ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ФАРМАКОЛОГІЯ

Рекомендована д.м.н., професором С.М.Дроговоз

УДК 615. 22

ФІБРИНОЛІТИЧНА ТА ПРОТЕОЛІТИЧНА АКТИВНІСТЬ ТКАНИН ПІСЛЯ КУРСОВОГО ЗАСТОСУВАННЯ ТІОТРИАЗОЛІНУ ТА ДЕЯКІ ПАРАМЕТРИ ЙОГО ФАРМАКОКІНЕТИКИ

О.В.Геруш

Буковинська державна медична академія

У дослідах на щурах показано, що тіотриазолін (100 мг/кг per os) після курсового (7 днів) введення помітно підвищує показники фібринолітичної та протеолітичної активності в тканинах нирок, серця і печінки. Найбільш суттєве зростання фібринолізу та протеолізу спостерігається в сосочку нирок. У досліджуваних тканинах організму тіотриазолін розподіляється нерівномірно. Максимальне накопичення препарату спостерігається у кишківнику (товстій та тонкій кишках) і послідовно знижується в скелетному м'язі, шлунку, печінці, нирках, серці, селезінці.

Сьогодні все ширшого застосування в медичній практиці набуває вже добре відомий вітчизняний гепато- та кардіопротекторний засіб — тіотриазолін. Доведено, що тіотриазолін проявляє антиоксидантну, мембраностабілізуючу дію, сповільнює зсідання крові та нормалізує порушений коагуляційний гомеостаз [7, 12, 13]. Однак стан тканинної фібринолітичної активності та інтенсивність необмеженого протеолізу при застосуванні препарату в літературі не висвітлений. Відомо, що при захворюваннях серця, печінки та інших органів дисбаланс про- та антипротеолітичних систем значно погіршує їх перебіг [6, 16], а пригнічення тканинного фібринолізу порушує мікроциркуляцію та функцію органів [16, 17, 18, 20].

Метою даної роботи було вивчення впливу тіотриазоліну на фібринолітичну та протеолітичну активність тканин організму, а також з'ясування розподілу препарату у внутрішніх органах після його багаторазового введення.

Матеріали та методи

Експерименти проведені на 34 самцях білих щурів масою 0,14-0,17 кг, які знаходилися на повноцінному раціоні віварію за умов сталої температури та вологості. Згідно з уніфікованим планом дослідження за 4 доби до початку експерименту тварин переводили на стандартний режим харчування, доступ до води не обмежували. В усіх серіях дослідів щурам упродовж 7 днів у шлунок за допомогою зонду вводили тіотриазолін виробництва АТ "Галичфарм" (Україна) в дозі 100 мг/кг в об'ємі 5 мл/кг маси тіла. Контрольним тваринам вводили відповідний об'єм розчинника (дистильовану воду). Евтаназію тварин робили шляхом декапітації під нембуталовою анестезією (40 мг/кг) через 3 год після останнього введення препарату чи розчинника. Наважки досліджуваних органів заморожували у рідкому азоті.

Тканинний фібриноліз оцінювали за методом [10]. З використанням реактивів фірми "Simko Ltd." (Україна) визначали стан ферментативного та неферментативного фібринолізу в тканинах нирок, серця, печінки. Принцип методу полягає в тому, що при інкубації азофібрину зі стандартною кількістю плазміногену в присутності активаторів та інгібіторів фібринолізу, які містяться в тканинах, утворюється плазмін, активність якого оцінюється за ступенем забарвлення розчину в лужному середовищі в присутності епсилон-амінокапронової кислоти (неферментативний фібриноліз) або без неї (сумарна фібринолітична активність). Різниця між ними відповідає інтенсивності ферментативного фібринолізу.

Для оцінки необмеженого протеолізу [6, 10] до 1 мг азоальбуміну (азоказеїну чи азоколу) додавали 0,25 мл 1% гомогенату тканини і 1,5 мл боратного буфера (pH 9,0). У контрольній пробі до 1 мг азосполук (Simko Ltd., Україна) замість гомогенату тканини додавали 0,25 мл дистильованої води. Проби перемішували на апараті "Vortex" та інкубували протягом 30 хв у термостаті "ТПС- 8" при 37°С. Після чого додавали по 0,02 мл 5 М NaOH, перемішували, ще додавали по 2 мл дистильованої води, знову ретельно перемішували, фільтрували і визначали оптичну густину проб при до-

Таблиця 1

Вплив багаторазового (7 днів) введення тіотриазоліну на тканинну фібринолітичну активність у білих щурів (x±Sx)

Показники, що вивчалися	Контроль, n=7	Дослід, n=10
Фібринолітична активність міокарда (E_{440}/г тканини за год):		
сумарна	4,29±0,42	6,71±0,34 p<0,01
неферментативна	2,17±0,15	3,24±0,29 p<0,05
ферментативна	2,12±0,28	3,47±0,24 p<0,01
Фібринолітична активність печінки (E_{440}/г тканини за год):		
сумарна	7,03±0,51	11,20±1,16 p<0,01
неферментативна	3,56±0,45	5,14±0,38 p<0,05
ферментативна	3,47±0,27	6,06±0,92 p<0,05
Фібринолітична активність кіркової речовини нирок (E_{440}/г тканини за год):		
сумарна	9,36±0,40	11,52±0,60 p<0,05
неферментативна	5,67±0,46	7,16±0,36 p<0,05
ферментативна	3,68±0,12	4,35±0,28
Фібринолітична активність мозкової речовини нирок (E_{440}/г тканини за год):		
сумарна	5,80±0,76	8,41±0,32 p<0,05
неферментативна	2,85±0,36	4,37±0,23 p<0,01
ферментативна	2,95±0,45	4,04±0,14 p<0,05
Фібринолітична активність сосочка нирок (E_{440}/г тканини за год):		
сумарна	4,54±0,28	13,78±1,48 p<0,001
неферментативна	2,04±0,26	6,05±0,60 p<0,001
ферментативна	2,50±0,08	7,73±0,97 p<0,001

Примітка. p — ступінь достовірності різниці показників у порівнянні з контролем; n — число спостережень.

Таблиця 2

Вплив багаторазового (7 днів) введення тіотриазоліну на тканинну протеолітичну активність у білих щурів (x±Sx)

Показники, що вивчалися	Контроль, n=7	Дослід, n=10
Протеолітична активність міокарда (E_{440}/г тканини за год):		
лізис азоальбуміну	28,49±1,90	39,89±1,14 p<0,001
лізис азоказеїну	35,89±1,55	40,69±1,95
лізис азоколу	6,32±0,24	7,39±0,21 p<0,01
Протеолітична активність печінки (E_{440}/г тканини за год):		
лізис азоальбуміну	19,77±1,39	35,20±0,86 p<0,001
лізис азоказеїну	26,64±2,21	33,14±3,08
лізис азоколу	10,47±0,81	14,13±0,99 p<0,05
Протеолітична активність кіркової речовини нирок (E_{440}/г тканини за год):		
лізис азоальбуміну	17,32±0,74	20,22±0,89 p<0,05
лізис азоказеїну	22,56±1,46	27,65±2,12
лізис азоколу	5,44±0,12	6,57±0,18 p<0,001
Протеолітична активність мозкової речовини нирок (E_{440}/г тканини за год):		
лізис азоальбуміну	21,46±1,39	24,38±1,39
лізис азоказеїну	21,41±2,89	27,42±2,21
лізис азоколу	4,67±0,17	5,12±0,22
Протеолітична активність сосочка нирок (E_{440}/г тканини за год):		
лізис азоальбуміну	47,76±5,37	101,60±9,92 p<0,01
лізис азоказеїну	57,44±8,49	101,18±11,21 p<0,05
лізис азоколу	0,74±0,14	2,10±0,28 p<0,01

Примітка. p — ступінь достовірності різниці показників у порівнянні з контролем; n — число спостережень.

вжині хвилі 440 нм на фотоелектроколориметрі "КФК-2".

З метою розширення уявлень про фармакокінетику тіотриазоліну, з урахуванням даних ТФС-42У-39-94 нами було проведене дослідження накопичення препарату в тканинах серця, печінки, легень, селезінки, нирок (кірковий, мозковий шар, сосочок), скелетного м'яза, тонкої і товстої кишок та шлунка після курсового (7 діб) введення препарату [1, 15].

Результати досліджень були статистично оброблені на комп'ютері за допомогою програми "Statgraphics" з використанням t-критерію Ст'юдента.

Результати та їх обговорення

Розподіл тіотриазоліну у тканинах після багаторазового введення наведений на рис. Основна частина препарату накопичувалася в кишківнику (у товстій та тонкій кишках), скелетному м'язі, шлунку та печінці, що в цілому складає 86,1% від його загальної кількості в досліджуваних органах. У нирках затримувалося близько 9% тіотриазоліну, в кортикальний тканині — лише 0,3%. Вміст препарату в тканинах серця, селезінки складав 3,5% і 1,8% відповідно, в легенях його практично не було виявлено.

При курсовому введенні тіотриазолін помітно підвищує показники фібринолітичної активності в тканинах нирок, серця і печінки, причому найбільш суттєво — в нирках (табл. 1). Так, у сосочку нирок сумарна фібринолітична активність збільшувалася на 203,52% завдяки підвищенню інтенсивності як ферментативного, так і неферментативного фібринолізу (на 209,20% та 196,57% відповідно). У кортикальній тканині нирок достовірно зростав неферментативний фібриноліз, спостерігалася тенденція (t=2,20; n=17) до збільшення ферментативної фібринолітичної активності, що призводило до підвищення на 23,08% сумарної фібринолітичної активності.

У мозковому шарі нирок відмічене збільшення сумарного фібринолізу на 45,0%, неферментатив-

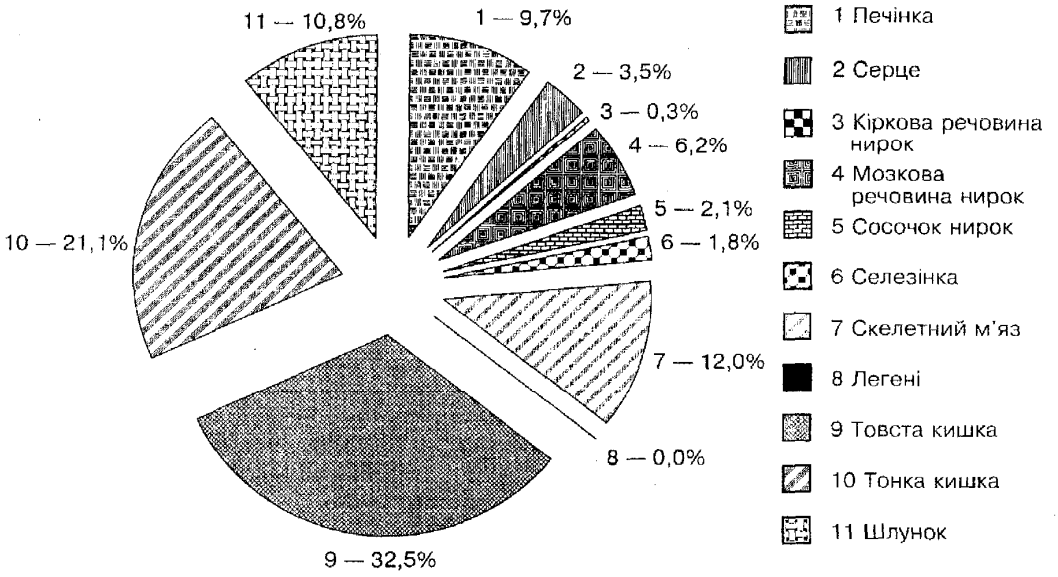

Рис. Розподіл тіотриазоліну в тканинах щурів після введення препарату в дозі 100 мг/кг на добу впродовж 7 днів (в % від загального вмісту препарату в досліджуваних органах).

на фібринолітична активність зростала на 53,33%, ферментативний фібриноліз — на 36,95%. Підсилення фібринолітичної активності тканин нирок під впливом тіотриазоліну може бути обумовлено активацією синтезу в юкстагломерулярному апараті урокінази, яка, як відомо, регулює інтенсивність ензиматичного лізису фібрину [2].

У тканині серця спостерігалось підвищення як ферментативного (на 63,68%), так і неферментативного (на 49,31%) фібринолізу.

У печінці під впливом препарату ферментативний фібриноліз переважав над неферментативним. Можна припустити, що це пов'язано з гепатопротекторною дією тіотриазоліну [7] та утворенням у печінці жовчних кислот, зокрема таурехолевої, яка активує плазміноген — основний фермент, під впливом якого здійснюється розщеплення ниток фібрину [2].

Таким чином, під впливом тіотриазоліну зростає фібринолітична активність у тканинах нирок, серця та печінки. Це свідчить про позитивний вплив препарату на екстравазальні механізми регуляції мікроциркуляції — адже інтенсивність сумарного фібринолізу збільшується як за рахунок неферментативного, так і високоефективного ензиматичного лізису позасудинних відкладень фібрину [2].

Дослідження стану тканинної протеолітичної активності показало (табл. 2), що найбільш суттєві зміни інтенсивності необмеженого протеолізу відбуваються також у нирках, особливо в сосочку: лізис азоальбуміну збільшувався в 2,1 рази, азоказеїну — в 1,8 разів, а колагенолітична активність перевищувала таку у контрольних тварин майже в 3 рази. У кірковій речовині нирок достовірно зростав лізис азоальбуміну та азоколу за тенденції ($t=1,89$; $n=17$) до підвищення лізису азоказеїну. Змін протеолітичної активності в мозковій речовині нирок не спостерігали.

У тканині серця збільшувалась інтенсивність деградації як низькомолекулярних білків (в 1,4 рази), так і колагену (в 1,2 рази). Протеолітична деструкція високомолекулярних білків суттєвих змін не зазнавала.

Вплив тіотриазоліну на тканинний протеоліз у печінці характеризувався значним зростанням лізису азоальбуміну та азоколу, інтенсивність якого була на 78,05% та 34,96% вищою за контрольні показники. Лізис азоказеїну не змінювався.

Отже, отримані результати свідчать, що за умов курсового застосування тіотриазоліну спостерігається активація тканинного протеолізу, особливо в сосочку та кірковій речовині за відсутності суттєвих змін у мозковому шарі нирок. Такі зміни протеолітичної активності в тканинах нирок можуть бути наслідком активації протеолізу плазми крові. Збільшення лізису азоальбуміну і азоказеїну в кортикальний тканині нирок може бути обумовлено високим рівнем їх кровопостачання [11, 13], а в сосочку нирок зростання інтенсивності протеолізу ймовірно зумовлено концентруванням сечі, яка містить протеолітичні ензими, що профільтрувалися [9]. Щодо мозкового шару нирок, то його кровопостачання зростає переважно за умов пошкодження проксимальних канальців — за типом шунта Труета [10], тому достовірні зміни протеолізу в медулярній тканині нирок не спостерігалися.

На особливу увагу заслуговує той факт, що антиоксидантна та мембраностабілізуюча дія тіотриазоліну [4, 5, 20] поєднується з підвищенням колагенолітичної активності в тканинах серця,

печінки та нирок, що відкриває певні перспективи щодо застосування цього препарату для пригнічення інтенсивності фіброзогенезу в цих органах.

ВИСНОВКИ

1. Розподіл тіотриазоліну (100 мг/кг, тривалість введення — 7 днів) в тканинах організму нерівномірний. Максимальне накопичення препарату спостерігається у кишківнику (товстій та тонкій кишках) і послідовно знижується в скелетному м'язі, шлунку, печінці, нирках, серці, селезінці.

2. У тканинах серця, печінки та нирок тіотриазолін суттєво підвищує інтенсивність протеолітичної деградації колагену.

3. Тіотриазолін після курсового застосування збільшує в тканинах серця, печінки та нирок як неферментативний, так і високоефективний ензиматичний лізис позасудинних відкладень фібрину.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Братчик А.М. Клинические проблемы фибринолиза. — К.: Здоров'я, 1993. — 344 с.*
2. *Васильєва Н.В., Мещишен І.Ф., Мудрик З.А. // Укр. наук. мед. молодіжний журн. — 1998. — №2-3. — С. 38-41.*
3. *Веремеенко К.Н. Протеолиз в норме и при патологии. — К.:Здоров'я, 1993. — 277с.*
4. *Візір А.Д., Григор'єва З.С., Поливода С.В. // Ліки. — 1994. — №5-6. — С. 80-84.*
5. *Геруш О.В., Косуба Р.Б. // Ліки. — 1999. — № 3-4. — С. 103-106.*
6. *Дунаев В.В., Филимонов В.И., Мазур И.А. и др. // Матер. наук.-практ. конф. "Актуальні питання фармацевтичної науки та практики". — Запоріжжя, 1995. — С. 58-59.*
7. *Дроговоз С.М., Сальникова С.І. // Вісник фармації. — 1995. — №1-2. — С. 73-76.*
8. *Жила В.В., Кушнирук В.И. Местный фибринолиз почек. — К.: Наукова думка, 1986. — 168 с.*
9. *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.*
10. *Наточин Ю.В. Основы физиологии почки. — Л.: Медицина, 1982. — 207 с.*
11. *Піняжко О.Р., Ковалів Ю.Б. // Ліки. — 1997. — №5. — С. 60-63.*
12. *Рябов С.И., Наточин Ю.В., Бондаренко В.Б. Диагностика болезней почек. — Л.: Медицина, 1979. — 255 с.*
13. *Стець В.Р., Піняжко О.Р., Стець О.В. // Матер. наук.-практ. конф. "Актуальні питання фармацевтичної науки та практики".— Запоріжжя, 1995. — С. 87.*
14. *ТФС 42У-39-94. Розчин тіотриазоліну 1% для ін'єкцій. — К., 1994. — 5 с.*
15. *Collen D.C., Gold H.K. // Trombosis Research. — 1990. — Suppl. X. — P.105-131.*
16. *Folsom Aaron R. // Ann. Med. (Gr. Brit.) — 2000. — Vol. 32, №9. — P. 85-91.*
17. *Folsom Aaron R., Aleksic Nena, Park Eunsik, Salomaa Veikko et al. // Arteriosclerosis, Thrombosis and Vasc. Biol. — 2001. — Vol. 21, №4. — P. 611-617.*
18. *Juhan-Vague Irene, Alessi Marie Christine, Morange Pierre E. // Ann. Med. (Gr. Brit.) — 2000. — Vol. 32, №9. — P. 78-84.*
19. *Pinyazhko O.R., Kucharchuk O.L., Stets O.V. // Aktuality v nefrologii. — 1998. — №1. — P. 85.*
20. *Pires Silene L.S., Barres Christian, Sassard Jean, Julien Claude. // Hypertension. — 2001. — Vol. 38, №1. — P. 147-152.*

УДК 615.22

ФИБРИНОЛИТИЧЕСКАЯ И ПРОТЕОЛИТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ТКАНЕЙ ПОСЛЕ КУРСОВОГО ПРИМЕНЕНИЯ ТИОТРИАЗОЛИНА И НЕКОТОРЫЕ ПАРАМЕТРЫ ЕГО ФАРМАКОКИНЕТИКИ

О.В.Геруш

В опытах на крысах показано, что тиотриазолин (100мг/кг per os) после курсового (7 дней) введения заметно повышает показатели фибринолитической и протеолитической активности в тканях почек, сердца и печени. Наиболее существенное возрастание фибринолиза и протеолиза отмечается в сосочке почек. В исследуемых тканях организма тиотриазолин распределяется неравномерно. Максимальное накопление препарата отмечается в кишечнике (толстой и тонкой кишках) и последовательно уменьшается в скелетной мышце, желудке, печени, почках, сердце, селезенке.

UDC 615.22

FIBRINOLYTIC AND PROTEOLYTIC ACTIVITY OF TISSUES AFTER COURSE ADMINISTRATION OF THIOTRIAZOLINE AND SOME PARAMETERS OF ITS PHARMACOKINETICS

O.V.Gerush

The experiments on rats have shown that thiotriazoline (100 mg/kg per os) after course administration (7 days) increases parameters of fibrinolytic and proteolytic activity in the tissues of kidneys, heart and liver. The most significant increase of fibrinolysis and proteolysis has been noticed in the kidneys pappila. In the investigated tissues thiotriazoline distributes unevenly. Maximum accumulation of the preparation has been distinguished in the intestine (large, small intestine) and decreasing successively in the skeletal muscle, stomach, liver, kidneys, heart, spleen.