

УДК 614.876: 616-055.6: 577.122: 616-092.4

ГЕМАТОЛОГІЧНІ ПОКАЗНИКИ В ДИНАМІЦІ ЕКСТРЕМАЛЬНИХ УШКОДЖЕНЬ

Мардашко О.О., Степанов Г.Ф., Костіна А.А.

Одеський національний медичний університет, м. Одеса, Україна

В роботі досліджено динаміку гематологічних показників при екстремальних ушкодженнях. Встановлено, що після опіку значно знижується вміст білка у сироватці крові протягом усіх термінів спостереження. На 3-ю добу відбувається суттєве зниження кількості еритроцитів та вмісту гемоглобіну, яке досягає мінімальних величин на 7-у добу, і в наступні терміни дослідження спостерігається лише тенденція до їх нормалізації. Кількість ретикулоцитів нормалізується на 7-у добу і продовжує зростати на 15-у добу, досягаючи максимальних значень на 30-у добу, більш, як у 1,7 разу перевищуючи показники інтактних тварин. Лейкоцитоз супроводжує опікову травму протягом усього експерименту, максимальних значень досягає на 15-у добу, перевищуючи у 1,6 разу показники інтактних тварин, а на 30-у достовірно знижується порівняно з попереднім терміном дослідження, але продовжує суттєво перевищувати показники інтактних тварин. Лімфопенія характерна для усіх термінів дослідження опікової травми, коли кількість лімфоцитів майже на чверть нижча від показників інтактних тварин.

Ключові слова: опікова травма, клітини крові, білок, піруват, лактат.

Актуальність теми.

В основі розвитку опікової хвороби лежать глибокі морфо-функціональні зміни як в зоні опіку, так і в усьому організмі [1-3]. В залежності від температури і терміну дії агента, поверхні опікового ураження, розвивається опікова хвороба різного ступеня тяжкості. Реакція організму на вплив високої температури і термічне ураження тканин складається із больового стреса, специфічного токсинуотворення і неспецифічного запального процесу. Формується реакція цілісного організму на пошкодження [4], яка включає комплекс захисно-приспосувальних механізмів [5], які в подальшому частково переростають в механізм пошкодження і беруть участь у формуванні тих чи інших порушень у організмі [6].

Метою цієї роботи було дослідження динаміки гематологічних показників при екстремальних ушкодженнях.

Матеріал і методи

Експериментальні дослідження проведені на статевозрілих щурах-самцях лінії Вістар, що знаходилися на стандартній дієті віварія. Під час підготовки тварин до опіку шерсть на спині депілювали підігрітим 10 % розчином сірчанисотого натрію. Наносили світовий термічний опік III-Б ступеню, що займав 15 % поверхні тіла тварини.

Опікову поверхню розраховували за формулою: $S = K \cdot W^{0.6}$,

де K — коефіцієнт, що дорівнює для щурів 12,54;

W — маса тіла тварини в г [7].

Для математичних розрахунків користувалися формулою:
 $\lg S + \lg K + 0,6 \lg W$.

Для нанесення опіку користувалися приладом, що складається із віддзеркалювача, в який вмонтовані 3 галогенові лампи, потужністю 2000 Вт кожна, що з2

єднані з електричною мережею через реле часу.

З метою отримання опікової поверхні потрібної площі, тварин поміщали до камери з рухомим екраном, що розташована на 1,5 см від джерела нагріву. Час нанесення опіку — 4 сек.

Для визначення температури на поверхні тіла тварини і під шкірою в момент нанесення опіку використовували відкалібровану голчасту термометру хро-маль-алюмель, сполучену з гальванометром. Температура на поверхні шкіри при цьому досягала 300°C, під шкірою — 65°C. Такі опіки вважаються опіками середнього ступеня тяжкості. Летальність тварин протягом 1 місяця досягала 5,56 %.

Тварин утримували в обмінних клітках і брали в хронічний експеримент через 1, 3, 7, 15 і 30 діб після нанесення опіку. Форменні елементи, вміст білка виявляли в крові, отриманої із хвостової вени тварин. Це дозволяє об'єктивно фіксувати біостатус і динаміку досліджуваних показників у одних і тих же тварин протягом всіх термінів дослідження.

Активність лактатдегідрогенази у сироватці крові та вміст лактату і пірувату у крові виявляли спектрофотометрично [8]. Принцип методу полягає у ензиматичній реакції, яка каталізується ЛДГ, що додається у реакційну суміш, у присутності окисленої або відновленої форми НАД, накопичення або втрата якої реєструється спектрофотометрично при 340 нм проти контролю, де відсутній тканинний екстракт, і виражали у мкмоль/мл крові за формулою:

$$A = \frac{\Delta E \cdot V \cdot K}{6.22}$$

де ΔE — зміна екстинкції при 340 нм;
 V — об'єм проби у кюветі;
 K — розведення проби;

Мікровизначен-

ня білка в сироватці крові проводили спектрофотометричним біуретовим методом [9].

Екскрецію азоту та розпад білка в організмі тварин виявляли за методом Кьельдаля [10].

Методи статистичної обробки отриманих результатів Отримані результати піддавали статистичній обробці з використанням комп'ютерних програм [11].

Результати та їх обговорення

Під впливом термічної травми в першу добу відбувається незначне зниження маси тіла тварин, але в наступні терміни на 3 та 7 добу поступово знижується і лише на 30-у добу суттєво не відрізняється від інтактних тварин на початку експерименту. Разом з тим і на 15-у і на 30-у добу після опіку маса тіла продовжує бути значно нижчою від одновікових інтактних тварин (табл. 1.).

Після опіку значно знижується вміст білка у сироватці крові протягом усіх термінів спостереження (табл. 2.). Разом з тим, розпад білку у організмі експериментальних тварин більш, як у 1,5 рази перевищує показники інтактних тварин у 1-у добу дослідження, продовжує зростати на 3-ю добу, значно знижується на 7-у та 15-у добу у порівнянні з попередніми термінами, але достовірно перевищує показники інтактних тварин, і лише на 30-у добу нормалізується.

Клітини червоної гілки кровотворення — еритроцити і ретикулоцити в 1-у добу після опіку не відрізняються від показників інтактних тварин як і вміст ге-

Таблиця 1

Динаміка маси тіла тварин після опіку III-Б ступеню 15% поверхні тіла.

Групи тварин	Стат. показ.	Терміни дослідження після опіку				
		1 доба	3 доби	7 діб	15 діб	30 діб
Інтактні n = 8	M	188,0			220,1	243,0
	±m	2,4			5,14	4,17
	%	100			100	100
Опік n = 12	M	176,5	168,1	163,1	169,8	178,4
	±m	7,06	6,41	6,23	5,92	4,08
	%	93,9	89,4	86,8	90,05	94,9
	p	>0,05	<0,05	<0,05	<0,05	>0,05
	p ₁				<0,01	<0,01

Примітки: p – достовірність відмінностей у порівнянні з інтактними тваринами на початку експеримента; p₁ - достовірність відмінностей у порівнянні з одновіковими інтактними тваринами

Таблица 2.

Динаміка гематологічних показників у тварин після опіку III-Б ступеню

Гематологічний показник	Стат. показ.	Інтактні	Терміни дослідження після опіку				
			1 доба	3 доби	7 діб	15 діб	30 діб
Білок сироватки г/л	M	58,97	46,53	45,98	45,77	47,22	49,22
	± m	1,09	2,15	1,24	2,43	2,42	0,91
	n	40	12	12	12	12	12
	p		< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001
Розпад білка у організмі тварин (мг/добу)	M	478,25	764,56	843,31	619,94	602,0	500,69
	± m	23,38	47,94	78,69	55,31	34,25	52,12
	n	40	12	12	12	12	12
	p		< 0,001	< 0,001	< 0,05	< 0,05	> 0,5
Гемоглобін г/л	M	182,0	189,5	160,0	150,0	159,3	162,0
	± m	2,4	2,9	4,6	3,4	3,3	3,8
	n	24	12	12	12	12	12
	p		> 0,05	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001
Еритроцити 10 ¹² /л	M	5,78	5,81	4,94	4,65	5,04	5,09
	± m	0,07	0,07	0,17	0,08	0,10	0,14
	n	24	12	12	12	12	12
	p		> 0,5	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001
Ретикулоцити %	M	33,0	36,7	27,1	44,8	48,1	57,3
	± m	1,4	2,7	2,4	6,4	5,5	8,1
	n	24	12	12	12	12	12
	p		< 0,5	< 0,05	> 0,05	< 0,05	< 0,01
Тромбоцити 10 ⁹ /л	M	686,4	695,1	534,0	538,6	577,5	662,4
	± m	32,5	18,3	24,7	56,1	21,9	48,6
	n	24	12	12	12	12	12
	p		> 0,5	< 0,01	< 0,05	< 0,01	> 0,5
Лейкоцити 10 ⁹ /л	M	17,04	20,46	24,80	26,40	27,20	22,50
	± m	0,70	1,02	1,24	2,37	1,67	1,03
	n	24	12	12	12	12	12
	p		< 0,01	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001
Лімфоцити %	M	52,0	41,4	39,8	39,5	40,0	40,5
	± m	4,1	1,94	2,97	3,49	3,34	2,79
	n	24	12	12	12	12	12
	p		< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05

Примітка: p- достовірність відмінностей у порівнянні з інтактними тваринами

моглобін у еритроцитах. На 3-ю добу відбувається їх суттєве зниження і якщо кількість еритроцитів і вміст гемоглобіну в них на 7-у добу досягає мінімальних величин і в наступні терміни дослідження спостерігається лише тенденція до їх нормалізації, то кількість ретикулоцитів нормалізується на 7-у добу і продовжує зростати на 15-у добу, досягаючи максимальних значень на 30-у добу, більш, як у 1,7 разу перевищуючи показники інтактних тварин.

Вміст тромбоцитів, як і вміст еритроцитів і ретикулоцитів в 1-у добу дослідження, суттєво не відрізняється від інтактних тварин, різко знижується в наступні терміни і нормалізація вмісту тромбоцитів відбувається лише на 30-у добу експерименту.

Лейкоцитоз супроводжує опікову

травму протягом усього експерименту, максимальних значень досягає на 15-у добу, перевищуючи у 1,6 разу показники інтактних тварин, а на 30-у достовірно знижується порівняно з попереднім терміном дослідження, але продовжує суттєво перевищувати показники інтактних тварин.

Лімфопенія характерна для усіх термінів дослідження опікової травми, коли кількість лімфоцитів майже на чверть нижча від показників інтактних тварин.

Для характеристики метаболічних змін у організмі експериментальних тварин досліджували вміст кінцевих метаболітів гліколізу пірувата і лактата (табл. 3).

Характерною ознакою опіку є гіперлактатацидемія, причому вміст лактату у

крові зростає вже у 1-у добу, максимальних значень досягає на 3-у добу у 1,7 разу перевершуючи показники інтактних тварин, в наступні терміни поступово зменшується, але продовжує суттєво перевищувати вміст у інтактних тварин.

Для пірувату не відмічається істотної зміни його вмісту у 1-у добу експерименту, і достовірні відмінності у порівнянні інтактними спостерігаються лише на 3-ю і 7-у добу, а в подальші терміни вміст пірувату суттєво не відрізняється від показників інтактних тварин.

Внаслідок переважного зростання концентрації лактату порівняно з піруватом в усі строки спостереження, у піддослідних тварин значно підвищується співвідношення лактат/піруват, найбільших значень набуває на 3-ю добу експерименту і навіть на 30-у добу істотно перевищує цей показник у інтактних тварин.

Підтвердженням порушення функціонування термінальної ланки гліколізу у тканинах є різке зростання активності лактатдегідрогенази у крові, яка суттєво перевищує цей показник у інтактних тварин протягом 15 діб. Ферментемія свідчить про активацію гіпоксичних явищ, головним чином, у м² язв'язовій тканині, де зосереджена головна кількість цього ферменту, та порушення проникності плазматичної мембрани сарколеми.

Висновки

Як показали проведені дослідження, опікова травма призводить до значної втрати маси тіла експериментальних тварин, найбільш вираженої на 7-у добу, посиленої деструкції білка в тканинах і екскреції азота з сечею, що досягають максимальних значень на 3-ю добу, що

Таблиця 3

Вміст метаболітів гліколізу у крові тварин після опіку III-Б ступеню

Показник	Стат. показ.	Групи експериментальних тварин					
		Інтактні	1 доба	3 доба	7 доба	15 доба	30 доба
Лактат-дегідрогеназа n = 11	M	8,118	10,586	11,237	10,158	9,765	9,279
	± m	0,545	0,462	0,611	0,444	0,494	0,403
	%	100	130,4	138,4	125,1	120,3	114,3
	p		< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,05	> 0,05
Лактат n = 11	M	1,067	1,546	1,814	1,600	1,390	1,336
	± m	0,072	0,089	0,102	0,072	0,069	0,070
	%	100	144,9	170,0	150,0	130,3	125,2
	p		< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,01	< 0,05
Піруват n = 11	M	0,130	0,143	0,164	0,156	0,143	0,137
	± m	0,006	0,010	0,011	0,010	0,010	0,009
	%	100	110,0	126,2	120,0	110,0	105,4
	p		> 0,1	< 0,05	< 0,05	> 0,1	> 0,5

Примітки: вміст лактату та пірувату виражений у мкмоль/мл крові

p — достовірність відмінностей у порівнянні з інтактними тваринами

може бути обумовлено надлишком глюкокортикоїдів у цей період та глибокою гіпо- та диспротеїнемією, пов'язаною зі значною втратою альбумінів із раневої поверхні, активацією їх розпаду і наступним інтенсивним використанням їх у тканинах.

Література

1. Ионкина И.А. Состояние ферментного и неферментного звеньев антиоксидантной системы крови при ожоговой болезни / И.А.Ионкина, П.С.Куркаева, И.С.Смирнов // Бюллетень медицинских интернет-конференций. — 2015. — Т.5, Вып.5. — С.638.
2. Изменения показателей гомеостаза в реабилитационном периоде при острых отравлениях химической этиологии / А.В.Бадалян, Е.А.Лужников, М.А. Годков [и др.] // Анестезиология и ревматология. — 2013.—№3. — С. 43-50.
3. Системный анализ метаболического профиля крови пациентов с термической травмой / А. Г. Соловьёва, А. К. Мартусевич, С. П. Перетягин, Н. В. Диденко / Вестник РАМН. — 2014. — Т.69, № 1-2. — С.22-25.
4. Соловьёва А.Г. Каталитические свойства лактатдегидрогеназы в органах крыс с термической травмой при воздействии глутатион-содержащих динитрозильных комплексов железа / А.Г. Соловьёва, С.П. Перетягин, А.И. Дударь // Вестник Томского гос. ун-та. Биология. — 2015. — №3 (31). — С.130-145.
5. Изучение состояния ферментных систем печени как показателя эффективности

- местного лечения ожоговой травмы в эксперименте / А.Г. Соловьева, Ю.В. Зимин, С.П. Перетьягин [и др.] // Современные технологии в медицине. — 2013. — Т.5, №2. — С.20-24.
6. Взаимосвязь биохимических показателей окислительного стресса, эндогенной интоксикации и регуляции сосудистого тонуса у больных с ожоговой травмой / Е.В. Клычникова, Е.В.Тазина, С.В.Смирнов [и др.] // Анестезиология и реаниматология. —2015.—№1. — С.45-49.
 7. Кочетыгов Н.И.Ожоговая болезнь (очерки по патологической физиологии) –Л.: Медицина, 1973.- 247 с.
 8. Прохорова М.И. Методы биохимических исследований.- Л.: Изд. Ленинградского ун-та 1982, с.166-168.
 9. Кочетов Г.А. Практическое руководство по энзимологии.- М.: Высшая школа.- 1971.- 352 С.
 10. Тодоров Й. Клинические лабораторные исследования в педиатрии. — София: Медицина и физкультура, 1968. — 1064 с.
 11. Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н.// Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel.- К.: МОРИОН, 2000.- 320 с.
- of local treatment of burn injury in an experiment, Modern Technol. Med., Vol 5, No 2, pp 20-24 [Rus].
6. Klychnikova YeV., Tazina YeV., Smirnov SV., et al. 2015 Interrelation of biochemical indicators of oxidative stress, endogenous intoxication and regulation of vascular tone in patients with burn injury, Anesthesiol Rheumatol, No 1, pp 45-49[Rus].
 7. Kochetygov NI. 1973 Burn disease (essays on pathological physiology), Leningrad: Medicine, 247 p [Rus].
 8. Prokhorova MI. 1982 Methods of biochemical research, Leningrad: Leningrad Univ Publishing House, pp 166-168 [Rus].
 9. Kochetov GA 1971 Practical Guide to Enzymology, Moscow: Vyschaya Shkola, 352 p. [Rus].
 10. Todorov I. 1968 Clinical laboratory studies in pediatrics, Sophia: Medicine and physical education, 1064 p. [Rus].
 11. Lapach SN., Chubenko AV., Babich PN. 2000 Statistical methods in biomedical research using Excel, Kiev: MORION, 320 p [Rus].

Резюме

ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ В ДИНАМИКЕ ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ ПОВРЕЖДЕНИЙ

Мардашко А.А., Степанов Г.Ф., Костина А.А.

В работе исследовали динамику гематологических показателей при экстремальных повреждениях. Установлено, что после ожога значительно снижается содержание белка в сыворотке крови в течение всего времени наблюдения. На третий день происходит существенное снижение количества эритроцитов и содержания гемоглобина, которое достигает минимальных величин на седьмой день, и в последующие сроки исследования наблюдается лишь тенденция к нормализации. Количество ретикулоцитов нормализуется на седьмой день и продолжает расти на пятнадцатый день, достигая максимальных значений на тридцатый день, более чем в 1,7 раза превышая показатели интактных животных. Лейкоцитоз сопровождает ожоговую травму в течение всего эксперимента, максимальных значений достигает на

References

1. Ionkina IA, Kurkaeva PS., Smirnov IS. 2015 The state of enzymatic and non-enzyme links of the antioxidant system of blood in case of burn disease, Bull Med Internet-Conf, Vol 5, No 5, pp 638 [Rus].
2. Badalyan AV., Luzhnikov YeA, Godkov MA, et al. 2013. Changes in indices of homeostasis in the rehabilitation period for acute poisoning of chemical etiology, Anesthesiol Rheumatol, No 3, pp 43-50 [Rus].
3. Solovyova AG., Martusevich AK., Peretyagin SP., Didenko NV. 2014. System analysis of the metabolic profile of the blood of patients with thermal trauma, Vestnik RAMN, Vol 69, No 1-2, pp 22-25 [Rus].
4. Solovyova AG., Peretyagin SP., Dudar Al. 2015 Catalytic properties of lactate dehydrogenase in organs of rats with thermal trauma under the influence of glutathione-containing dinitrosyl iron complexes, Vestnik Tomsk State Univ. Biology, No 3 (31), pp 130-145 [Rus].
5. Solovyova AG., Zimin YuV., Peretyagin SP. 2013 Study of the state of liver enzyme systems as an indicator of the effectiveness

пятнадцатый день, превышая в 1,6 раза показатели интактных животных, а на тридцатом достоверно снижается по сравнению с предыдущим сроком исследования, но продолжает существенно превышать показатели интактных животных. Лимфопения характерна для всех сроков исследования ожоговой травмы, когда количество лимфоцитов почти на четверть ниже показателей интактных животных.

Ключевые слова: ожоговая травма, клетки крови, белок, пируват, лактат

Summary

HEMATOLOGICAL PARAMETERS IN THE DYNAMICS OF EXTREMAL INJURY

Mardashko O.O., Stepanov G.F., Kostina A.A.

It was investigated the dynamics of hematological parameters in extremal injury. It was established the decreasing of protein level in blood serum after burn during all periods of observation. On the third day there was substantial decreasing of

erythrocytes amount and hemoglobin content that was reached minimum values on the 7th day and at next periods of observation there was only tendency to their normalization. The amount of reticulocytes was normalized on 7th day and continued to increase on 15th day, reached maximum on 30th day with levels in 1,7 higher than in intact animals. Leukocytosis accompanied burn injury during all experiment, it was reached maximum values on the 15th day with levels in 1,6 higher than in intact animals and on 30th day it decreased compare to previous period, but still was significantly higher than in intact animals. Lymphopenia was characteristic for all periods of investigation burn injury, where amount of lymphocytes a quarter lower than in intact animals.

Key words: burn injury, blood cells, protein, pyruvate, lactate.

*Впервые поступила в редакцию 20.04.2017 г.
Рекомендована к печати на заседании редакционной коллегии после рецензирования*

УДК 617-005.1-07

ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ДИАГНОСТИЧЕСКОЙ ЦЕННОСТИ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ И КЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ КРОВОТЕЧЕНИЙ

Савицкий И. В., Руснак С. В., Наговицын А. П., Миронов А. А., Бурлака О. М., Знамеровский С. Г.

Одесский национальный медицинский университет, Одесса, Украина

Дорожно-транспортный травматизм является чрезвычайно серьезной проблемой не только в медицинском аспекте, но и в социальном, экономическом и общегосударственном. Этот вид травм отличается высокой летальностью и первичной заболеваемостью, каждый год, причем за последние годы прослеживается тенденция к росту абсолютных показателей.

Медицинская служба, учитывая этот факт, должна со своей стороны внедрять новые подходы к диагностике и лечению патологических состояний и нозологических единиц которые встречаются при дорожно-транспортных происшествиях.

При проведении клинических и экспериментальных исследований сравнили показатели гемостаза и гематологические. Рассмотрели влияние местной инфильтрационной анестезии на ход кровотечения и гематологически-гемостатические показатели.