

Borys R. M., Sirman V. M., Nykytenko O. P., Zukow W., Gozhenko A. I. Характеристика динаміки змін гемостазу, протеолізу, фібринолізу і ліпопероксидації у тканині нирок = Description of dynamics change hemostasis, proteolysis, fibrinolysis and lipid peroxidation in kidney tissue. Journal of Education, Health and Sport. 2016;6(3):241-258. eISSN 2391-8306. DOI <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.56064>
<http://ojs.ukw.edu.pl/index.php/johs/article/view/3615>

The journal has had 7 points in Ministry of Science and Higher Education parametric evaluation. Part B item 755 (23.12.2015).
755 Journal of Education, Health and Sport eISSN 2391-8306 7

© The Author (s) 2016;

This article is published with open access at Licensee Open Journal Systems of Kazimierz Wielki University in Bydgoszcz, Poland

Open Access. This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Noncommercial License which permits any noncommercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author(s) and source are credited. This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.

This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.

The authors declare that there is no conflict of interests regarding the publication of this paper.

Received: 05.03.2016. Revised 20.03.2016. Accepted: 23.03.2016.

УДК: 616.61-008.9:616.151.5

ХАРАКТЕРИСТИКА ДИНАМІКИ ЗМІН ГЕМОСТАЗУ, ПРОТЕОЛІЗУ, ФІБРИНОЛІЗУ І ЛІПОПЕРОКСИДАЦІЇ У ТКАНІНІ НИРОК

Р. М. Борис, В. М. Сірман, О. П. Никитенко, В. Жуков, А. І. Гоженко

Український науково-дослідний інститут

медицини транспорту МОЗ України, м. Одеса, Україна

UMK w Toruniu

Резюме

Метою нашого дослідження було вивчити та проаналізувати динаміку змін гемостазу, протеолізу, фібринолізу і ліпопероксидації у тканині нирок при експериментальному перитоніті, а також при ад'ювантному артриті Пірсона у щурів та визначення динаміки змін біохімічних показників, що характеризують основні патофізіологічні механізми клітинного і тканинного ураження нирок. Для вирішення поставлених задач проведені серії експериментів *in vivo*. У роботі використано 189 самців білих щурів з середньою масою тіла $0,193 \pm 0,018$ кг. Дослідження проводили через 2, 4, 6 і 12 міс. після індукції ад'ювантного артриту Пірсона. При експериментальному перитоніті, проведено 7 серій експериментів на 486 самцях білих щурів з масою тіла $0,17-0,30$ кг. Встановлено, що при обох експериментальних моделях запалення виникають однотипні механізми гемостазу, протеолізу, фібринолізу і ліпопероксидації у тканині органу.

Ключові слова: ураження нирок, протеоліз, фібриноліз, ліпопероксидація.

DESCRIPTION OF DYNAMICS CHANGE HEMOSTASIS, PROTEOLYSIS, FIBRINOLYSIS AND LIPID PEROXIDATION IN KIDNEY TISSUE

R. M. Borys, V. M. Sirman, O. P. Nykytenko, W. Zukow, A. I. Gozhenko

Ukrainian Scientific Research Institute of Transport Medicine, Ministry of Health of
Ukraine

UMK w Toruniu

Resume

The aim of our study was to examine and analyze the dynamics of changes in hemostasis, proteolysis, fibrinolysis and lipid peroxidation in kidney tissue in experimental peritonitis, as well as adjuvant arthritis in rats Pearson and determine dynamic changes of biochemical indicators of the basic pathophysiological mechanisms of cell and tissue damage to the kidneys . To solve this problem, a series of experiments in vivo. The paper used 189 male albino rats with an average body weight of $0,193 \pm 0,018$ kg. The study was conducted at 2, 4, 6 and 12 months. After induction of adjuvant arthritis Pearson. In experimental peritonitis, held 7 series of experiments on 486 white male rats weighing 0,17-0,30 kg. Found that in both experimental models of inflammation there are similar mechanisms of hemostasis, proteolysis, fibrinolysis and lipid peroxidation in the fabric body.

Keywords: kidney damage, proteolysis, fibrinolysis, lipid peroxidation.

Виявлені нами порушення нирок при експериментальних артриті та колоногенному перитоніті можуть бути наслідком схожих механізмів порушення гемостазу, протеолізу, фібринолізу і ліпопероксидації у тканині органу[1,2].

На підтримку нашої точки зору про формування однакових провідних ланок патогенезу доцільно привести узагальненні результати власних спостережень змін функціонального стану нирок та гемостазу у гострому періоді експериментального колоногенного перитоніту. Відповідно до наших спостережень, вже через 24 години після моделювання перитоніту порушення екскреторної функції нирок характеризується олігурією внаслідок різкого зниження швидкості клубочкової фільтрації з розвитком ретенційної гіперазотемії на тлі зниження реабсорбції води та значне збільшення екскреції білка, стандартизованої за об'ємом клубочкового

фільтрату. Основним порушенням ниркового транспорту одновалентних іонів у 24-годинний посттравматичний період є зниження каналцевої реабсорбції іонів натрію, що поєднується з порушенням кліренсу вільної від натрію води при зменшенні концентрації іонів натрію у плазмі крові. У цей період перитоніту секреторні механізми виведення надлишків іонів калію не страждають, оскільки гіперкаліємія супроводжується значним підвищенням виведення іонів калію з кінцевою сечею.

Широкі адаптаційні здатності організму підтримують водно-сольовий гомеостаз при різному поступленні води та солей здійснюється за рахунок змін діяльності нирок, у контролі якої основна роль належить інтеграції антинатрійуричних, анیدیуретичних та натрійуретичних механізмів, реалізуючих периферичні ефекти через вторинні клітинні месенджери. В умовах патології ці ж самі ендогенні регуляторні системи на основі дисрегуляції об'єднуються у системі патологічні. Ярким прикладом тому є реалізація механізму тубуло-гломерулярної системи при ушкодженні проксимальних каналців, що призводить до різкого зниження швидкості клубочкової фільтрації та ретенційної гіперазотемії [3,4].

Слід вважати, що у цей період перитоніту ушкоджуюча дія на каналцеві структури нирок реалізується за механізмом гіпоксичної активації процесів ліпопероксидації [5]. Відомо, що перитоніт закономірно супроводжується активацією процесів пероксидного окислення ліпідів [6], особливо у випадку розвитку ендотоксикозу. Посилення ПОЛ під впливом ендотоксину у різних органах та тканинах неодноразово описано у літературі [7,8]. Відмічено підвищення концентрації малонового діальдегіду у крові ниркової вени після реперфузії ішемізованої нирки [9], а при гломерулонефриті активація пероксидного окислення ліпідів та зниження антиоксидантного захисту зображені у роботах Рогового Ю.Е. [10], Гоженко А.І. [11], Кухарчука О.Л. [2].

Також відомо, що ревматоїдний артрит (РА) є хронічним системним запальним захворюванням сполучної тканини з прогресуючим ураженням переважно периферійних (синовіальних) суглобів за типом симетричного прогресуючого ерозивного поліартриту з деструкцією хрящової і кісткової тканини та розвитком широкого спектру позасуглобових (вісцеральних) проявів, зокрема, ураженням нирок. Імунне запалення при РА поширюється по синовіальній оболонці суглобу, а у тяжких випадках розповсюджується на внутрішні органи. На відміну від ацелюлярної природи нормальної синовіальної рідини, остання при РА збагачена нейтрофілами, макрофагами, Т-лімфоцитами і дендритними клітинами. Підвищення індексу

целюлярності найбільш виражено в синовіальній мембрані, яка інфільтрується клітинами крові. Синовіальний шар суглобу збільшується від 1-2 до 6-8 клітин завтовшки і в основному складається з активованих макрофагів ("синовіоцити" типу А), з нижнім шаром клітин, схожих на фібробласти ("синовіоцити" типу В). Глибший шар містить паравазальні лімфоїдні фолікули і лімфоцити, що розсіяні між ними. Більшість неоваскулярних ендотеліоцитів активовані. Макрофаги, Т-лімфоцити, клітини плазми, дендритні клітини і фібробласти синовіальної мембрани також активовані і експресують молекули HLA II класу [1,12].

Перебіг хронічних автоімунних запальних процесів супроводжується гіперекспресією адгезивних молекул. На перебіг імунного запалення впливають імунокомпетентні клітини, про- та протизапальні цитокіни, рівень експресії рецепторів адгезивних молекул. Суттєва роль належить й антипротеїназній системі, яка разом з сироватковими гідролазами контролює продукцію, рівень активності та інактивацію ключових цитокінів організму [13].

Метою нашого дослідження було вивчити та проаналізувати динаміку змін гемостазу, протеолізу, фібринолізу і ліпопероксидації у тканині нирок при експериментальному перитоніті, а також при ад'ювантному артриті Пірсона у щурів та визначення динаміки змін біохімічних показників, що характеризують основні патофізіологічні механізми клітинного і тканинного ураження нирок.

Матеріали та методи

Для вирішення поставлених задач проведені серії експериментів *in vivo*. У роботі використано 189 самців білих щурів з середньою масою тіла $0,193 \pm 0,018$ кг. Дослідження проводили через 2, 4, 6 і 12 міс. після індукції ад'ювантного артрити Пірсона. Для моделювання артрити використовували введення повного ад'юванта Фрейнда в апоневроз правої задньої кінцівки щурів під ефірним наркозом. Контрольну групу склали 11 щурів, яким замість повного ад'юванта Фрейнда в апоневроз правої задньої кінцівки вводили 0,1 мл вазелінового масла.

Для визначення змін фібринолізу досліджували інтенсивність сумарного, неферментативного і ферментативного тканинного лізису азофібрину; для визначення змін протеолізу досліджували інтенсивність розпаду низько- і високомолекулярних білків та колагену з використанням азосубстратів (відповідно азоальбумін, азоказеїн, азокол) . Стан пероксидного окислення ліпідів оцінювали за вмістом у тканині нирок дієнових кон'югатів і малонового діальдегіду[14].

При експериментальному перитоніті, проведено 7 серій експериментів на 486 самцях білих щурів з масою тіла 0,17-0,30 кг. Усього загинуло до початку лабораторних досліджень 223 щура, середня смертність склала 45,9%. Тварини що вижили пройшли повне експериментальне обстеження.

Усі операційні втручання проводились відповідно вимогам щодо гуманного відношення до лабораторних тварин в асептичних умовах під уретановим наркозом (1000 мг на 1 кг маси тіла). Після серединної лапаротомії по l. alba моделювання стандартизованого поранення товстої кишки виконували очними ножицями, розсікаючи поперек кишкову стінку на $\frac{1}{2}$ її діаметру. Довжина розрізу становила 2 мм. Після поранення товстої кишки на розріз черевної порожнини накладали 5 швів (шовк), що запобігало тепловим втратам.

У першій серії експериментів після поранення товстої кишки негайно перевязували травмовні судини щоб запобігти кровотечі. У другій серії дослідів судини не лігували, навпаки, шляхом відсмоктування крові з черевної порожнини через шприц досягали загальної втрати крові в об'ємі 20% від маси тіла, що призводило до гострої анемізації тварин.

Евтаназію щурів проводили через 24 та 72 години після операції під легким ефірним наркозом. Для стабілізації крові при дослідженні функції нирок використовували гепарин, при дослідженні гемостазу – 3,8% розчин цитрату натрію (1:9).

Для аналізу змін гемокоагуляції вивчали стан тромбоцитарно-судинного гемостазу (відсоток адгезивних тромбоцитів та індекс їх спонтанної агрегації), загальний коагуляційний потенціал крові (час рекальцифікації, протромбіновий і тромбіновий час, активований парціальний тромбoplastиновий час), визначали фібринолітичну активність плазми, Хагеман-залежний фібриноліз, потенційну активність плазміногену та антиплазмінів, рівень фібриногену в плазмі крові, активність антитромбіну III та концентрацію в крові розчинних комплексів фібрин-мономеру, для визначення змін фібринолізу в тканинах головного мозку, серця, легень, печінки і нирок досліджували інтенсивність сумарного, неферментативного і ферментативного тканинного лізису азофібрину[14].

Результати

Результати дослідження змін протеолітичної і фібринолітичної активності та вмісту продуктів пероксидного окислення ліпідів у кортикальній тканині нирок наведені у табл. 1.

Через 2 міс. після індукції артриту у тварин дослідної групи в кортикальній тканині нирок щурів спостерігалась різка інтенсифікація процесів протеолітичної деградації низькомолекулярних, високомолекулярних білків і колагену: лізис азоальбуміну перевищував відповідні показники у інтактних і контрольних тварин відповідно у 8,9 і 8,1 разу, лізис азоказеїну – у 9,0 і 8,5 разу, лізис азоколу – у 12,1 і 11,5 разу.

Сумарна фібринолітична активність кіркової речовини нирок також зростала і була більшою за таку у інтактних щурів і тварин контрольної групи відповідно у 2,2 і 2,1 разу. При цьому локальна неферментативна фібринолітична активність підвищувалась у 4,0 і 3,9 разу, тоді як ферментативний фібриноліз, навпаки, зменшувався на 31,4 і 36,6%.

Тобто в кортикальній тканині нирок відбувалось порушення структури сумарної фібринолітичної активності: частка неензиматичного лізису фібрину зростала з 45,1% у контрольних щурів до 82,6% у дослідних тварин при зниженні частки ферментативного фібринолізу з 54,9% у контролі до 17,4% у досліді.

Таблиця 1.

Динаміка змін тканинного протеолізу, фібринолізу і ліпопероксидації в нирках щурів з ад'ювантним артритом Пірсона ($x \pm Sx$)

Показники, що вивчалися	Інтактні тварини n=11	Контрольна група n=20	Артрит Пірсона 2 місяці n=11 <i>1 група</i>	Артрит Пірсона 4 місяці n=11 <i>2 група</i>	Артрит Пірсона 6 місяців n=25 <i>3 група</i>	Артрит Пірсона 12 місяців n=25 <i>4 група</i>
1	2	3	4	5	6	7
Лізис азоальбуміну, мкг /1 г білка за 1 год.	21,48±3,45	23,74±3,57 p>0,6	192,15±9,3 p<0,001 p _к <0,001	105,17±5,58 p<0,001 p _к <0,001 p ₁ <0,001	174,20±8,31 p<0,001 p _к <0,001 p ₁ >0,2 p ₂ <0,001	349,60±15,95 p<0,001 p _к <0,001 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001 p ₃ <0,001
Лізис азоказеїну, мкг /1 г білка за 1 год.	23,91±2,92	25,18±3,80 p>0,8	214,3±11,06 p<0,001 p _к <0,001	113,96±6,10 p<0,001 p _к <0,001 p ₁ <0,001	190,13±9,52 p<0,001 p _к <0,001 p ₁ >0,1 p ₂ <0,001	410,82±33,16 p<0,001 p _к <0,001 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001 p ₃ <0,001
Лізис азоколу, мкг /1 г білка за 1 год.	8,80±0,37	9,32±0,44 p>0,3	106,89±6,21 p<0,001 p _к <0,001	64,30±4,55 p<0,001 p _к <0,001 p ₁ <0,001	5,31±0,90 p<0,05 p _к <0,001 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	2,76±0,43 p<0,001 p _к <0,001 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001 p ₃ <0,02

1	2	3	4	5	6	7
Сумарна фібринолітична активність, мкг азофібрину /1 г білка за 1 год.	10,83±0,77	11,44±0,82 p>0,5	23,47±2,49 p<0,001 p _к <0,001	18,63±1,55 p<0,001 p _к <0,001 p ₁ >0,1	23,68±2,76 p<0,001 p _к <0,001 p ₁ >0,9 p ₂ >0,2	28,21±3,40 p<0,001 p _к <0,001 p ₁ >0,3 p ₂ >0,07 p ₃ >0,3
Неферментативна фібринолітична активність, мкг азофібрину /1 г білка за 1 год.	4,88±0,26	5,00±0,28 p>0,7	19,39±2,16 p<0,001 p _к <0,001	12,18±0,97 p<0,001 p _к <0,001 p ₁ <0,01	19,90±2,49 p<0,001 p _к <0,001 p ₁ >0,8 p ₂ >0,05	25,26±3,10 p<0,001 p _к <0,001 p ₁ >0,2 p ₂ <0,01 p ₃ >0,1
Ферментативна фібринолітична активність, мкг азофібрину /1 г білка за 1 год.	5,95±0,47	6,44±0,51 p>0,5	4,08±0,43 p<0,001 p _к <0,01	6,45±0,39 p>0,4 p _к >0,9 p ₁ <0,001	3,78±0,28 p<0,001 p _к <0,001 p ₁ >0,5 p ₂ <0,001	2,95±0,33 p<0,001 p _к <0,001 p ₁ >0,05 p ₂ <0,001 p ₃ >0,06
Дієнові кон'югати, нмоль /1 г білка	0,072±0,003	0,088±0,008 p>0,1	0,381±0,019 p<0,001 p _к <0,001	0,162±0,009 p<0,001 p _к <0,001 p ₁ <0,001	0,379±0,035 p<0,001 p _к <0,001 p ₁ >0,9 p ₂ <0,001	0,420±0,046 p<0,001 p _к <0,001 p ₁ >0,5 p ₂ <0,001 p ₃ >0,4
Малоновий діальдегід, нмоль /1 г білка	0,110±0,008	0,117±0,007 p>0,5	0,469±0,049 p<0,001 p _к <0,001	0,250±0,017 p<0,001 p _к <0,001 p ₁ <0,001	0,499±0,052 p<0,001 p _к <0,001 p ₁ >0,7 p ₂ <0,01	0,575±0,064 p<0,001 p _к <0,001 p ₁ >0,3 p ₂ <0,01 p ₃ >0,3

Примітки:

p – ступінь достовірності різниць показників відносно таких у інтактних тварин;

p_к – ступінь достовірності різниць показників відносно таких у щурів контрольної групи;

p_{1,2,3} – ступінь достовірності різниць показників відносно таких у відповідній дослідній групі;

n – кількість тварин у групі.

Одночасно з підвищенням локального протеолізу і фібринолізу в кортикальній речовині нирок спостерігалась активація пероксидного окислення ліпідів, про що свідчило збільшення тканинного вмісту дієнових кон'югатів і малонового діальдегіду, який перевищував відповідні показники у інтактних і контрольних щурів у 5,3 і 4,3 та 4,3 і 4,0 рази.

Через 4 міс. у щурів з артритом Пірсона інтенсивність деградації низькомолекулярних білків в кортикальній тканині нирок була у 4,9 разу більшою, ніж у інтактних тварин, та у 4,4 разу перевищувала таку у щурів контрольної групи.

Колагенолітична активність кортикальної тканини нирок тварин дослідної групи виявилась вищою за контрольні величини відповідно у 7,3 і 6,9 разу. Сумарна інтенсивність фібринолізу в кірковій речовині нирок щурів з артритом збільшувалась на 72,0 і 62,8%, причому виключно за рахунок підвищення неферментативного фібринолізу (відповідно у 2,5 і 2,4 разу), оскільки ензиматичний лізис фібрину не відрізнявся від такого у інтактних і контрольних тварин. Структура тканинного фібринолізу наближалась до контрольної: частка неферментативної фібринолітичної активності зменшувалась і становила 65,4%, частка ферментативного фібринолізу зростала до 34,6%. Уміст дієнових кон'югатів у кортикальній тканині нирок виявився у 2,3 разу більшим, аніж у інтактних щурів та зростав на 84,1% відносно показників у тварин контрольної групи. Тканинний рівень малонового діальдегіду підвищувався відповідно у 2,3 і 2,1 разу.

Через 6 міс. протеолітична активність кортикальної тканини нирок у щурів з артритом Пірсона була значно більшою, ніж у інтактних тварин і щурів контрольної групи: інтенсивність розпаду низькомолекулярних білків зростала відповідно у 8,1 і 7,3 разу, високомолекулярних білків – у 8,0 і 7,6 разу. Водночас колагенолітична активність кіркової речовини нирок різко знижувалась і була меншою за таку у інтактних і контрольних тварин відповідно на 39,7 і 43,0%. У цей період спостереження сумарна фібринолітична активність кортикальної тканини нирок у щурів з артритом перевищувала контрольні величини у 2,2 і 2,1 разу, неферментативний фібриноліз був більшим за відповідні показники у інтактних щурів і тварин контрольної групи відповідно у 4,1 і 4,0 рази, неферментативна фібринолітична активність, навпаки, зменшувалась на 36,5 і 41,3%, що призводило до глибокого порушення структури ниркового фібринолізу. Уміст у кірковій речовині нирок дієнових кон'югатів та малонового діальдегіду значно підвищувався і був більшим за такий у інтактних тварин і щурів контрольної групи відповідно у 5,3 і 4,3 та 4,5 і 4,3 разу.

Наприкінці дванадцятимісячного періоду спостереження інтенсивність тканинного протеолізу в кірковій речовині нирок щурів з артритом Пірсона виявилась дуже високою: лізис азоальбуміну був більшим, аніж у інтактних і контрольних щурів відповідно у 16,3 і 14,7 разу, лізис азоколу – у 17,2 і 16,3 разу, тоді як колагенолітична активність, навпаки, різко знижувалась і була у 3,1 і 3,4 разу меншою за контрольні величини. Сумарна фібринолітична активність значно зростала і перевищувала відповідні показники у інтактних і контрольних тварин у 2,6 і 2,5 разу, що було обумовлено виключно підвищенням у кірковій речовині нирок неензиматичного лізису

фібрину (відповідно у 5,2 і 5,1 разу), в той час як ферментативний фібриноліз зменшувався відносно такого у інтактних щурів на 50,4% та був у 2,2 разу нижчим, аніж у тварин контрольної групи. Порушення структури сумарної фібринолітичної активності в кортикальній тканині нирок щурів з артритом у цей період досліджу набувало максимального ступеня. Рівень дієнових кон'югатів у кірковій речовині нирок тварин дослідної групи підвищувався в порівнянні з таким у інтактних і контрольних щурів відповідно у 5,8 і 4,8 разу, малонового діальдегіду – у 5,2 і 4,9 разу.

Сумарна фібринолітична активність кортикальної тканини нирок щурів з артритом Пірсона впродовж всього періоду досліджу залишалась підвищеною і достовірних коливань не зазнавала. Неферментативна фібринолітична активність, яка в кортикальній тканині нирок щурів з експериментальним артритом була високою вже через 2 міс., через 4 міс. зменшувалась на 37,2%, через 6 міс. зростала у порівнянні з показниками попереднього періоду експерименту на 63,4% та через 12 міс. підвищувалась і досягала найбільшого рівня. Інтенсивність ферментативного фібринолізу на початку спостереження знижувалась, підвищувалась на 58,1% через 4 міс., зменшувалась на 41,4% через 6 міс. та знижувалась ще на 22,0% наприкінці досліджу, набуваючи при цьому найменших величин.

Рівень дієнових кон'югатів у кірковій речовині нирок тварин з ад'ювантним артритом, який значно збільшувався через 2 міс. експерименту, через 4 міс. зазнавав суттєвого (у 2,4 разу) зменшення, проте надалі, через 6 міс., знову зростав - у 2,3 разу відносно даних попереднього періоду досліджу та через 12 міс. досягав максимальних величин. Уміст малонового діальдегіду в кортикальній тканині нирок щурів з артритом Пірсона на початку експерименту значно перевищував контрольні показники, через 4 міс. зменшувався на 46,7%, через 6 міс. зазнавав повторного підвищення – у 2,0 разу відносно результатів попереднього періоду дослідження, через 12 міс. додатково збільшувався на 15,3% і досягав максимального рівня.

Таким чином, у щурів з ад'ювантним артритом Пірсона в кортикальній тканині нирок впродовж 1 року спостереження відбувається інтенсифікація процесів протеолітичної деградації низько- і високомолекулярних білків та пероксидного окислення ліпідів, підвищення неферментативного фібринолізу і суттєве зниження ензиматичного лізису фібрину.

У дослідженні регуляції агрегатного стану крові при експериментальному перитоніті також були використані інтактні тварини і контрольна група щурів. Результати дослідження коагуляційного потенціалу крові наведені у таблиці 2. Жодна

пара з досліджених показників у інтактних тварин і щурів контрольної групи достовірно між собою не відрізнялась, за виключенням тромбі нового часу, який був на 19,1% меншим у контрольних тварин. Через 24 год після моделювання колоногенного перитоніту час рекальцифікації плазми крові скорочувався відносно такого у інтактних щурів і тварин контрольної групи відповідно на 42,4 і 40,3%, активований парціальний тромбопластиновий час зменшувався в 1,7 і 1,5 разу, протромбіновий час знижувався на 35,1 і 27,3%, тромбіновий час зменшувався в 1,9 і 1,6 разу.

Отже, у ранньому періоді колоногенного перитоніту у тварин спостерігається хронометрична гіперкоагуляція, причому активуються процеси як зовнішнього, так і внутрішнього механізмів утворення протромбінового комплексу, про що свідчить скорочення часу утворення фібринового згортку як після додавання тканинного тромбопластину, так і після рекальцифікації плазми крові. Крім того, активацію внутрішнього механізму згортання крові підтверджує зменшення активованого парціального тромбопластинового часу. Кінцеві етапи згортання так само активовані – скорочення тромбінового часу майже вдвічі вказує на значну інтенсифікацію фібриногенезу.

На такому тлі у тварин з колоногенним перитонітом відмічалось зниження активності антитромбіну III відносно показників у інтактних щурів і тварин контрольної групи відповідно на 30,2 і 33,5%.

Таблиця 2

Характеристика коагуляційного потенціалу крові через 24 години після моделювання колоногенного перитоніту ($x \pm Sx$)

Показники, що досліджувались	Інтактні тварини, n=15	Контрольна група, n=21	Колоногенний перитоніт, n=25
Час рекальцифікації, с	82,14±4,65	79,26±3,92 pі>0,6	47,29±3,45 pі<0,001 kі<0,001
Активований парціальний тромбoplastиновий час, с	43,81±4,09	38,56±3,55 pі>0,3	26,19±2,13 pі<0,001 kі<0,01
Протромбіновий час, с	22,96±1,78	20,51±1,80 pі>0,3	14,92±1,18 pі<0,001 kі<0,02
Тромбіновий час, с	14,53±0,93	11,76±0,88 pі<0,05	7,46±0,54 pі<0,001 kі<0,001
Активність антитромбіну III, %	98,34±5,12	101,62±6,71 pі>0,7	68,10±4,35 pі<0,001 kі<0,001
Відсоток адгезивних тромбоцитів, %	37,91±2,62	41,24±3,52 pі>0,4	59,72±4,18 pі<0,001 kі<0,01
Індекс спонтанної агрегації тромбоцитів, %	1,86±0,33	2,40±0,70 pі>0,5	7,45±0,84 pі<0,001 kі<0,001
Концентрація в крові фібриногену, г/л	4,04±0,49	3,93±0,36 pі>0,8	5,22±0,63 pі>0,1 kі>0,09

Примітки:

pі – ступінь достовірності різниць показників відносно таких у інтактних тварин;
pк – ступінь достовірності різниць показників відносно таких у тварин контрольної групи;
n – число спостережень.

Таким чином, через 24 год після моделювання колоногенного перитоніту розвивається як хронометрична, так і структурна (судячи зі змін функціональної активності тромбоцитів і вмісту в крові фібриногену) гіперкоагуляція. Підвищення прокоагуляційного потенціалу крові відбувається на тлі зниження її протизгортаючої активності, збільшення функціональної активності тромбоцитів і тенденції до зростання концентрації в крові фібриногену, що створює реальну загрозу як макро-, так і мікротромбоутворення.

Крім того, при стабільній потенціальній активності плазміногену спостерігалась

активація Хагеман-залежного фібринолізу (відповідно на 41,1 і 35,5%). Разом з підвищенням фібринолітичної активності крові збільшувалась й активність антиплазмінів (відповідно на 41,1 і 35,2%), головним чином, їх швидкодіючої фракції (відповідно на 40,0 і 35,5%), оскільки активність повільнодіючих антиплазмінів достовірно від контрольних показників не відрізнялась. Як результат підвищення прокоагуляційного потенціалу крові і активації систем плазмового фібринолізу підвищувалась концентрація у плазмі крові розчинних комплексів фібрин-мономеру, а в сечі з'являлись продукти деградації фібрин/фібриногену.

У тварин з колоногенним перитонітом через 72 години після операції зміни коагуляційного потенціалу крові характеризувались подовженням часу рекальцифікації на 20,4%.

Водоночас активований парціальний тромбoplastичний час, який більш точно відображає стан внутрішнього механізму утворення протромбіназного комплексу, достовірно від контрольних показників не відрізнявся.

Протромбіновий час у щурів з колоногенним перитонітом на 31,3% перевищував контрольні величини, а час утворення фібринового згортку після додавання у плазму тромбіну зростав на 28,6%.

Активність антитромбіну III на цьому відрізку післяопераційного періоду зменшилась на 37,0%, що супроводжувалось різким підвищенням функціональної активності тромбоцитів: процент адгезивних тромбоцитів зростав вдвічі, а індекс їх спонтанної агрегації збільшувався майже у 11 разів. Достовірних змін з боку концентрації фібриногену у плазмі крові через 24 години після моделювання колоногенного перитоніту не відмічалось.

У кортикальній тканині нирок щурів з колоногенним перитонітом відмічалось зниження сумарної ферментативної активності на 38,8%, причому виключно за рахунок пригнічення ферментативного фібринолізу, оскільки інтенсивність неензиматичного лізису фібрину достовірно не змінювалась. У структурі загального фібринолізу кортикальної тканини нирок різко збільшувалась частка неферментативної фібринолітичної активності. Крім того, у тварин з колоногенним перитонітом відмічалось значне – у 3,2 рази зменшення урокіназної активності сечі.

Таким чином, через 72 години після моделювання колоногенного перитоніту зміни тканинного фібринолізу у експериментальних тварин характеризуються підвищенням неферментативної та зниженням ферментативної фібринолітичної активності у тканинах головного мозку, серця, легень, печінки та нирок, що

супроводжується різким зменшенням урокіназної активності сечі. Крім того, слід зазначити те, що, якщо у тканинах серця, легень та печінки сумарна фібринолітична активність не змінювалась, то у головному мозку та кортикальному шарі нирок відбувалось зниження загальної інтенсивності тканинного фібринолізу.

Таким чином, динаміка змін у системі коагуляційного та тромбоцитарно-судинного гемостазу вказує на те, що зі збільшенням тривалості патологічного процесу в черевній порожнині хронометрична гіперкоагуляція змінюється хронометричною гіпокоагуляцією, тоді як функціональна активність тромбоцитів прогресивно зростає. Поєднання вказаних змін з перманентним зниженням активності антитромбіну III та концентрації у плазмі крові фібриногену дозволяє зробити попередній висновок про те, що у тварин з колоногенним перитонітом по мірі збільшення тривалості патологічного процесу розвивається внутрішньосудинна гемокоагуляція.

Такі глибокі порушення у системі регуляції агрегатного стану крові та тканинного фібринолізу здатні суттєво впливати на післяопераційну виживаємість: через 72 години після моделювання колоногенного перитоніту з 34 прооперованих щурів вижило 12, тобто смертність склала 64,7%

Висновки

1. У щурів з артритом Пірсона динаміка змін протеолітичної деструкції низькомолекулярних білків у кортикальній тканині нирок характеризується синусоїдальним коливанням. Подібні зміни спостерігаються з боку інтенсивності розпаду високомолекулярних білків: через 2 міс. експерименту лізис азоказеїну є значно вищим за контроль, через 4 міс. знижується відносно показників попереднього періоду досліду на 47% та знову зростає: на 67% - через 6 міс. та у 2,2 разу – через 12 міс. Водночас лізис азоколу, який через 2 міс. є суттєво вищим за контрольні величини, через 4 міс. зменшується на 40%, через 6 міс. знижується у 12,1 разу та зменшується ще на 48% наприкінці експерименту, коли інтенсивність колагенолізу набувала мінімальних величин.

2. Сумарна фібринолітична активність кортикальної тканини нирок щурів з артритом Пірсона впродовж всього періоду досліду залишається підвищеною і достовірних коливань не зазнає. Неферментативна фібринолітична активність є високою через 2 міс., через 4 міс. зменшується на 37%, через 6 міс. зростає у порівнянні з показниками попереднього періоду експерименту на 63% та через 12 міс. підвищується і досягає найбільшого рівня. Інтенсивність ферментативного фібринолізу на початку спостереження знижується, підвищується на 58% через 4 міс., зменшується

на 41% через 6 міс. та знижується ще на 22% наприкінці досліджу, набуваючи при цьому найменших величин.

3. Рівень дієнових кон'югатів у кірковій речовині нирок тварин з ад'ювантним артритом, який значно збільшується через 2 міс. експерименту, через 4 міс. зазнає зменшення у 2,4 разу, проте надалі, через 6 міс., знову зростає - у 2,3 разу відносно даних попереднього періоду досліджу та через 12 міс. досягає максимальних величин. Уміст малонового діальдегіду в кортикальній тканині нирок щурів з артритом Пірсона на початку експерименту значно перевищує контрольні показники, через 4 міс. зменшується на 47%, через 6 міс. зазнає повторного підвищення – у 2,0 рази відносно результатів попереднього періоду дослідження, через 12 міс. додатково збільшується на 15% і досягає максимального рівня.

4. для раннього періоду (24 години) колоногенного перитоніту характерною є хронометрична гіперкоагуляція з активацією як зовнішнього, так і внутрішнього механізмів утворення протромбінази при значному скороченні тривалості фібриногенезу;

5. через 24 години після моделювання колоногенного перитоніту відбувається пригнічення протизгортаючої активності крові, збільшення функціональної активності тромбоцитів та концентрації у крові фібриногену при активації систем плазмового фібринолізу з адекватним підвищенням активності антиплазмінів, що супроводжується появою в крові розчинних комплексів мономерного фібрину, а у сечі – продуктів розпаду фібрину та фібриногену;

6. через 24 години після моделювання колоногенного перитоніту у тканинах головного мозку, серця, легень, печінки та нирок спостерігаються односпрямовані зміни фібринолізу, які характеризуються підвищенням інтенсивності як ферментативного, так і неферментативного фібринолізу. Разом з тим, у легеневій, печінковій та нирковій тканинах відбувається переважно збільшення вискоєфективного ензиматичного лізису фібрину, а урокіназна активність сечі суттєво перевищує контрольні величини;

7. через 72 години після моделювання колоногенного перитоніту спостерігається хронометрична гіпокоагуляція, більш виражена з боку зовнішнього механізму згортання крові, що поєднується з явним уповільненням процесів фібриногенезу. При цьому зниження протизгортаючого потенціалу крові поєднується з різкою активацією тромбоцитарної ланки первинного гемостазу, глибокою депресією плазмового ферментативного фібринолізу, різким зниженням інтенсивності Хагеман-залежного

фібринолізу та значним зменшенням потенційної активності плазміногену на фоні неадекватної активації антиплазмінів, накопичення у крові розчинних комплексів фібрин-мономеру та появою у сечі незначної кількості продуктів деградації фібрин/фібриногену;

через 72 години після моделювання колоногенного перитоніту зміни тканинного фібринолізу у експериментальних тварин характеризуються підвищенням неферментативної та зниженням ферментативної фібринолітичної активності у тканинах головного мозку, серця, легень, печінки та нирок, що супроводжується різким зменшенням урокіназної активності сечі;

8. динаміка змін у системі коагуляційного та тромбоцитарно-судинного гемостазу вказує на те, що зі збільшенням тривалості патологічного процесу в черевній порожнині хронометрична гіперкоагуляція змінюється хронометричною гіпокоагуляцією, тоді як функціональна активність тромбоцитів прогресивно зростає;

9. поєднання хронометричної гіпокоагуляції з підвищенням активності тромбоцитарної ланки первинного гемостазу, перманентним зниженням активності антитромбіну III та концентрації у плазмі крові фібриногену, різким пригніченням ферментативного фібринолізу у плазмі крові, значним зменшенням Хагеман-залежного лізису фібрину, зниженням потенційної активності плазміногену та підвищенням вмісту в крові розчинних комплексів фібрин-мономера дозволяє зробити висновок про розвиток через 72 години після моделювання колоногенного перитоніту дисемінованого внутрішньосудинного згортання крові;

19. внутрішньосудинна гемокоагуляція через 72 години після моделювання колоногенного перитоніту поєднується з глибоким пригніченням ензиматичного лізису фібрину у тканинах життєво важливих органів – головного мозку, серця, легень, печінки та нирок, що супроводжується значним зменшенням урокіназної активності сечі.

Література

1. Сірман В.М. Вплив алотрансплантації ембріональних плюрипотентних прогеніторних клітин на пероксидне окислення ліпідів та інтенсивність тканинного-фібринолізу в суглобах щурів з ад'ювантним артритом Пірсона/ В.М. Сірман// Медицина третього тисячоліття: Перший Міжн. Конгрес- круїз, 10-14жовтня 2003р. – Одеса-К., 2003.-С. 190-192.

2. Кухарчук О.Л. Вплив алотрансплантації ембріональних плюрипотентних прогеніторних клітин на інтенсивність тканинного фібринолізу у внутрішніх органах

щурів з ад'ювантним артритом Пірсона/ О. Л. Кухарчук, В.М. Сірман// Динаміка наукових досліджень ' 2003: II Міжнар. Наук.-практ. конф.,20-27 жовтня 2003р.: матеріали конф.- Дніпропетровськ- Луганськ- Чернівці. -2003. –Т.15(Медицина). –С. 63-65.

3. Кухарчук О.Л. Вплив тканинної терапії на нестимульовану генерацію ІЛ-4, ІЛ-6, ІЛ10, ІЛ2, ІNF- γ , TNF- α , ІЛ-1 β , ІЛ-12, ІЛ-1RA, Rantes лімфоцитами щурів з ад'ювантним артритом Пірсона/ О.Л. Кухарчук, В.В. Радченко, В.М. Сірман // клін. та експерим. патологія. -2004.- Т. III, №2 (ч.2) -С. 371-372.

4. Кухарчук О.Л. Патогенетична роль та методи корекції інтегративних порушень гормонально-месенджерних систем регуляції гомеостазу натрію при патології нирок: Автореф. дис. д-ра мед. наук: 14.03.05 / Одеський мед. ін-т. - Одеса, 1996. - 37 с.

5. Jones S., Horwood N., Core A., Dazzi F. The antiproliferative effect of mesenchymal stem cells is a fundamental property shared by all stromal cells // J. Immunol. – 2007. – Vol. 179. – P.2824-2831.

6. Хомко О.Й. Стан активності деяких гормональних та ферментних систем у хворих з різними формами гострого перитоніту: Автореф. дис. канд. мед. наук: 14.01.03 / Харківській мед. ун-т. - Харків, 1996.- 25 с.

7. Конюхова С.Г., Дубикайтис А.Ю., Шабуневич А.В. и др. Роль активации перекисного окисления липидов в патогенезе экспериментального перитонита // Бюл. эксперим. биол. и мед.- 1989.- т.107, №5. - С. 557-559.

8. Дзизенко С.Н., Пустовойт П.И., Горячий В.В. Активность протеолитических ферментов в перитонеальном экссудате и сыворотке крови у больных с перитонитом // Клін. хірургія.-1996.-№2-3.-С. 23.

9. Kanfer A. Coagulation factors in nephrotic syndrome // Amer. J. Nephrol. - 1990. - 1, N1. - P. 63 - 68.

10. Гоженко А.І. “Приховане” ушкодження проксимального відділу нефрону / А.І. Гоженко, Ю.Є. Роговий, О. С. Федорук // Одеський медичний журнал. – 2001. – №5. – С.16–19.

11. Гоженко А.И. Типовые патогенетические механизмы формирования заболеваний почек // Патологія. – 2008. – Т. 5, №3. – С. 66

12. Zheng Z.H., Li X.Y., Ding J. et al. Allogeneic mesenchymal stem cell and mesenchymal stem cell-differentiated chondrocyte suppress the responses of type II collagen-

reactive T-cells in rheumatoid arthritis // *Rheumatology (Oxford)*. – 2008. – Vol. 47. – P.22-30.

13. Acosta-Rodriguez E.V., Napolitani G., Lanzavecchia A., Sallusto F. Interleukins 1beta and 6 but not transforming growth factor-beta are essential for the differentiation of interleukin 17-producing human T helper cells // *Nature Immunology*. – 2007. – № 8. – P.942-949.

14. Пат. № 30727А Україна, МПК7 G J 01. Спосіб визначення тканинної фібринолітичної активності / Боднар Б.М., Кухарчук О.Л., Магальяс В.М., Пенішкевич Я.І., Пішак О.В., Роговий Ю.Є., Сливка В.І., Шаповалов В.П. від 17.05.2000.

References

1. Sirman V.M. Impact alotransplantatsiyi embryonic pluripotent progenitor cells in lipid peroxidation and tissue-intensity fibrinolysis in the joints of rats with adjuvant arthritis Pearson / V.M. Sirman// *Medicine Third Millennium: Pershiy Mijn. Kongres- kruiz, 10-14 november 2003 y.* – Odesa - K., 2003.- P. 190-192. (Ukr.)

2. Kuharchuk O.L. Impact alotransplantatsiyi embryonic pluripotent progenitor cells in the tissue fibrinolysis intensity in the internal organs of rats with adjuvant arthritis Pearson / O. I. Kuharchuk, V.M. Sirman// *Dynamics Research ‘ 2003: II Mijnar. Nauk.-prakt. konf.,20-27 October 2003y.: materiali konf.- Dnipropetrovsk – Lugansk - Chernivci. -2003. – T.15(Medicina).* – P. 63-65. (Ukr.)

3. Kuharchuk O.L. Effect of Tissue Therapy in unstimulated generation IL-4, IL-6, IL10, IL2, INF- γ , TNF- α , IL-1 β , IL-12, IL-1RA, Rantes lymphocytes in rats with adjuvant arthritis Pearson / O.L. Kuharchuk, V.V. Radchenko, V.M. Sirman // *Klin. ta eksperim. patologiya.* - 2004.- T. III, № 2 (p.2) - P. 371-372. (Ukr.)

4. Kuharchuk O.L. Pathogenetic role and methods of correction integrative disorders, hormonal regulation of homeostasis Messenger of sodium renal disease: Author. Dis. Dr. med. Science: 14.03.05 / *Odeskiy med. in-t.* - Odesa, 1996. - 37 p. (Ukr.)

5. Jones S., Horwood N., Cope A., Dazzi F. The antiproliferative effect of mesenchymal stem cells is a fundamental property shared by all stromal cells // *J. Immunol.* – 2007. – Vol. 179. – P.2824-2831.

6. Homko O.Y. State of activity of certain hormonal and enzyme systems in patients with various forms of acute peritonitis: Author. Dis. candidate. honey. Science: 14.01.03 / *Harkivskiy med. un-t.* - Harkiv, 1996.- 25 p. (Ukr.)

7. Konyuhova S.G., Dubikaytis A.Yu., Shabunovich A.V. et al. The role of lipid peroxidation in the pathogenesis of experimental peritonitis // *Byul. eksperim. biol. i med.*-1989.- т.107, №5. - P. 557-559. (Rus.)
8. Dzizenko S.N., Pustovoyt P.I., Goryachiy V.V. Activity of proteolytic enzymes in peritoneal exudate and blood serum of patients with peritonitis // *Klin. hirurgiya.*-1996.-№ 2-3.-P. 23. (Rus.)
9. Kanfer A. Coagulation factors in nephrotic syndrome // *Amer. J. Nephrol.* - 1990. - 1, N1. - P. 63 - 68.
10. Gozhenko A.I. “ Hidden "damage proximal nephron / A.I. Gozhenko, Yu.E. Rogoviy, O. S. Fedoruk // *Odeskiy medichniy jurnal.* – 2001. – №5. – P.16–19. (Ukr.)
11. Gozhenko A.I. Typical pathogenetic kidney diseases Mechanisms the formative // *Pathology.* – 2008. – Т. 5, №3. – С. 66 (Ukr.)
12. Zheng Z.H., Li X.Y., Ding J. et al. Allogeneic mesenchymal stem cell and mesenchymal stem cell-differentiated chondrocyte suppress the responses of type II collagen-reactive T-cells in rheumatoid arthritis // *Rheumatology (Oxford).* – 2008. – Vol. 47. – P.22-30.
13. Acosta-Rodriguez E.V., Napolitani G., Lanzavecchia A., Sallusto F. Interleukins 1beta and 6 but not transforming growth factor-beta are essential for the differentiation of interleukin 17-producing human T helper cells // *Nature Immunology.* – 2007. – № 8. – P.942-949.
14. Pat. № 30727A Ukraine, MPK7 G J 01. Method for determining fibrinolytic activity of tissue / Bodnar B.M., Kuharchuk O.L., Magalyas V.M., Penishkevich Ya.I., Pishak O.V., Rogoviy Yu.E., Slivka V.I., Shapovalov V.P. vid 17.05.2000.