 3,8%-ним розчином цитрату натрію, центрифугували і відокремлювали плазму від формених елементів. Стан тромбоцитарно-судинного гемостазу оцінювали за відсотком адгезивних тромбоцитів, а також за індексом спонтанної агрегації тромбоцитів. Загальний коагуляційний потенціал крові, потенційну активність плазміногену, активність антиплазмінів, концентрацію фібриногену в плазмі крові, активність антитромбіну III, концентрацію розчинних комплексів фібрин-мономеру і вміст продуктів деградації фібрин/фібриногену, а також урокіназну активність сечі визначали за допомогою стандартних наборів реактивів фірми "Simko Ltd." (Україна).

Результати дослідження екскреторної функції нирок у тварин. У щурів першої і другої контрольної груп жоден з параметрів екскреторної функції нирок достовірно між собою не відрізнявся. Тому порівняння показників у відсотковому співвідношенні "дослід/контроль" далі наведене для даних, які отримані у тварин контрольної групи № 2. Через 24 год. після моделювання політравми рівень індукованого водного діурезу знижувався на 28,6%, а відносний діурез зменшувався на 24,4%. Спостерігалось суттєве - на 39,4% підвищення концентрації креатиніну в сечі.

Концентрація креатиніну в плазмі крові зростала в ще більшій мірі і перевищувала контрольні показники в 2,2 разу. Судячи по вмісту креатиніну в крові, у тварин розвивалась ретенційна гіпреазотемія, котра була обумовлена зниженням швидкості клубочкової фільтрації в 2,4 разу. За

умов гіпреазотемії концентраційний індекс ендогенного креатиніну втрачає інформаційне навантаження відносно здатності нирок до розведення сечі, оскільки його зниження може відбуватися внаслідок зростання вмісту креатиніну в плазмі крові. Тому, не дивлячись на зменшення зазначеного показника в 1,6 разу, вважати це наслідком підвищення здатності нирок до розведення сечі не варто. Реабсорбція води знижувалась на 4,4%, що і забезпечувало достатньо високий рівень діурезу при більш ніж дворазовому падінні швидкості клубочкової фільтрації. Екскреція білка в абсолютних величинах підвищувалась недостовірно, однак втрати білка з сечею, стандартизовані за об'ємом клубочкового фільтрату, перевищували контрольні величини в 2,6 разу. У певній мірі це може свідчити про клубочковий характер протеїнурії, а також опосередковано вказувати на переважний розвиток патологічного процесу на судинно-гломерулярному рівні.

Характеристика змін ниркового транспорту іонів натрію і калію наведена. Слід відмітити, що достовірних різниць між досліджуваними показниками у тварин першої та другої контрольної груп в даному випадку теж не спостерігалось. У щурів з політравою через 24 год. після операції концентрація іонів натрію в сечі зростала в 6,2 разу, що навіть на тлі олігурії призводило практично к п'ятиразовому підвищенню їх екскреції. Варто звернути увагу на те, що стандартизована за об'ємом клубочкового фільтрату екскреція іонів натрію зростала більш ніж на порядок, тобто зниження швидкості клубочкової фільтрації в даному випадку має певний компенсаторний сенс, захищаючи організм від швидкої втрати великої кількості головного позаклітинного осмоліту.

Концентрація іонів калію в сечі також значно зростала і перевищувала контрольні показники в 4 рази, внаслідок чого екскреція іонів калію збільшувалась в 2,6 разу. Скоріше за все, калійуретична реакція нирок була обумовлена гіперкаліємією - концентрація іонів калію в плазмі крові була на 38,5% більшою, аніж у контрольних тварин. Концентрація іонів натрію в плазмі крові, навпаки, знижувалась, однак не виходила за ліміти нижніх меж норми, встановлених для щурів в умовах 5%-ного водного навантаження. У 2,4 разу зменшувався фільтраційний заряд іонів натрію, що призвело до відповідного зниження їх абсолютної канальцевої реабсорбції. Тим не менш, не дивлячись на обмеження фільтраційного завантаження нефронів, відносна реабсорбція іонів натрію достовірно зменшувалась. Коефіцієнт співвідношення концентрацій в сечі іонів натрію і калію, за яким непрямо можна судити про стан ренін-ангіотензин-альдостеронової системи, збільшувалась недостовірно. Втрати натрію з сечею і тенденція до гіпонатріємії призвели до значного - в 6,8 разу збільшення концентраційного індексу натрію, а також обумовили п'ятиразове підвищення кліренсу іонів натрію. Зниження кліренсу безнатрієвої води на 30,1% є чітким свідченням порушення діяльності нирок щодо стабілізації параметрів іонного гомеостазу: в умовах водного навантаження адекватної реакцією є активація найтрійзатримуючих механізмів при

підвищенні інтенсивності виведення води, вільної від основного осмоліту позаклітинного водного простору. Реакція нирок тварин з політравою на водне навантаження через 24 год. після операції виявилась прямо протилежною.

Інтенсивність транспорту іонів натрію на рівні проксимальних і дистальних канальців, так само, як і параметри кислотовидільної діяльності нирок у тварин першої і другої контрольних груп практично не відрізнялись. Через 24 год. після моделювання політрави реабсорбція іонів натрію в проксимальних канальцях знижувалась в 2,5 разу, а їх дистальний транспорт зменшувався на 31,4%. Однак дані зміни не підтримувались стандартизацією: проксимальна реабсорбція іонів натрію, приведена до 100 мкл клубочкового фільтрату, від контролю не відрізнялась, а перерахований на одиницю клубочкового фільтрату дистальний транспорт іонів натрію навіть перевищував контрольні величини на 75,8%. Отже, справжнього ушкодження канальцевих структур нирок через 24 год. після моделювання політрави не відбувається, а зниження інтенсивності ниркового транспорту іонів натрію обумовлено вазогломерулярними порушеннями і виникаючим внаслідок цього енергодефіцитом. Останнє підтверджувалось змінами кислотовидільної діяльності нирок, оскільки інтенсивність таких натрійзалежних механізмів ацидифікації сечі, як утворення титрованих кислот і амоніогенезу, значно зростала: екскреція титрованих кислот зростала в 2,9 разу, екскреція амонійних солей - в 2,2 разу, а екскреція активних іонів водню перевищувала контрольні показники на 76,2%. Інтенсифікація процесів ацидо- і амоніогенезу відбувалась приблизно в рівній мірі, оскільки амонійний коефіцієнт достовірно не змінювався. Інтегральним результатом активації механізмів ниркового виділення нелетких кислот було зниження рН сечі на 8,3%.

Результати дослідження коагуляційного потенціалу кров. Жодна пара з досліджуваних показників в контрольних групах щурів достовірно між собою не відрізнялась. Навпаки, параметри гемокоагуляції у контрольних тварин обох груп максимально наближались один до одного ($p > 0,4-0,9$), тому описання відсоткових змін в тексті наведено за співвідношенням показників піддослідних щурів і тварин контрольної групи № 2. Через 24 год. після моделювання політрави час рекальцифікації плазми крові скорочувалось на 34,2%, активований парціальний тромбoplastиновий час - на 27,6%, протромбіновий час - на 29,7%, тромбіновий час - на 40,8%. Водночас у тварин з політравою відмічалось зниження активності антитромбіну III на 25,1%, що є свідченням пригнічення всієї протизгортаючої системи крові. Суттєве підвищення прокоагуляційного потенціалу з боку плазмових факторів згортання крові супроводжувалось активацією тромбоцитарно-судинного гомеостазу, що характеризувалось збільшенням адгезивності тромбоцитів на 16,2% при зростанні індексу їх спонтанної агрегації майже в 5 разів. Загальну картину підвищеної готовності крові до тромбоутворення доповнювало тридцятивідсоткове збільшення плазмової концен-

трації фібриногену.

На такому фоні у тварин з політравмою спостерігалось підвищення сумарної фібринолітичної активності плазми крові на 50,2%, що було пов'язано як з активацією неферментативного фібринолізу (на 41,7%), так і з підвищенням інтенсивності ензиматичного лізису фібрину (на 49,1%). Крім того, при стабільній потенціальній активності плазміногену спостерігалась активація Хагеман-залежного фібринолізу. Відповідно підвищенню фібринолітичної активності крові збільшувалась активність антиплазмінів, головним чином, їх швидкодійної фракції. Як результат підвищення прокоагуляційного потенціалу крові і активації систем плазмового фібринолізу зростала концентрація в крові розчинних комплексів фібрин-мономеру, а в моче з'являлись продукти деградації фібрин/фібриногену.

1. Через 24 год. після моделювання політравми порушення екскреторної функції нирок характеризуються олігурією внаслідок різкого зниження швидкості клубочкової фільтрації з розвитком ретенційної гіперазотемії на тлі зниження реабсорбції води і значного збільшення екскреції білка, стандартизованої за об'ємом клубочкового фільтрату.

2. Зниження інтенсивності ниркового транспорту іонів натрію в гострому періоді політравми обумовлено порушенням функції судинно-клубочкового апарату нефронів, що поєднується зі зменшенням здатності нирок відповідати на водне навантаження підвищенням кліренсу вільної від іонів натрію води.

3. У гострому періоді експериментальної політравми в нирках відбувається активація процесів виділення кислот, як за рахунок інтенсифікації ацидогенезу, так і внаслідок підвищення виділення з сечею іонів водню у складі амонійних сполук. Смертність експериментальних тварин в гострому періоді стандартизованої політравми складає 39%.

4. Для гострого періоду (24 год.) політравми характерною є хронометрична гіперкоагуляція з активацією як зовнішнього, так і внутрішнього механізмів утворення протромбінази при значному скороченні тривалості фібриногенезу.

5. Через 24 год. після моделювання політравми відбувається пригнічення протизгортаючої активності крові, збільшення функціональної активності тромбоцитів і концентрації в крові фібриногену при активації систем плазмового фібринолізу з адекватним підвищенням активності анти-плазмінів, що супроводжується появою в крові розчинних комплексів мономерного фібрину, а в сечі - продуктів розпаду фібрину і фібриногену.

Технічний результат. Результати експериментів підтверджують, що перелом малої гомілкової кістки, проникне лапаротомічне поранення черевної порожнини, травма м'яких тканин гомілки і спленектомія, виконані в асептичних умовах під нембуталовим наркозом, моделюють стандартизовану політравму, оскільки у гострому після травматичному періоді виникають типові, відтворювані стандартні зміни функціонального стану нирок і регуляції агрегатного стану крові.