

DOI 10.29254/2077-4214-2017-4-3-141-195-198

УДК: 616.31-002-085.276-085.844.015.21

Патерега Н. І., Шамлян О. В., Шевчук Л. П.

**ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ВИВЧЕННЯ ПРОТИЗАПАЛЬНОГО ЕФЕКТУ  
АПРОТИНІНУ ТА ФЛЮКТУРУЮЧИХ СТРУМІВ****Львівський національний медичний університет  
ім. Данила Галицького (м. Львів)**

npaterega@gmail.com

Дана публікація є фрагментом теми НДР кафедри хірургічної стоматології та щелепно-лицевої хірургії ЛНМУ імені Данила Галицького «Пошук, впровадження і шляхи удосконалення методів діагностики та лікування запальних, травматичних процесів, дефектів та деформацій ЩЛД» (№ державної реєстрації: 0110U008228).

**Вступ.** У медичній практиці з арсеналу фармакологічних препаратів перспективним є застосування інгібіторів протеолізу, що володіють широким спектром фармакологічної активності, зокрема, проти-запальної. Пригнічуючи активність протеолітичних ферментів, вони запобігають масивному утворенню кінинів та тканевій деструкції [6]. Апротинін є інгібітором багатьох протеаз (трипсин, калікреїн, плазмін, кінін та ін.), він знижує руйнування комплементарних білків, базофілів, опасистих клітин та виділення з них запальних медіаторів, забезпечуючи проти-запальну, протифібринолітичну, протишокову дію. Його препарати (контрикал, трасилол, гордокс) застосовуються у комплексній терапії різноманітних захворювань [2,8]. В літературі є дані щодо проти-запального ефекту апротиніну при його місцевому застосуванні та при введенні шляхом електрофорезу для лікування хронічних запальних процесів [7,9]. На сьогоднішній день актуальним є вивчення ефективності флюктуруючих струмів при різних патологічних станах [1,5]. Тому науково-практичний інтерес становить питання введення препаратів апротиніну за допомогою флюктуруючих струмів, так званої флюктуофорез, зокрема при гострому запаленні. На українському фармацевтичному ринку є препарат на основі апротиніну – «Контривен». Дослідження його проти-запальної ефективності у поєднанні із фізіотерапевтичним впливом стало предметом даного експерименту. Оскільки, апротинін при гострому запаленні знижує руйнування опасистих клітин і блокує виділення з них медіаторів запалення, то визначення рівня гістаміну і серотоніну може слугувати критерієм ефективності застосування різних методів проти-запальної фізіотерапії.

**Мета дослідження** – дослідити в експерименті на щурах вплив апротиніну, введеного шляхом флюктуофорезу, на вміст гістаміну тканин і серотоніну крові на моделі гострого асептичного запалення.

**Об'єкт і методи дослідження.** До експерименту були залучені 42 щури-самки лінії «Вістар» масою 180-200 г, яких було поділено на 3 дослідні групи, кожна з них – на 2 підгрупи в залежності від терміну виведення тварин з експерименту. За 48 год. до по-

чатку досліду тваринам, яким проводили фізіотерапевтичні процедури, виголювали шерсть на животі та спині. Усім тваринам моделювали гостре асептичне запалення брижі кишківника за допомогою одноразового підочеревинного введення 0,1 мл 1% розчину карагеніну [4]. Згідно даних наукової літератури, після підшкірного введення карагеніну відразу розвиваються явища, характерні для гострого неімунного запального процесу (набряк, еритема, гіпералгезія) [11].

Через 30 хвилин після ін'єкції розчину карагеніну тваринам першої дослідної групи (ДГ1 – 14 щурів) проводили флюктуоризацію із застосуванням приладу низькочастотної електротерапії «Радиус – 01» (Беларусь), а тваринам другої дослідної групи (ДГ2 – 14 щурів) – флюктуофорез препаратом на основі апротиніну («Контривен», Біофарма, ПрАТ, м. Київ) впродовж 10 хвилин. Контролем слугували тварини без корегуючого впливу на запальний процес (КГ – 14 щурів).

Через 30 хвилин після проведення фізіотерапевтичного впливу по 7 тварин з перших підгруп ДГ1 і ДГ2 під загальним знечуденням (шляхом передозування хлороформного наркозу) виводили з експерименту і здійснювали забір змішаної крові для визначення серотоніну і тканин передньої черевної стінки з очеревиною та брижі кишківника для визначення вмісту гістаміну, через 60 хвилин – тварин з других підгруп ДГ1 і ДГ2. Щурів з контрольної групи – аналогічно по 7 тварин з кожної підгрупи у терміни 60 та 90 хвилин від початку експерименту. Такі терміни дослідження були зумовлені тим, що у розвитку карагенінового запалення у перші 30...90 хв найбільшу участь беруть гістамін і серотонін [10].

Вміст гістаміну в тканинах і серотоніну в крові визначали за допомогою спектрофотометра «НІТАСНІ МРФ – 4» (Японія) [3].

Всі дослідження були здійснені відповідно до Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» № 3447-IV, Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідницьких або інших наукових цілей (1986), наказу Міністерства освіти, науки, молоді та спорту України «Порядок проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах».

Дослідження були проведені у віварії Державного науково-дослідного контрольного інституту ветеринарних препаратів та кормових добавок і у Центральній науково-дослідній лабораторії (ЦНДЛ) та лабораторії промислової токсикології Львівського

національного медичного університету імені Данила Галицького.

Статистичну обробку результатів дослідження проводили вираховуючи середнє арифметичне, середнє квадратичне відхилення і порівнювали за допомогою *t*-критерію Стьюдента. Вірогідність отриманих результатів здійснювали на рівні значущості не менше, ніж 95%,  $p \leq 0,05$ .

**Результати дослідження та їх обговорення.**

Результати визначення гістаміну в тканинах передньої черевної стінки та брижі кишківника при асептичному карагеніновому запаленні представлені у таблиці 1.

**Вміст гістаміну в тканинах передньої черевної стінки і брижі кишківника при асептичному карагеніновому запаленні на тлі флюктуоризації та флюктуофорезу**

Групи тварин	Вміст гістаміну, мкг/г			
	Перша підгрупа (n=7)		Друга підгрупа (n=7)	
	в передній черевній стінці	в брижі кишківника	в передній черевній стінці	в брижі кишківника
Контрольна група (КГ) (n=14)	0,23±0,027	1,01±0,046	0,28±0,040 λ	1,76±0,247 λλ
Дослідна група (ДГ1) (n=14)	0,25±0,042	0,74±0,178**	0,27±0,039	0,69±0,061**
Дослідна група (ДГ2) (n=14)	0,24±0,039	0,71±0,077**	0,26±0,049	0,58±0,101#** λ

**Примітка:** \* – Достовірна різниця з контрольною групою з вірогідністю > 95%, \*\* – Достовірна різниця з контрольною групою з вірогідністю > 99%, # – Достовірна різниця з ДГ1 з вірогідністю > 95%, λ – Достовірна різниця між підгрупами з вірогідністю > 95%, λ λ – Достовірна різниця між підгрупами з вірогідністю > 99%.

При визначенні гістаміну в тканинах передньої черевної стінки тварин, яким було відтворено гострий запальний процес і не проводився коригуючий вплив на ранню фазу гострого запалення (КГ), встановлено його вміст на рівні 0,23±0,027 мкг/г у тварин першої підгрупи та 0,28±0,040 мкг/г – другої підгрупи ( $p < 0,05$ ), тобто у період з 60 до 90 хвилин від початку експерименту була тенденція до його зростання, хоча показники були доволі низькими.

У тварин першої дослідної групи (ДГ1) гістамін, який визначали через 30 хв. після проведення флюктуоризації в ділянці живота, становив 0,25±0,042 мкг/г, ще через 30 хв. – 0,27±0,039 мкг/г (відповідно перша і друга підгрупи) ( $p > 0,05$ ).

На тлі проведення флюктуофорезу препаратом апротиніну у тварин другої дослідної групи (ДГ2) спостерігався вміст гістаміну на рівні 0,24±0,042 мкг/г (перша підгрупа) і 0,26±0,049 мкг/г (друга підгрупа) ( $p > 0,05$ ). Отже, результати визначення гістаміну у тканинах передньої черевної стінки з очеревиною не мають статистично значущої відмінності ( $p > 0,05$ ).

Як видно з таблиці 1, гістамін у брижі кишківника тварин контрольної групи (КГ) через

годину після введення карагеніну (перша підгрупа) становив 1,01±0,046 мкг/г і продовжував ще зростати впродовж 30 хв. до 1,76±0,247 мкг/г ( $p < 0,05$ ). У тварин після проведення флюктуоризації (ДГ1) гістамін у ці ж терміни дослідження був на рівні 0,74±0,178 мкг/г та 0,69±0,061 мкг/г ( $p > 0,05$ ). Оскільки різниця не достовірна, зроблено висновок про те, що флюктуруючі струми гальмують зростання гістаміну у тканинах. Водночас, поєднане застосування апротиніну і флюктуруючих струмів у вигляді флюктуофорезу з препаратом апротиніну (ДГ2) спричинило зменшення вмісту гістаміну у порівнянні з контрольною групою на 30% (з 1,01±0,046 мкг/г до 0,71±0,077

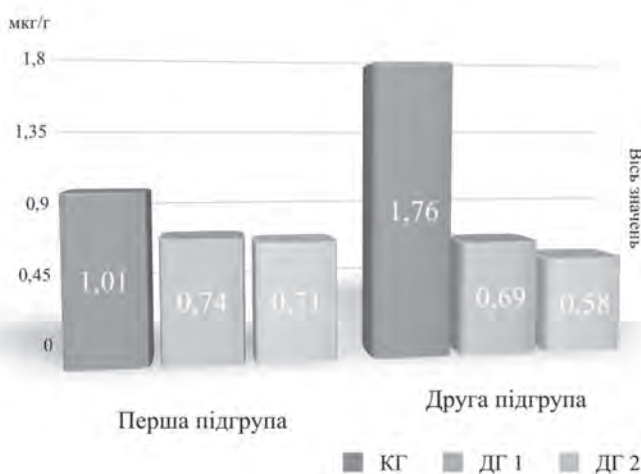
Таблиця 1.

мкг/г) ( $p < 0,01$ ) у тварин першої підгрупи і на 66% (з 1,76±0,247 мкг/г до 0,58±0,101 мкг/г) ( $p < 0,01$ ) – другої підгрупи.

Динаміка змін гістаміну у вогнищі запалення і під впливом апротиніну та флюктууючого струму представлена на **рисунку 1**.

Результати визначення серотоніну в крові при асептичному карагеніновому запаленні представлені у **таблиці 2**.

Як видно з представленої **таблиці 2**, підочеревинне введення карагеніну призводить до зростання рівня серотоніну у крові від 0,143±0,010 мкг/см<sup>3</sup> до 0,194±0,008 мкг/см<sup>3</sup> ( $p < 0,01$ ) у терміни з 60 до 90 хвилин від початку експерименту. Це відповідає збільшенню його вмісту у крові на 35%. У тварин першої дослідної групи серотонін збільшувався у ці ж терміни лише на 13% (з 0,138±0,016 мкг/см<sup>3</sup> до 0,156±0,008 мкг/см<sup>3</sup>)



**Рис. 1.** Вміст гістаміну в брижі кишківника при асептичному карагеніновому запаленні на тлі флюктуоризації та флюктуофорезу.

Таблиця 2.

**Вміст серотоніну в крові при асептичному карагеніновому запаленні на тлі флюктуоризації та флюктуофорезу**

Групи тварин	Вміст серотоніну, мкг/см <sup>3</sup>	
	Перша підгрупа (n=7)	Друга підгрупа (n=7)
Контрольна група (КГ) (n=14)	0,143±0,010	0,194±0,008 λλ
Дослідна група (ДГ1) (n=14)	0,138±0,016	0,156±0,008** λ
Дослідна група (ДГ2) (n=14)	0,124±0,020*	0,120±0,007**##

**Примітка:** \* – Достовірна різниця з контрольною групою з вірогідністю > 95%, \*\* – Достовірна різниця з контрольною групою з вірогідністю > 99%, # – Достовірна різниця з ДГ1 з вірогідністю > 95%, ## – Достовірна різниця з ДГ1 з вірогідністю > 99%, λ – Достовірна різниця між підгрупами з вірогідністю > 95%, λλ – Достовірна різниця між підгрупами з вірогідністю > 99%.

( $p < 0,05$ ). Цікавими виявились результати визначення серотоніну у тварин другої дослідної групи: так, у тварин першої підгрупи вміст серотоніну був достовірно нижчий ( $0,124 \pm 0,020$  мкг/см<sup>3</sup>) у порівнянні з контрольною групою ( $0,143 \pm 0,010$  мкг/см<sup>3</sup>) ( $p < 0,05$ ) та спостерігалась тенденція до його зменшення у тварин другої підгрупи ( $0,120 \pm 0,007$  мкг/см<sup>3</sup>).

Динаміка змін серотоніну при асептичному карагеніновому запаленні на тлі флюктуоризації та флюктуофорезу представлена на **рисунок 2**.

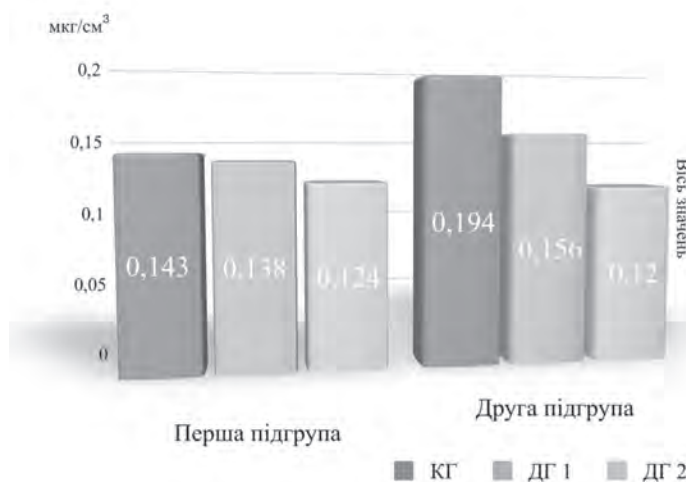
В результаті проведених досліджень встановлено, що у контрольній групі тварин (КГ), яким було відтворено гострий за-

ними підгрупами контролю. У брижі кишківника гістаміну у порівнянні з контрольною групою було на 30% менше у тварин першої підгрупи і на 66% – другої. Показники гістаміну у тканинах передньої черевної стінки не були достовірно відмінними.

Отже, проведення флюктуофорезу апротиніном при асептичному запальному процесі має виражений протизапальний ефект за рахунок гальмуючої дії на вивільнення медіаторів запалення – гістаміну та серотоніну.

**Висновки.** Проведені експериментальні дослідження підтвердили протизапальний ефект флюктуруючого струму при гострому серозному запальному процесі (карагеніновий перитоніт). Це було унаочнено визначенням рівня серотоніну крові та гістаміну тканини брижі кишківника. Поєднаний вплив апротиніну і флюктуруючого струму спричинив більш виражене зменшення вмісту досліджуваних медіаторів запалення у тварин з експериментальною моделлю гострого асептичного запалення. Введення шляхом флюктуофорезу препарату, основною діючою речовиною якого є апротинін, достовірно гальмувало розвиток гострої фази запального процесу, що було підтверджено зменшенням вмісту серотоніну в крові і гістаміну у тканинах на моделі асептичного запалення.

**Перспективи подальших досліджень.** На основі отриманих результатів експерименту можна в умовах клініки продовжити дослідження із застосування флюктуофорезу препаратом на основі апротиніну у пацієнтів з проявами серозних запальних процесів.



**Рис. 2.** Вміст серотоніну в крові при експериментальному перитоніті на тлі флюктуоризації та флюктуофорезу.

пальний процес і не проводився коригуючий вплив на ранню фазу гострого запалення, спостерігалось достовірне підвищення рівня гістаміну в брижі кишківника і серотоніну в крові в період з 60 до 90 хвилини від початку експерименту (введення карагеніну).

Проведення флюктуоризації тваринам з експериментальним перитонітом (ДГ1) гальмувало зростання досліджуваних медіаторів запалення (серотоніну та гістаміну в крові і у брижі кишківника).

Після введення апротиніну шляхом флюктуофорезу (ДГ2), виявлено суттєвіше зменшення вмісту серотоніну у крові тварин першої підгрупи відповідно на 13%, а другої – на 38% у порівнянні з аналогіч-

**Література**

1. Hadzhyev R.S. Fliuktuoforez meksydola posle provedeniya synuslyftnyh u patsyentov s khronycheskymu vospalytelnyim protsessamy verkhnecheliustnoi pazukhy / R.S. Hadzhyev, M.Iu. Herasymenko, M.A. Amkhadova, A.H. Khryikova // Fzyoterapiya. Balneolohiya. Reabyltatsiya. – 2014. – № 2. – S. 25-30.
2. Dementeva Y.Y. Aprotyryn: bezopasnost pryimeneniya v khyrurhicheskoy praktyke: Obzor / Y.Y. Dementeva, M.A. Charnaia, Yu.A. Morozov // Anestezyolohiya y reanymatolohiya. – 2007. – № 2. – S. 69-71.
3. Kamyishnykov V.S. Spravochnik po klynyko-byokhymycheskoy laboratornoy dyahnostyke: v 2 t. / V.S. Kamyishnykov. – M. Belarus, 2002. – 463 s.
4. Klymenko N.A. Rol leukotsytov v reaktsyy tuchnykh kletok ochaha vospaleniya / N.A. Klymenko // Biul. eksperym. byolohyy u medytsyni. – 1993. – T. 116, № 9. – S. 249-253.
5. Ohonovskiy R.Z. Dosvid zastosuvannya fliukturniuchykh strumiv u stomatolohii i shchhelepno-lytsevii khirurhii (Ohliad literatury) / R.Z. Ohonovskiy, N.I. Patereha // Bukovynskiy medychnyi visnyk, Chernivtsi. – 2015. – T. 19, № 4 (76). – S. 223-226.

6. Palii I.I. Rol kalikrein-kininovoї systemy u rozvytku patolohichnykh staniv v orhanizmi liudyny ta mozhyvi shliakhy yikh korektsii / I.I. Palii, S.V. Zaika, D.V. Palii // 3. – 2007. – № 10. – С. 21-25.
7. Ulashchuk V.S. Elektroforez lekarstvennykh veshchestv: rukovodstvo dlia spetsyalystov / V.S. Ulashchuk. – Mynsk: Navuka, 2010. – 404 s.
8. Charnaia M.A. Yspolzovanye aprotynyna pry khyrurhycheskykh vmeshatelstvakh, sopriazhennykh s vyisokym ryskom hemorrahycheskykh oslozhneniy / M.A. Charnaia, Y.Y. Dementeva // Khyrurhyia. – 2005. – № 11. – С. 71-76.
9. A randomized clinical trial to compare the efficacy of submucosal aprotinin injection and intravenous dexamethasone in reducing pain and swelling after third molar surgery: a prospective study / Gururaj Arakeri, Kirthi Kumar Rai, H.R. Shivakumar, Bhushan Jayade // J Maxillofac Oral Surg. – 2013. – № 12. – P. 73-79.
10. Di Rosa M. Stadies on the mediators of the acute inflammatory response induced in rats in different sites by carrageenan and turpentine / M. Di Rosa, J.P. Giroud, D.A. Willoughby // Journal of Pathology. – 1971. – № 104. – P. 15-29.
11. Morris C.J. Carrageenan-induced paw edema in the rat and mouse / C.J. Morris // Methods Mol Biol. – 2003. – № 225. – P. 115-121.

### ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ВИВЧЕННЯ ПРОТИЗАПАЛЬНОГО ЕФЕКТУ АПРОТИНІНУ ТА ФЛЮКТУРУЮЧИХ СТРУМІВ

**Патерега Н. І., Шамлян О. В., Шевчук Л. П.**

**Резюме.** В експериментах на 42 щурах показано, що введення шляхом флюктуофорезу препарату, основною діючою речовиною якого є аprotинін, достовірно гальмувало розвиток гострої фази запального процесу, і це було підтверджено зменшенням вмісту серотоніну в крові і гістаміну у тканинах брижі кишківника на моделі гострого асептичного запалення (карагеніновий перитоніт). Поєднаний вплив аprotиніну і флюктуруючого струму спричинив більш виражене зменшення досліджуваних медіаторів запалення, ніж флюктуоризація.

**Ключові слова:** аprotинін, флюктуоризація, флюктуофорез, запальний процес, гістамін, серотонін.

### ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ЭФФЕКТА АПРОТИНИНА И ФЛЮКТУИРУЮЩЕГО ТОКА

**Патерега Н. И., Шамлян Е. В., Шевчук Л. П.**

**Резюме.** В експериментах на 42 крысах доказано, что введение путем флюктуофореза препарата, основным действующим веществом которого является аprotинин, вызывает достоверное торможение развития острой фазы воспалительного процесса, и это было подтверждено уменьшением содержания серотонина в крови и гистамина в тканях брыжейки кишечника на модели острого асептического воспаления (карагеніновий перитоніт). Совместное влияние аprotинина и флюктуирующего тока вызывало более выраженное уменьшение исследуемых медиаторов воспаления, чем флюктуоризация.

**Ключевые слова:** аprotинин, флюктуоризация, флюктуофорез, воспалительный процесс, гистамин, серотонин.

### EXPERIMENTAL STUDY OF ANTI-INFLAMMATORY EFFECT OF APROTININ AND FLUCTUATING CURRENTS

**Paterega N., Shamlyan O., Shevchuk L.**

**Abstract.** There are data on the anti-inflammatory effect of aprotinin in the scientific literature, when it is applied topically and when administered by electrophoresis for the treatment of chronic inflammatory processes. The introduction of aprotinin with fluctuating currents, the so-called fluctuoresis, in particular in acute serious inflammation is of scientific and practical interest.

The purpose of this study was to investigate in an experiment on rats the effect of aprotinin, administered by fluctuoresis, by estimating the histamine and serotonin levels of blood on the model of acute aseptic inflammation.

42 rats were modeled with carrageenan peritonitis in the experiment. 30 minutes later, after injections of carrageenan, animals of the first experimental group (EG1) were undergone with fluctuorization, using low-frequency electrotherapy device "Radius-01" (Belarus), and animals of the second one (EG2) were undergone with fluctuoresis on the basis of aprotinin-based preparation for 10 minutes. Control group (CG)- without physiotherapeutic effect. After 30 minutes (1 subgroup) and 60 min (2 subgroup) – 7 animals of each group were taken out from the experiment.

It has been proved that the combined application of aprotinin and fluctuating currents in the form of fluctuoresis (EG2) resulted in a decrease of the histamine content in the mesogaster, compared with the control group by 30% (from 1,01±0,046 to 0,71±0,077 mkg/g) in animals of the first subgroup and by 66% (from 1,76±0,247 to 0,58±0,101 mkg/g) – of the second subgroup. After in taking of aprotinin it has been revealed a decrease of serotonin in blood, compared to similar control subgroups by 13% 30 min. After fluctuoresis and by 38% after 60 min. As a result of the studies, it has been proved that in taking fluctuoresis by the medicine, the main active substance of which is aprotinin, significantly inhibited the development of acute phase of the inflammatory process, and this was confirmed by a decrease of serotonin content in blood and histamine in the mesogaster tissues on the model of acute aseptic inflammation. The combined effect of aprotinin and fluctuating current have caused more pronounced reduction of the studied inflammation mediators than fluctuorization.

**Keywords:** aprotinin, fluctuarization, fluctoforesis, inflammation, gistamin, serotonin.

*Рецензент – проф. Костенко В. О.*

*Стаття надійшла 10.11.2017 року*