

Р. І. Сидорчук

*Буковинська державна
медична академія, м. Чернівці***ЗМІНИ СИСТЕМ ПРОТЕОЛІЗУ-ФІБРИНОЛІЗУ НИРОК
ЗА АБДОМІНАЛЬНОГО СЕПСИСУ**

Резюме. Встановлено динаміку основних показників протеолітичної та фібринолітичної активності тканини нирок та плазми крові в умовах експериментального абдомінального сепсису. В результаті проведеного корелятивного аналізу виявлено наявність позитивних та негативних зв'язків між відповідними показниками у плазмі крові та нирках, що дозволяє встановити роль даних змін у патогенезі абдомінального сепсису та може служити підґрунтям для розробки адекватних методів корекції виявлених порушень.

Ключові слова: абдомінальний сепсис, нирки, фібриноліз, протеолітична активність.

Вступ

Незважаючи на суттєві досягнення сучасної хірургічної науки і значні успіхи у боротьбі з гнійною хірургічною інфекцією, абдомінальний сепсис (АС) залишається однією зі складних та недостатньо вивчених проблем. Хоча у середньому частота виявлення сепсису складає від 1 до 17 на 1000 госпіталізованих хворих, однак у відділеннях інтенсивної терапії та спеціалізованих хірургічних стаціонарах цей показник збільшується до 3–5 % [1, 6, 7]. Летальність при АС не має сталості тенденції до зниження, досягаючи навіть, за повідомленнями окремих авторів, 80–90 % при септичному шоку та розвитку поліорганної недостатності [2, 4–6]. Згідно зі сучасними уявленнями про сутність абдомінального сепсису, АС є системною запальною реакцією у відповідь на розвиток гнійно-некротичного, запального, деструктивного процесу в очеревинній порожнині. Ключовими факторами, що відіграють певну роль у розвитку органних та системних пошкоджень, синдрому поліорганної недостатності (СПОН), є внутрішньоклітинна і тканинна гіпоксія, внутрішньоклітинний гіперметаболізм, реперфузійні ушкодження, розвиток порушень систем протеолізу-фібринолізу та ДВЗ-синдрому [7, 8, 11]. Наявність ушкодження нирок за таких умов на сьогодні не викликає сумніву [10]. У той же час досліджень змін фібринолітичної та протеолітичної активності тканини нирок за АС недостатньо.

Метою роботи було встановлення динаміки змін систем протеолізу-фібринолізу нирок та плазми крові у порівняльному аспекті, виявити корелятивні зв'язки між ними в умовах абдомінального сепсису.

Матеріали та методи

Об'єктом дослідження було обрано 47 статевозрілих лінійних щурів Wistar середньою масою $253,19 \pm 12,68$ г. АС моделювали за власною мето-

дикою (патент України №39686 А). Через 6, 24, 48 та 72 години проводили евтаназію з дотриманням вимог Ванкуверської конвенції про біомедичні експерименти й забирали матеріал для дослідження.

Стан фібринолітичної активності (ФА) визначали на основі реакції з азофібрином (БіоМарк, Україна). При цьому визначали [3] сумарну (СФА), ферментативну (ФФА) та неферментативну фібринолітичну активність (НФА). Стан протеолітичної активності (ПА) по відношенню до різних білкових фракцій [3] оцінювали за реакцією з азоальбуміном, азоказеїном та азоколагеном (БіоМарк, Україна). Забір матеріалу для морфологічних досліджень, його фіксацію, зневоднення та приготування проводили згідно з усталеними вимогами для виготовлення гістологічних препаратів. Фотографування проводили за допомогою цифрового мікроскопа Intel® Digitalux™ та програми Corel® Photo House™ 5.0 при збільшенні $\times 100$. Обробка отриманих баз даних проводилася методом варіаційної статистики за критерієм W. Gusset [9] з використанням програмних пакетів Origin® 7.0 (Microcal Software™/Origin Labs®) та Excel® 2000 built 9.0.2812 (Microsoft®).

Результати досліджень

Зміни протеолітичної активності плазми крові наведено у табл. 1. Упродовж 24 годин з часу моделювання АС спостерігали спочатку зростання, а потім вірогідне зниження протеолітичної активності плазми крові по відношенню до основних білкових фракцій. Так, протеолітична активність за реакцією з азоальбуміном зростала вдвічі, а потім знижувалася майже вдвічі (упродовж 6 та 24 годин відповідно), протеолітична активність відносно колагену — спочатку також зростала з подальшим зниженням майже вчетверо, а ПА щодо азоказеїну упродовж 24 годин зменшувалася на 36,16 % після вірогідного зростання протягом 6 годин. Протягом 48 годин



спостерігали незначне зростання протеолітичної активності плазми відносно альбуміну та подальше зниження цієї активності у 3,38 рази відносно колагену. Зміни протеолітичної активності щодо високомолекулярних білків були невірогідними. В подальшому спостерігалось зниження протеолітичної активності плазми крові за реакцією з азоальбуміном та азоказеїном на 19,11 та 15,25 % відповідно, різке зростання протеолітичної активності щодо колагену більш ніж у 8 разів.

Нами було встановлено (табл. 2), що протеолітична активність тканини нирок лінійних щурів упродовж експерименту значно змінюється. Суттєве зростання протеолітичної активності стосовно колагену та казеїну (у 7,62 та 2,7 разів відповідно) при незначному зниженні ПА щодо низькомолекулярних білків характеризувало початковий період розвитку АС. Через 24 годин спостерігали зростання активності протеолізу альбуміну майже вдвічі, зростання протеолітичної активності відносно казеїну було статистично невірогідним ($p > 0,05$), а протеолітична активність відносно колагену зменшилася майже вчетверо. Через 48 годин відмічали незначні зміни ПА нирок відносно альбуміну (при високому рівні щодо початкового періоду експерименту), подальше зниження — колагену (вдвічі), пригнічення протеолітичної активності стосовно високомолекулярних білків (казеїну) знову було статистично невірогідним. Зростання ПА тканини нирок відносно колагену спостерігали через 72 години після розвитку патологічного процесу, однак, навіть за двократного зростан-

ня у порівнянні з попереднім періодом спостереження цей показник був майже вчетверо меншим від аналогічного на 6-ту годину дослідження. При цьому на фоні зниження протеолітичної активності відносно казеїну, спостерігали незначне зростання ПА щодо низькомолекулярних білків (альбуміну).

Дослідженням динаміки фібринолітичної активності плазми (табл. 3) встановлено, що СФА плазми крові послідовно підвищується протягом 24 та 48 годин (після різкого падіння на 6-ту годину експерименту) і дещо знижується на 72 годину з моменту розвитку АС. Зміни СФА зумовлюється відповідними коливаннями як ФФА, так і НФА, однак, більшою мірою НФА.

На відміну від показників фібринолітичної активності плазми крові, упродовж перших 6-ти годин експерименту спостерігали вірогідне зростання всіх показників фібринолітичної активності тканини нирок. Через 48 годин від початку розвитку АС спостерігається (табл. 4) вірогідне зниження показників сумарної фібринолітичної активності тканини нирок за рахунок як ФФА, так і НФА у порівнянні з 6 та 24-годинними періодами. Через 72 години спостерігається вірогідне зростання зазначених показників.

Обговорення результатів досліджень

Гостра недостатність функції печінки та нирок — один з найважливіших факторів у танатогенезі АС [1, 2, 5]. Саме тому встановлення корелятивних зв'язків між змінами відповідних показників у плазмі та нирках є важливим компонентом для встановлення ролі окремих

Таблиця 1

Показники протеолітичної активності плазми крові щурів лінії Wistar за абдомінального сепсису ($n = 47$, $M \pm m$)

Параметр (E_{440} /мл/год)	Тривалість захворювання				
	Контроль	6 год	24 год	48 год	72 год
Протеоліз альбуміну	2,78 ± 0,22	6,59 ± 0,16*	3,03 ± 0,16*	4,11 ± 0,23*	3,45 ± 0,11
Протеоліз колагену	0,62 ± 0,04	0,80 ± 0,05*	0,23 ± 0,02*	0,07 ± 0,01*	0,55 ± 0,07*
Протеоліз казеїну	3,39 ± 0,15	7,29 ± 0,24*	5,35 ± 0,13*	5,03 ± 0,05	3,30 ± 0,12*

Примітка: * — $p < 0,05$.

Таблиця 2

Показники протеолітичної активності тканини нирок щурів лінії Wistar за абдомінального сепсису ($n = 47$, $M \pm m$)

Параметр (E_{440} /мл/год)	Тривалість захворювання				
	Контроль	6 год	24 год	48 год	72 год
Протеоліз альбуміну	28,94 ± 1,07	25,41 ± 0,38	52,71 ± 2,3*	49,20 ± 2,03*	53,58 ± 1,11*
Протеоліз колагену	7,95 ± 0,48	61,18 ± 11,11*	16,37 ± 1,27*	8,68 ± 0,68*	16,21 ± 0,84*
Протеоліз казеїну	38,31 ± 0,97	102,74 ± 3,46*	105,05 ± 2,02	100,50 ± 3,13	95,76 ± 1,82*

Примітка: * — $p < 0,05$.

дизметаболических порушень у розвитку СПОН. Шляхом проведення кореляційного аналізу нами встановлено, що значущий позитивний корелятивний зв'язок присутній лише при аналізі рівнів протеолітичної активності плазми і нирок відносно колагену ($r = 0,69$). Коефіцієнти кореляції при порівнянні протеолітичної активності щодо низькомолекулярних білків та казеїну були значно нижчими ($-0,98$ та $-0,74$ відповідно), демонструючи міцні негативні корелятивні зв'язки. При аналізі відповідності динаміки фібринолітичної активності у плазмі та нирках виявлено досить міцні негативні кореляційні співвідношення між відповідними показниками. Зокрема, для СФА коефіцієнт « r » становив $-0,45$,

для ФФА $r = -0,61$, а для НФА $r = -0,35$. У той же час абсолютні цифрові значення показників нирок та плазми різнилися на порядок і більше.

Порушення систем протеолізу-фібринолізу за АС підтверджувалися відповідними змінами, які спостерігалися при гістологічному дослідженні тканини нирок. В умовах розвитку перитонеогенного АС визначаються дрібновогнищеві некрози епітелію звивистих каналців (рис. 1), просвіти більшості судин, переважно венул, заповнені еритроцитарними тромбами (рис. 2). В окремих ділянках паренхіми нирок зустрічаються незначні периваскулярні крововиливи, визначається вогнищева інфільтрація паренхіми нирок поліморфно-ядерними лейкоцитами.



Рис. 1. Некроз епітелію звивистих каналців нирки. Власна модель АС через 24 год з моменту моделювання. Гематоксилін-еозин. $\times 100$



Рис. 2. Тромбоз судин паренхіми нирки. Власна модель АС через 24 год з моменту моделювання. Гематоксилін-еозин. $\times 100$

Таблиця 3

Показники фібринолітичної активності плазми крові щурів лінії Wistar за абдомінального сепсису ($n = 47$, $M \pm m$)

Параметр ($E_{440}/\text{мл}/\text{год}$)	Тривалість захворювання				
	Контроль	6 год	24 год	48 год	72 год
Сумарна ФА	$1,04 \pm 0,10$	$0,57 \pm 0,03^*$	$0,99 \pm 0,05^*$	$1,02 \pm 0,08$	$0,91 \pm 0,07^*$
Неферментна ФА	$0,57 \pm 0,05$	$0,29 \pm 0,01^*$	$0,53 \pm 0,02^*$	$0,55 \pm 0,05$	$0,52 \pm 0,04$
Ферментна ФА	$0,47 \pm 0,05$	$0,28 \pm 0,02^*$	$0,46 \pm 0,03^*$	$0,47 \pm 0,04$	$0,39 \pm 0,04^*$

Примітка: * — $p < 0,05$.

Таблиця 4

Показники фібринолітичної активності тканини нирок щурів лінії Wistar за абдомінального сепсису ($n = 47$, $M \pm m$)

Параметр ($E_{440}/\text{мл}/\text{год}$)	Тривалість захворювання				
	Контроль	6 год	24 год	48 год	72 год
Сумарна ФА	$13,59 \pm 0,58$	$31,54 \pm 0,64$	$23,73 \pm 1,04^*$	$16,60 \pm 0,52^*$	$40,08 \pm 2,22^*$
Неферментна ФА	$7,32 \pm 0,30$	$16,43 \pm 0,48$	$12,28 \pm 0,53$	$8,97 \pm 0,27^*$	$21,04 \pm 1,11^*$
Ферментна ФА	$6,27 \pm 0,29$	$15,11 \pm 0,40$	$11,45 \pm 0,52^*$	$7,63 \pm 0,26^*$	$19,04 \pm 1,12^*$

Примітка: * — $p < 0,05$.

ЛІТЕРАТУРА

1. Гельфанд Б.Р., Бурневич С.З., Подачин П.В. и др. Абдоминальный сепсис: современный взгляд на нестарую проблему // Вестник интенсивной терапии. — 1998. — №1 (Инфекционные осложнения). — С. 12—16.
2. Криворучко И.А., Бойко В.В., Гусак И.В. Пути снижения риска смертности у больных, оперированных по поводу абдоминального сепсиса // Клиническая антибиотикотерапия. — 2002. — №3 (17). — С. 7—17.
3. Магальяс В.М., Михеев А.О., Роговий Ю.Е., Щербініна А.В., Турчинець Т.Г., Чинко Т.М. Сучасні методики експериментальних та клінічних досліджень Центральної науково-дослідної лабораторії Буковинської державної медичної академії: Методичний посібник. — Чернівці: БДМА, 2001. — 42 с.
4. Ребенок Ж.О. Сепсис і перебудова у сепсисології: результати і наслідки // Інфекційні хвороби. — 2002. — №4. — С. 77—79.
5. Резолюция конференции «Стандарты диагностики и лечения в гнойной хирургии» // Хирургия. — 2002. — №8. — С. 67—70.
6. Савельев В.С., Гельфанд Б.Р., Гологорский В.А. Сепсис в хирургии: современное состояние проблемы // Инфекционный контроль. — 2001. — №1. — С. 19—22.
7. Савельев В.С., Гельфанд В.Р., Гологорский В.А., Филимонов М.И., Бурневич С.З. Абдоминальный сепсис: современная концепция и вопросы классификации // Вестник хирургии. — 1999. — №3. — С. 14—18.
8. Bone R.C. Sir Isaac Newton, sepsis, SIRS, and CARS // Crit. Care Med. — 1996. — Vol. 24. — P. 1125—1129.
9. Devore J.L. Probability and Statistics for Engineering and the Sciences. 4th ed. — Wadsworth Publishing, NY. — 1995. — 945 p.
10. Groeneveld A.V. Патогенез острой почечной недостаточности при сепсисе // Сепсис: Сб. статей и рефератов. — К.: Нора-Принт, 1997. — С. 41—41.
11. Zigel N., Siebeck M., Geissler B. et al. Circulating mediators and organ function in patients undergoing planned relaparotomy vs conventional surgical therapy in severe secondary peritonitis // Arch. Surg. — 2002. — Vol. 137, №5. — P. 590—599.

ИЗМЕНЕНИЯ СИСТЕМ ПРОТЕОЛИЗА- ФИБРИНОЛИЗА ПОЧЕК ПРИ АБДОМИНАЛЬНОМ СЕПСИСЕ

Р. И. Сидорчук

THE CHANGES OF PROTEOLYSIS- FIBRINOLYSIS KIDNEY SYSTEMS UNDER ABDOMINAL SEPSIS

R. I. Sydorчук

Резюме. Установлена динамика основных показателей протеолитической и фибринолитической активности ткани почек и плазмы крови в условиях экспериментального абдоминального сепсиса. В результате проведенного коррелятивного анализа выявлено наличие положительных и отрицательных связей между соответствующими показателями в плазме крови и почках, что позволяет установить роль данных изменений в патогенезе абдоминального сепсиса и может служить основой для разработки адекватных методов коррекции выявленных нарушений.

Ключевые слова: абдоминальный сепсис, почки, фибринолиз, протеолитическая активность.

Summary. The dynamics of basic variables of proteolytic and fibrinolytic activity of kidneys tissue and blood plasma under conditions of the experimental abdominal sepsis was established. The correlative analysis was conducted and presence of negative and positive relations between respective variables in plasma and kidney were found which allow establishing the kidneys role in pathogenesis of abdominal sepsis and can serve as a basis for development of adequate methods for correction of discovered disorders.

Key words: abdominal sepsis, kidneys, fibrinolysis, proteolytic activity.