

- Т.2. - № 3. - С. 35.
Пашенко Ю.В. Морфофункциональные критерии продолжительности жизни пострадавшего после механической травмы / Ю.В. Пашенко // Мат. III конференції Харківської обласної клінічної лікарні "Роль сучасних методів діагностики в лікуванні та реабілітації хворих" - Харків, 2004. - С. 50-51.
- № 6. - С. 96-99.
Теодореску І.-Екзарку. Шок / Теодореску І.-Екзарку // Бухарест, 1980. - С. 177-181.
- Пашенко Ю.В. Морфофункциональные эндокринологические критерии определения давности механической травмы у погибших / Ю.В. Пашенко // Врачебная практика. - 2004. -
Холестериноз / [Лопухин Ю.М., Ачкаров А.И., Владимиров Ю.А., Коган Э.М.] // Москва, 1983. - С. 150-152.

Биляков А.Н.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ДЛИТЕЛЬНОСТИ ТЕЧЕНИЯ СМЕРТЕЛЬНОЙ ТРАВМЫ В РАННЕМ СТРОКЕ АНТЕМОРТАЛЬНОГО ПЕРИОДА ПО СОДЕРЖАНИЮ ЭФИРОВ ХОЛЕСТЕРИНА В ТКАНИ НАДПОЧЕЧНИКОВ ЧЕЛОВЕКА

Резюме. Для установления длительности течения смертельной механической травмы у людей, которые умерли в раннем строке антемортального периода: непосредственно после травмы, через короткий промежуток времени (от нескольких до десятков минут), через 1-2 часа по двухсигмальному отклонению от среднего значения количественного содержания холестерина в ткани надпочечников трупов определяли диагностические критерии. Учитывая значительные предельные колебания содержания эфиров холестерина в группе контроля от 442 до 1682 мкг/100 мг сухой ткани и верхние границы его содержания при всех строках умирания, которые не превышали 1555 мкг/100 мг сухой ткани, установить травматический генез смерти по содержанию эфиров холестерина невозможно. В случаях, когда травматический генез смерти не вызывает сомнения, содержание эфиров холестерина в пределах от 1258 до 1555 мкг/100 мг сухой ткани указывает, что смерть наступила непосредственно после травмирования.

Ключевые слова: эфиры холестерина, смертельная травма, диагностические критерии, длительность течения.

Bilyakov A.M.

MEASURING THE DURATION OF A LETHAL TRAUMA AT EARLY STAGES OF ANTEMORTEM PERIOD BASED ON CHOLESTEROL ESTERS CONTENT IN HUMAN ADRENAL TISSUE

Summary. Diagnostic criteria were established for measuring the duration of a lethal mechanical trauma of humans that died at an early stage of antemortem period: immediately after an injury, within a short period of time (from several to some tens minutes) or 1-2 hours later with two-sigma deviation from mean cholesterol content in adrenal tissues of corpses. Due to significant fluctuation of cholesterol ester content in control group from 442 to 1682 mcg/100 mg of dry tissue and the fact, that upper limits of its content do not exceed 1555 mcg/100 mg of dry tissue, it is impossible to establish the traumatic death genesis based on the content of cholesterol esters. If the traumatic death genesis is evident without doubts, the content of cholesterol esters in the 1258 to 1555 mcg/100 mg of dry tissue shows that death occurred immediately after the injury.

Key words: cholesterol esters, lethal trauma, diagnostic criteria, duration of a trauma.

Стаття надійшла до редакції 4.09.2012р.

© Булавенко О.В., Герич І.Д., Остап'юк Л.Р., Волошиновський А.С., Мягкота С.В., Ващук В.В.

УДК: 616.94-085-089-073.56:616.15-07

Булавенко О.В.¹, Герич І.Д.², Остап'юк Л.Р.¹, Волошиновський А.С.³, Мягкота С.В.⁴, Ващук В.В.⁵

¹Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова, кафедра акушерства та гінекології № 2 (вул. Пирогова, 56, м. Вінниця, Україна, 21018); ²Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького, кафедра факультетської хірургії (вул. Некрасова, 4, м. Львів, Україна, 79010); ³Львівський національний університет ім. Івана Франка, кафедра експериментальної фізики (вул. Кирила і Мефодія, 8, м. Львів, Україна, 79005); ⁴Львівський національний аграрний університет кафедра фізики та інженерної механіки (вул. Володимира Великого, 1, м. Дубляни, Жовківський район, Львівська обл., Україна, 80381); ⁵Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького кафедра загальної хірургії (вул. Миколайчука, 9, м. Львів, Україна, 79059).

МОДЕЛЮВАННЯ ЗМІН СИРОВАТКИ КРОВІ ПРИ РІЗНИХ ЗАХВОРЮВАННЯХ ТА ЛІКУВАЛЬНИХ ЗАХОДАХ

Резюме. В роботі проведено розведення сироватки крові дистильованою водою, 20% донорським альбуміном, цукровим бульйоном, центрифугованою і нецентрифугованою бактерійною культурою *in vitro*. Вивчено зміни спектрально-флуоресцентних параметрів (СФ) цих розведень сироватки крові з метою обґрунтування констатованих *in vivo* СФ-феноменів змін при різних захворюваннях та лікувальних заходах. Обґрунтовано створення "спектрально-флуоресцентної моделі сепсису *in vitro*" і вивчено її кореляцію зі змінами СФ параметрів сироватки крові у хворих на сепсис *in vivo*.

Ключові слова: розведення сироватки крові, моделі захворювань *in vitro*, сепсис.

Вступ

У даний час накопичено достатню кількість інформації [Гиттер, Хейльмейер, 1966; Передерий, Хмелевський, 1993; Губський, 2000; Цынко, 2002; Лифшиц, Сидельникова, 2003] про особливості поведінки біохімічних показників крові при різних захворюваннях, в

тому числі і в динаміці, яка дозволяє з'ясувати чисельні механізми складних процесів життєдіяльності організму людини як у нормі, так і при різних патологічних станах. Отримані результати є дуже цінними для діагностики захворювань. На основі цих результатів для

значної кількості біохімічних показників вимальовується об'єктивна інформація про стан процесів метаболізму в цілому організмі та в окремих його органах.

Але, на жаль, більшість сучасних лабораторних, мікробіологічних та інструментальних методів дослідження є репрезентативними на фоні вже маніфестуючих ознак патологічних процесів. А тому надзвичайно важливим є застосування методу, який характеризується високою чутливістю і можливістю проведення надійної діагностики ще на доклінічному етапі і придатний для встановлення прогностичної оцінки перебігу захворювання. Впродовж останніх десятиліть серед наукових медичних працівників відзначається зростання інтересу до фізичних методів дослідження. Особливе місце серед них займає метод флуоресцентної спектроскопії (МФС) [Лакович, 1986]. Метод дозволяє вивчати флуоресцентні характеристики біологічних об'єктів як у нормі, так і при різних захворюваннях. Тому ми вирішили *in vitro* відтворити типові зміни, які відбуваються в сироватці крові (СК) при різних патологічних станах (гіпо-і гіперпротеїнемії, гіперглікемії та септичних процесах в організмі).

Мета роботи - вивчення можливостей покращення якості діагностики і надання медичної допомоги хворим за допомогою МФС шляхом створення "моделей захворювань *in vitro*", які б віддзеркалювали можливі зміни СК при різних захворюваннях та лікувальних заходах і дозволили з'ясувати вплив різного характеру її розведень на зміни спектрально-флуоресцентних параметрів з метою розпрацювання і впровадження в практику даного методу для діагностики *in vivo*.

Матеріали та методи

Експериментальною базою дослідження була лабораторія люмінесценції кафедри експериментальної фізики (КЕФ) Львівського національного університету (ЛНУ) імені Івана Франка. МФС дослідили приготвлені стандартні розчини шляхом розведення в різних пропорціях СК донорів дистильованою водою (ДВ), 20% - донорським альбуміном, цукровим бульйоном (ЦБ), центрифугованою і нецентрифугованою бактерійною культурою (6-ти денний посів на цукровий бульйон *St. aureus*). Люмінесцентні дослідження біологічних рідин проводили з використанням спектрально-флуоресцентного комплексу, до складу якого входили світлосильні монохроматори МДР-2 та МДР-12. Джерелом збуджуючого світла застосовували дейтерієву лампу ДДС-400 з неперервним спектром випромінювання в області $\lambda = 200-420$ нм. Необхідну ділянку збуджуючого світла виділяли за допомогою монохроматора МДР-12, положення ґратки якого змінювали кроковим двигуном. СФ досліджували при збудженні зразків СК світлом з довжиною хвилі 280 і 250 нм. Результати експерименту виводили в графічній і цифровій формі та опрацьовували графічно та статистично.

Результати. Обговорення

Першим етапом проведення низки експериментів, які відповідають запропонованій серії "моделей захворювання *in vitro*", було приготування водних розчинів СК. Відомо, що флуоресценція СК зумовлена альбумінами [Лакович, 1986]. Вочевидь, при розведенні СК ДВ виникає штучно створена гіпопротеїнемія і гіпоальбумінемія, яка *in vivo* є характерною в акушерській практиці при вагітності і лактації та при деяких патологічних станах. Так, у вагітних зростає об'єм циркулюючої крові (ОЦК), водночас, кількість білка в ній залишається незмінною. Відносна гіпопротеїнемія відзначається при фізіологічній гідремії (підвищення вмісту води в крові після прийому значної кількості рідини). Абсолютна гіпопротеїнемія виникає при білковій недостатності, яка супроводжується порушенням синтезу білка в тканинах, при посиленому розпаді тканинних білків, при втраті білка організмом внаслідок кровотеч або альбумінурії. Гіпопротеїнемія відзначається при аліментарному білковому голодуванні внаслідок обмеженого прийому їжі у пацієнтів із захворюваннями органів травної системи, при порушенні травлення білків і всмоктування амінокислот. Зниження рівня білків крові виникає при захворюваннях печінки внаслідок порушення процесів синтезу білка в цьому органі. Найвищий ступінь гіпопротеїнемії є характерним для хронічних захворювань нирок із нефротичним синдромом, коли рівень загального білка у плазмі знижується до 30-40 г/л, в основному за рахунок альбумінів. Гіпопротеїнемія може виникати при виснажливих інфекційних захворюваннях, злякисних пухлинах, голодних набряках, при вагітності і лактації, гострих і хронічних крововтратах, серцевій недостатності, набряках, ексудатах, тиреотоксикозі, за наявності значних опіків, під впливом прийому глюкокортикоїдів та при різних лікувальних заходах (щоденна інфузійна терапія у великому об'ємі). [Передерий, Хмелевський, 1993]. Слід відзначити, що при різних захворюваннях змінюється рівень лише певних фракцій білків плазми крові [Гиттер, Хейльмейер, 1966]. Так, гіпоальбумінемія відзначається при аліментарній білковій недостатності, інфекційних захворюваннях, злякисних пухлинах, захворюваннях печінки, хронічних захворюваннях нирок з нефротичним синдромом, серцевій недостатності, вагітності, у новонароджених (анальбумінемія спадкового походження). Для вивчення характерних змін СФ СК при наведених патологіях, пояснення, інтерпретації та логічного обґрунтування отриманих результатів, ми штучно створили стандартні розчини розведення СК ДВ, в яких виникала гіпопротеїнемія і гіпоальбумінемія СК.

Готували 15 стандартних водних розчинів СК різної концентрації: 1 - СК, 2 - 90% СК, 3 - 80% СК, 4 - 70% СК, 5 - 60% СК, 6 - 50% СК, 7 - 40% СК, 8 - 30% СК, 9 - 20% СК, 10 - 10% СК, 11 - 5% СК, 12 - 2,5% СК, 13 - 1,25% СК, 14 - 0,625% СК, 15 - ДВ.

При збудженні розчинів СК світлом з довжиною

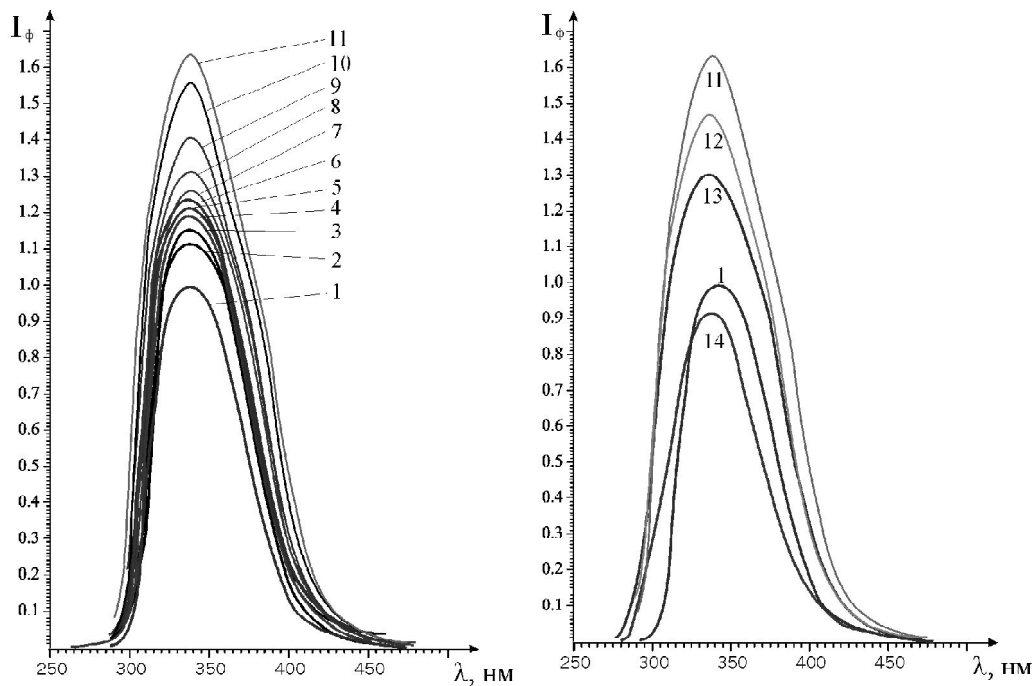


Рис. 1. Вплив розведення дистильованою водою на спектри флуоресценції сироватки крові донора (1 - СК, 2 - 90% СК, 3 - 80% СК, 4 - 70% СК, 5 - 60% СК, 6 - 50% СК, 7 - 40% СК, 8 - 30% СК, 9 - 20% СК, 10 - 10% СК, 11 - 5% СК, 12 - 2,5% СК, 13 - 1,25% СК, 14 - 0,625% СК, 15 - ДВ: $I_{\phi} = 0$).

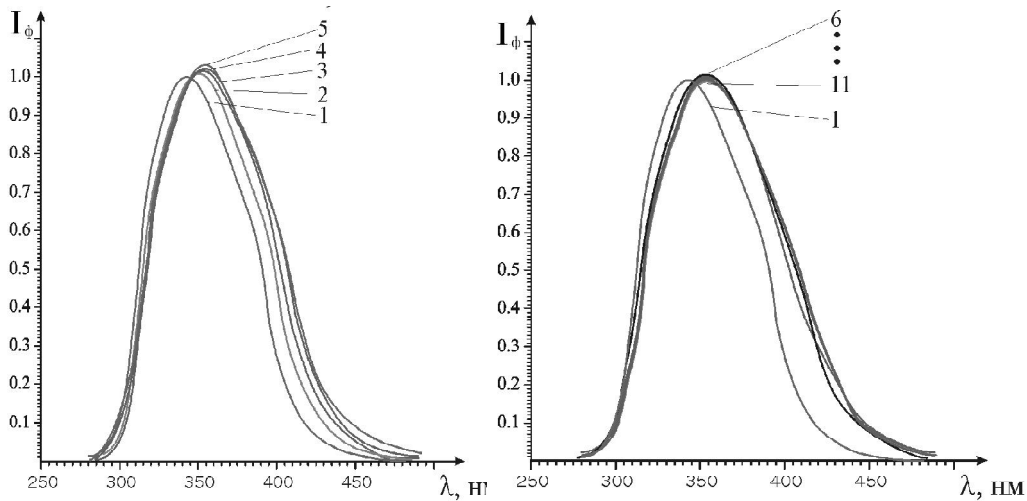


Рис. 2. Вплив розведення 20%-ним донорським альбуміном на спектри флуоресценції сироватки крові донора (1 - СК, 2 - 90% СК, 3 - 80% СК, 4 - 70% СК, 5 - 60% СК, 6 - 50% СК, 7 - 40% СК, 8 - 30% СК, 9 - 20% СК, 10 - 10% СК, 11 - 20% донорський альбумін).

хвиль 250 нм і 280 нм отримали важливу інформацію про зміни їх СФ відповідно до концентрації розчину СК. Реєстрували СФ у діапазоні $300 \text{ нм} < \lambda < 450 \text{ нм}$. Назагал, інтенсивність флуоресценції була максимальною при збудженні СК світлом з $\lambda = 280 \text{ нм}$, що відповідає спектральній області свічення білка альбуміну, і значно нижчою при $\lambda \leq 250 \text{ нм}$ і $\lambda > 300 \text{ нм}$. Результати дослідження СФ розведень СК ДВ наведені на рис. 1. Так, при розведенні СК ДВ положення смуг флуоресценції (λ_{max}) не змінюється. Водночас, виявлена чітка залежність інтенсивності флуоресценції I_{ϕ} від концен-

траційного співвідношення СК і ДВ у досліджених розчинах [Герич та ін., 2004]. Зафіксували поступове зростання I_{ϕ} , яке досягло максимуму при $x \leq x_0$ (x_0 - концентрація білкової компоненти в розчині), що відповідає $C \approx 2,5\%$ СК. Величина I_{ϕ} зумовлена впливом ефекту концентраційного гасіння на флуоресцентні характеристики СК. Таким чином, при зменшенні вмісту СК в розчинах відбувається поступове зменшення в ньому числа молекул альбуміну і, відповідно, послаблюється концентраційне гасіння СФ СК, яке пов'язане з ефектами взаємодії між молекулами білків. При $x=x_0$ внесок в СФ СК зумовлюється сумарним вмістом залишкових (вільних) молекул альбуміну. Наступне зменшення концентрації білка ($x < x_0$), яке відповідає подальшому зменшенню вмісту СК в ДВ призводить до різкого зниження I_{ϕ} СК аж до повного її загасання. Випадок, коли I_{ϕ} пропорційна концентрації СК в розчині, відповідає умові, коли оптична густина розчину $D \approx 0,1$ [Герич та ін., 2004].

Таким чином, вивчення концентраційної залежності I_{ϕ} водних розчинів СК дало можливість змодельювати вплив інфузійної терапії на організм людини. Зміни СФ при розведенні СК ДВ мають специфічний характер і формують підґрунтя для напрацювання флуоресцентного методу з метою діагностики різних захворювань, які супроводжуються гіпопротеїнемією і гіпоальбумінемією [Передерий, Хмелевский, 1993] та при різних лікувальних заходах (вивчення впливу інфузійної терапії

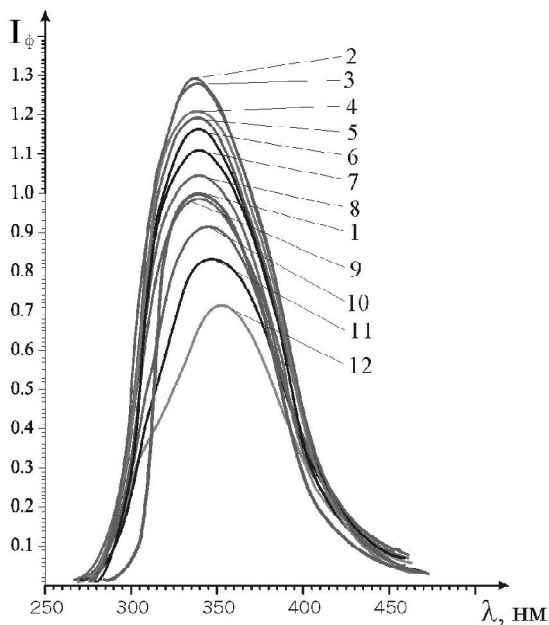


Рис. 3. Вплив розведення цукровим бульйоном на спектри флуоресценції сироватки крові донора (1 - СК, 2 - 90% СК, 3 - 80% СК, 4 - 70% СК, 5 - 60% СК, 6 - 50% СК, 7 - 40% СК, 8 - 30% СК, 9 - 20% СК, 10 - 10% СК, 11 - 5% СК, 12 - ЦБ).

на організм людини).

Наступним етапом у серії досліджень "моделей захворювання *in vitro*" вивчали СФ розчинів СК у 20%-ному донорському альбуміні. Проведення даного експерименту є важливим з двох точок зору.

По-перше, оскільки флуоресценція СК зумовлена свіченням альбуміну, ми вважали за необхідне провести порівняльне дослідження спектрально-флуоресцентних характеристик СК і 20% донорського альбуміну і вияснити можливість використання при проведенні досліджень спектрально-флуоресцентних характеристик СК хворих як еталону 20% донорського альбуміну. Це дозволяє зменшити кількість осіб контрольної групи. По-друге, розведення СК 20% донорським альбуміном, ймовірно, може спричинити появу гіперпротеїнемії. Відносна гіперпротеїнемія виникає за рахунок втрати води організмом: при профузній діарейі, холері, нецукровому діабеті, опіках, перегріванні, багаторазовому блюванні, зневодненні організму при стенозі стравоходу і пілоростенозі, при обмеженні прийому рідини. Абсолютна гіперпротеїнемія є характерною для гепатиту в стадії одужування, при паразитарних захворюваннях - малярії, токсоплазмозі, вісцеральному лейшманіозі, при мієломній хворобі (за рахунок появи патологічних білків - парапротеїнів). У зазначених випадках гіперпротеїнемія виникає внаслідок підвищення рівня глобулінів у плазмі крові. Підвищення фракції гамма-глобулінів нерідко відзначається в початковій стадії пневмонії та при хронічних інфекціях [Передерий, Хмельевский, 1993].

Ми приготували і дослідили МФС 11 стандартних

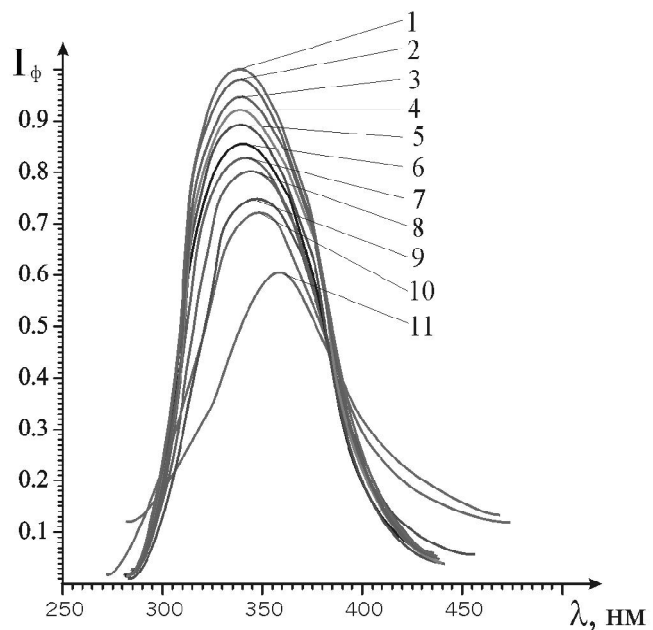


Рис. 4. Вплив розведення нецентрифугованими посівами на спектри флуоресценції сироватки крові донора (1 - СК, 2 - 90% СК, 3 - 80% СК, 4 - 70% СК, 5 - 60% СК, 6 - 50% СК, 7 - 40% СК, 8 - 30% СК, 9 - 20% СК, 10 - 10% СК, 11 - НЦП).

розчинів розведень СК 20%-ним донорським альбуміном у наступних пропорціях: 1 - СК, 2 - 90% СК, 3 - 80% СК, 4 - 70% СК, 5 - 60% СК, 6 - 50% СК, 7 - 40% СК, 8 - 30% СК, 9 - 20% СК, 10 - 10% СК, 11 - 20%-ний донорський альбумін. Графічне зображення результатів дослідження СФ розведень СК донорів 20% донорським альбуміном наведено на рис. 2.

На відміну від попереднього дослідження розведень СК ДВ (див. рис. 1) I_{ϕ} у цьому випадку практично не змінюється, однак має місце поступовий довгохвильовий зсув смуги флуоресценції розчину; спектральне положення смуги флуоресценції λ_{\max} за наявності в розчині 90 % СК досягає максимуму, залишаючись постійною величиною при подальшому зменшенні СК в розчині.

Розведення СК 20%-ним донорським альбуміном призводить у випадках 1-5 до незначного зсуву λ_{\max} ($338 \text{ nm} < \lambda_{\max} < 348 \text{ nm}$) і зростання інтенсивності; у випадках же 7-11 λ_{\max} та I_{ϕ} практично не змінюються. Отримані результати фактично відповідають спектральним характеристикам 20% розчину донорського альбуміну.

Слід відзначити, що при розведенні 20% донорського альбуміну ДВ виникають закономірності поведінки СФ подібні до таких, як при дослідженні СФ розведень СК ДВ.

Таким чином, спектрально-флуоресцентні характеристики 20% донорського альбуміну є близькими до характеристик СК.

В наступній серії експериментів дослідили СФ розведення СК ЦБ. Дослідження є актуальним з огляду на

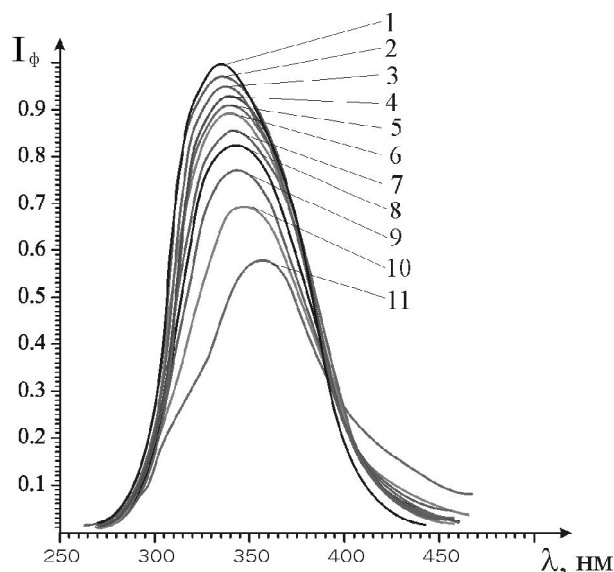


Рис. 5. Вплив розведення центрифугованими посівами на спектри флуоресценції сироватки крові донора (1 - СК, 2 - 90% СК, 3 - 80% СК, 4 - 70% СК, 5 - 60% СК, 6 - 50% СК, 7 - 40% СК, 8 - 30% СК, 9 - 20% СК, 10 - 10% СК, 11 - ЦП).

значну кількість хворих на цукровий діабет у всьому світі. Це захворювання є дуже небезпечним у зв'язку з можливістю виникнення ускладнень: мікро- та макроангіопатій, часто ускладнюється гнійно-запальними і септичними процесами в організмі. Одну з основних причин цього явища слід шукати, скоріше всього, в структурі і зв'язуючій здатності молекули альбуміну. Молекули альбуміну не є однаковими, і лише приблизно 28 % із них здатні зв'язувати низку органічних лігандів. Чинниками, які призводять до того, що молекули альбуміну є різними - довголанцюгова жирна кислота (ЖК), яка зв'язується в III і IV центрах молекули альбуміну, і наявність вільної SH- групи в положенні 34 [Добрецов, 1998; Грызунов, Добрецов, 1998]. Певний внесок у гетерогенність молекул альбуміну здійснює глікозилювання. Приблизно 6 % молекул альбуміну в СК здорових донорів є глікозильованими. Водночас, у хворих на цукровий діабет з огляду на наявність гіперглікемії у глікозильованому стані перебуває 9-12 % молекул альбуміну [Добрецов, 1998; Грызунов, Добрецов, 1998]. У більшості випадків залишок цукру приєднаний до аміногрупи, яка відіграє важливе місце у зв'язуванні органічних аніонів. Ймовірно, це впливає на властивості зв'язуючого центру альбуміну.

Таким чином, наведена вище інформація дає змогу припустити, що у хворих на цукровий діабет у зв'язку з підвищеним вмістом глікозильованого альбуміну в СК зменшується кількість вільних аміногруп, оскільки до них приєднуються залишки цукру. Ймовірно це призводить до зниження здатності альбуміну до зв'язування органічних аніонів. Тому, можливо, у хворих на цукровий діабет створюються умови до виникнення тривалих гнійно-септичних процесів в організмі. Логічною є

гіпотеза, що "перевантажений цукровими залишками" альбумін не здатний повністю зв'язувати та елімінувати токсичні продукти з організму, що і призводить до виникнення ендогенної інтоксикації. З огляду на зазначене важливим є ґрунтовно вивчити та осмислити зміни спектрально-флуоресцентних характеристик СК при розведенні її ЦБ. Аналіз змін, ймовірно, дозволить прогнозувати перебіг гнійно-септичних процесів у хворих на цукровий діабет, вибрати оптимальну лікувальну тактику і скоротити терміни лікування пацієнтів.

Для проведення дослідження спектрально-флуоресцентних характеристик розведень СК ЦБ готували 12 стандартних розчинів СК з ЦБ. Спектри флуоресценції розведень СК ЦБ наведено на рис.3. Дослідженнями доведено, що з підвищенням концентрації ЦБ в розчині до 12 % I_{ϕ} зростає на 25 %. Феномен, скоріше всього, зумовлений зменшенням концентраційного гасіння СФ СК, який у свою чергу дотичний до ефектів взаємодії між молекулами білків. При подальшому зростанні в розчині концентрації ЦБ I_{ϕ} поступово зменшується і набуває характеристик, притаманних для ЦБ. Тобто, спочатку інтенсивність СФ СК повільно зростає, відтак - повільно спадає і набуває характеристик, притаманних для речовини-розчинника. Положення смуги флуоресценції практично не змінюється і, лише починаючи з 75 % вмісту ЦБ в розчині, відзначається її поступовий монотонний довгохвильовий зсув. Таким чином, ми відзначили, що МФС дає можливість виявити залежність спектрально-флуоресцентних характеристик, а саме I_{ϕ} і положення смуги флуоресценції від вмісту ЦБ в СК.

Таким чином, нами з'ясовано вплив розведень СК ДВ, 20%-ним донорським альбуміном і ЦБ *in vitro* на характер поведінки її спектрально-флуоресцентних параметрів. Цілком можливо, вони віддзеркалюють характеристики СК, типові для захворювань, які супроводжуються гіпопротеїнемією і гіпоальбумінемією або гіперпротеїнемією і гіперглікемією, відповідно. Результати дослідження свідчать про високу чутливість МФС, яка виявляється в чітко вираженій зміні СФ СК при будь-якій, навіть мінімальній, зміні її компонентів. Отримані зміни мають специфічний характер і залежать від концентрації різного типу розведень речовин в СК.

Наступним етапом досліджень було вивчення спектрально-флуоресцентних характеристик розведень СК нецентрифугованими (НЦП) та центрифугованими (ЦП) посівами бактерійної культури (6-денний посів на цукровий бульйон *St. aureus*) з метою створення моделі сепсису *in vitro*. Адже проблема сепсису є однією із найактуальніших у сучасній медичній практиці. Слід відзначити, що незадовільні результати лікування сепсису на сучасному етапі безпосередньо пов'язані з відсутністю надійних методик його експрес-діагностики [Герич та ін., 2003; Герич та ін., 2009]. Ефективне ж лікування сепсису є можливим лише (!) за умови ранньої діагностики.

Незважаючи на значну кількість досліджень, засто-

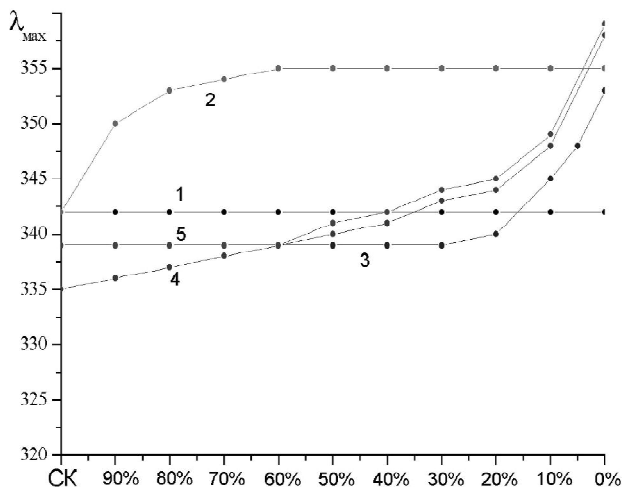


Рис. 6. Вплив розведення дистильованою водою (1), цукровим бульйоном (3), альбумінами (2) та посівами (центрифугованими-4, нецентрифугованими-5) на спектральне положення максимуму λ_{\max} смуги флуоресценції.

сування новітніх методів діагностики і лікування, частота сепсису у світі не зменшується. Це зумовлює значну зацікавленість вчених в пошуку і розпрацюванні нових методів діагностики і лікування сепсису.

Основну увагу ми зосередили на виявленні спектрально-флуоресцентних ознак патогномічної для сепсису патологічної констеляції сироватка крові + бактерія - феномену бактеріємії. Для переконання у правильності наших стверджень, ми створили флуоресцентно-спектральну модель сепсису *in vitro* шляхом розведення СК НЦП і ЦП бактерій [Герич та ін., 2004]. Виготовили 11 стандартних розчинів СК НЦП бактерій: 1 - СК, 2 - 90% СК, 3 - 80% СК, 4 - 70% СК, 5 - 60% СК, 6 - 50% СК, 7 - 40% СК, 8 - 30% СК, 9 - 20% СК, 10 - 10% СК, 11 - НЦП. Об'ємні співвідношення СК і ЦП були такими ж, як і пропорції СК та НЦП. Збудження цих розчинів проводили світлом з довжиною хвилі 280 нм. Результати дослідження СФ розведень СК НЦП та ЦП бактерій наведені на рис. 4, 5, відповідно.

Результати дослідження СФ в обох випадках якісно відрізняються від результатів досліджень СФ розведень СК ДВ, ЦБ і 20%-ним донорським альбуміном. При розведенні СК НЦП та ЦП бактерій I_{ϕ} поступово зменшується зі збільшенням вмісту бактерійної культури в розчині. Водночас, відзначається довгохвильовий зсув смуг флуоресценції (λ_{\max}) розведень, пропорційний до зростання питомої маси бактерійної культури в СК. Слід зазначити, що виявлений ефект змін спектрально-флуоресцентних характеристик розведень СК НЦП та ЦП бактерій зумовлений впливом бактерій та продуктів їх метаболізму на флуоресцентні характеристики СК, а саме зв'язування з молекулами альбуміну [Гаврилов и др., 1998]. Альбумін має високу здатність до комплексоутворення. Тому *in vivo* при важкій ендогенній інтоксикації, властивій гнійно-запальним процесам, в

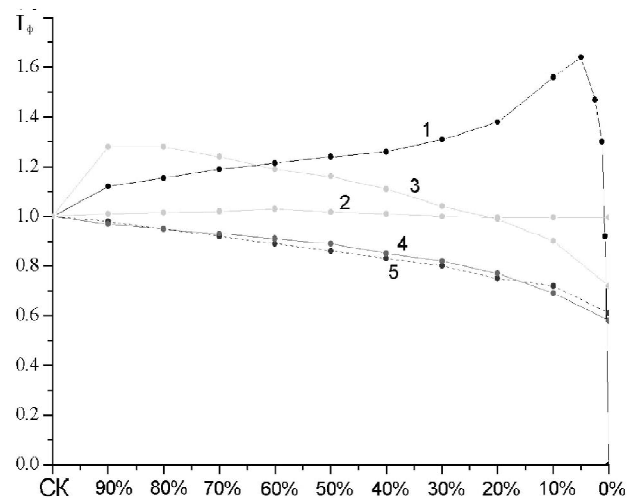


Рис. 7. Вплив розведення дистильованою водою (1), цукровим бульйоном (3), альбумінами (2) та посівами (центрифугованими-4, нецентрифугованими-5) на інтенсивність флуоресценції сироватки крові.

організмі виникають умови для утворення форм альбуміну зі зміненими фізико-хімічними характеристиками. "Перевантажений токсичними продуктами" альбумін не може повноцінно виконувати свою детоксикаційну функцію [Гаврилов и др., 1998; Грызунов, Добрецов, 1998]. За рахунок цього утворюються два різновиди молекул альбуміну (зв'язані і незв'язані з токсичними продуктами метаболізму). Тому важливим є визначення не тільки кількості альбуміну в СК, але і його функціональної активності [Грызунов, Добрецов, 1994; Грызунов, Добрецов, 1998].

Доведено, що починаючи з 10 % вмісту бактерійної культури в СК (пропорції, яка є відповідною до клінічної моделі сепсису) відзначається типовий для сепсису *in vivo* феномен - зсув на 7-10 нм у довгохвильову область. Слід зазначити, що зміни СФ СК при розведенні СК НЦП та ЦП бактерій мають специфічний характер і формують підґрунтя для напрацювання флуоресцентного методу для ранньої діагностики сепсису шляхом вивчення спектрально-флуоресцентної моделі сепсису *in vivo*. Незважаючи на агресивне хірургічне лікування, застосування в терапевтичних програмах найновіших методик лікування та новітніх ефективних медикаментів, у 40 % хворих перебіг захворювання ускладнюється септичним шоком, а загальна летальність коливається в критичних межах - 43-95 % [Angus, 2001; Герич та ін., 2009].

Післяпологові гнійно-септичні ускладнення поруч з кровотечами, пізніми гестозами вагітних та екстрагенітальною патологією є основними причинами сепсису і материнської смертності. На перший погляд парадоксальним виглядає той факт, що на фоні покращення якості надання медичної допомоги, зростає частота післяпологових гнійно-септичних ускладнень. Поступово розширюються показання до оперативних

втручань при пологах і зростає кількості вагітностей у жінок з екстрагенітальною патологією, в тому числі важких її форм. Тому слід зазначити, що в найближчій перспективі не очікується зменшення частоти післяпологових гнійно-септичних ускладнень, а розпрацювання нового методу ранньої діагностики сепсису *in vivo* на основі вивчення спектрально-флуоресцентної моделі сепсису *in vitro* є науково-обґрунтованим і перспективним напрямком в сучасній медичній практиці [Angus, 2001; Герич та ін., 2013].

Таким чином, застосована "модель захворювань *in vitro*", яка дає можливість відтворити зміни СК при різних захворюваннях та лікувальних заходах. На рис.6, 7 наведено результати залежностей λ_{\max} та ІФ, відповідно, від вмісту СК в різного типу розведеннях СК. Слід зазначити, що запропоновані експерименти *in vitro* демонструють можливі зміни СФ СК при різних захворюваннях і різних лікувальних заходах (розведення СК ДВ - при гіпопротеїнемії, гіпоальбумінемії, розведен-

ня СК 20% альбуміном - при гіперпротеїнемії, ЦБ - при гіперглікемії).

Висновки та перспективи подальших розробок

1. Проведено за допомогою методу флуоресцентної спектроскопії дослідження моделей сироватки крові при захворюваннях *in vitro*, які допоможуть глибше зрозуміти подібні зміни у різних групах хворих.

2. Розведення сироватки крові бактерійною культурою (центрифугованою і нецентрифугованою), починаючи з 10 % вмісту центрифугованих або не центрифугованих посівів бактерій в сироватці крові дає можливість відтворити пропорції, які відповідають клінічній моделі сепсису.

Метод флуоресцентної спектроскопії можна рекомендувати для подальшого опрацювання і впровадження у клінічну практику для ранньої діагностики захворювань, в тому числі сепсису різної етіології.

Булавенко О.В., Герич І.Д., Остапюк Л.Р., Волошинівський А.С., Мягкота С.В., Ващук В.В.

МОДЕЛИРОВАНИЕ ИЗМЕНЕНИЙ СЫВОРОТКИ КРОВИ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ И ЛЕЧЕБНЫХ МЕРОПРИЯТИЯХ

Резюме. В работе проведено разведение сыворотки крови дистиллированной водой, 20% донорским альбумином, сахарным бульоном, центрифугированные и нецентрифугированные бактериальной культурой *in vitro*. Изучены изменения спектрально-флуоресцентных параметров (СФ) этих разведений сыворотки крови с целью обоснования констатировано *in vivo* СФ-явления изменений при различных заболеваниях и лечебных мероприятиях. Обосновано создание "спектрально-флуоресцентной модели сепсиса *in vitro*" и изучено ее корреляцию с изменениями СФ параметров сыворотки крови у больных сепсисом *in vivo*.

Ключевые слова: разведение сыворотки крови, модели заболеваний *in vitro*, сепсис.

Bulavenko O.V., Gerych I.D., Ostapyuk L.R., Voloshinovskii A.S., Myagkota S.V., Vashchuk V.V.

MODELLING CHANGES IN BLOOD SERUM AT DIFFERENT DISEASES AND THERAPEUTIC MEASURES

Summary. We made the blood serum solutions with distilled water, 20% donor albumin, sugar broth, centrifuged and noncentrifuged bacterial culture *in vitro*. We studied changes of spectral-fluorescent (SF) characteristics for the aim of substantiation of constated *in vivo* SF-phenomenon changes of blood serum solutions while diseases or therapeutic measures took place. We substantiated the creation of "in vitro spectral-fluorescent model of sepsis" and studied its correlation with changes of SF characteristics of blood serum in patients with sepsis *in vivo*.

Key words: blood serum solutions, *in vitro* models of diseases, sepsis.

Стаття надійшла до редакції 7.09.2012 р.

© Макогончук А.В.

УДК: 616.71-007.234:616-003.93

Макогончук А.В.

Кафедра травматології та ортопедії з курсом медицини катастроф Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова (вул. Пирогова, 56, м. Вінниця, Україна, 21018)

РЕПАРАТИВНА РЕГЕНЕРАЦІЯ КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ НА ТЛІ СИСТЕМНОГО ОСТЕОПОРОЗУ

Резюме. Встановлено, що наявність системного остеопорозу у експериментальних тварин не впливає на перебіг репаративного процесу на ранній та середній стадіях утворення мозолу, однак спричиняє достовірне зниження якісних та кількісних показників регенерації на стадіях формування та мінералізації остеїду в порівнянні з тваринами контрольної групи.

Ключові слова: регенерація кісткової тканини, оваріоектомія, остеопороз.

Вступ

Остеопороз - захворювання, що характеризується низькою кістковою масою, змінами мікроархітектоніки кістки, підвищеною її ламкістю та збільшенням ризику

виникнення переломів [Richard, Wasnich, 1996]. Розповсюдженість остеопорозу в США складає більше 10 млн. чоловік, а вартість лікування остеопорозу та його