

С.І. Анохіна

Вищий державний навчальний заклад
України "Буковинський державний
медичний університет", м. Чернівці

ХАРАКТЕРИСТИКА ЗМІН ФІБРИНО- ТА ПРОТЕОЛІТИЧНОЇ АКТИВНОСТІ ПЛАЗМИ КРОВІ ТА ТКАНИН ВНУТРІШНІХ ОРГАНІВ У ГІПЕРТИРЕОЇДНИХ ОСЛІПЛЕНИХ ЩУРІВ

Ключові слова: енуклеація,
гіпертиреоз, плазмовий фібри-
ноліз, фібринолітична активність
тканин, протеоліз.

Резюме. В експериментах на гіпертиреоїдних, осліплених (енуклейованих), нелінійних самцях білих щурів встановлено зміни: в плазмі крові - пригнічення лізису високо- та низькомолекулярних білків, активація лізису азоколу, що супроводжувалося тотальним зростанням показників фібринолізу. У тканинах серця та печінки зниження показників фібринолітичної активності та зростання їх у тканині легень.

Вступ

Відомо, що пінеальна залоза є продуцентом родини метоксиндолів, із яких N-ацетил-5-метокситриптамін (мелатонін) та 5-метокситриптамін володіють гормональними властивостями [3, 12]. Приймаючи до уваги той факт, що епіфіз - нейроендокринне утворення, яке сприяє трансформації сигналів зовнішнього середовища в гуморальні стимули і яке здатне регулювати функціонування гіпоталамо-гіпофізарно-тиреоїдного комплексу, значний інтерес становить дослідження впливу мелатоніну на щитоподібну залозу [5, 6, 7, 12]. Більшість фізіологічних процесів людського організму мають ритмічний перебіг. Порушення структури хроноритмів (десинхроноз) є показником патологічного стану організму. Особливо небезпечне порушення збалансованості хроноритмів взаємозалежних або каскадних ферментативних реакцій, до яких належать процеси згортання крові [4]. Серед факторів, що впливають на гемостаз, особливе місце займають тиреоїдні гормони, які здатні впливати не тільки на функціональну активність тромбоцитів, але й регулювати інтенсивність плазмового і тканинного фібринолізу [2]. Питання фібринолізу привертають увагу широкого кола медичних фахівців клінічного та теоретичного напрямків [1]. Депресія фібринолітичної активності є одним із патогенетичних факторів розвитку тромбозів. Статистика виникнення інфарктів міокарду яскраво демонструє добову залежність даної патології [13], що може бути обумовлено циркадіанними коливаннями фібринолітичного потенціалу крові [10].

Враховуючи перелічене є доцільним з'ясувати комбінований вплив постійної продукції мелатоніну та гіперфункції щитоподібної залози на показники фібрино- та протеолітичної активності плазми крові та тканин внутрішніх органів (серце, печінка, легені).

© С.І. Анохіна, 2016

Мета дослідження

Провести аналіз змін фібрино- та протеолітичної активності плазми крові та тканин внутрішніх органів енуклеюваних гіпертиреоїдних щурів.

Матеріал і методи

Експерименти проведено на самцях нелінійних білих щурів масою від 0,12 до 0,14 кг. Контрольну групу склали 10 зрячих умовно здорових тварин. Енуклеацію, або осліплення щурів проводили під нембуталовим наркозом (40 мг/кг маси тіла), у кон'юнктивний мішечок вводили 0,1% розчин дікаїну, після чого видаляли очне яблуко [9], 7 тварин - перша група. Моделювання гіпертиреозу проводили шляхом щоденного внутрішньошлункового введення щурам L-тироксину в дозі 200 мкг/кг маси тіла протягом 14 діб [11], 7 тварин - друга група. Третя група 7 тварин - енуклеювані гіпертиреоїдні. Евтаназію тварин проводили під легким ефірним наркозом шляхом декапітації. Кров стабілізували 3,8%-им розчином натрію цитрату. Безтромбоцитарну плазму отримували центрифугуванням крові при 3000 об/хв впродовж 30 хв (ЦЛН-3, Росія). Наважки внутрішніх органів (серце, легені, печінка) гомогенізували у скляному гомогенізаторі з боратним буфером (рН 9.0). Для визначення тканинного фібринолізу гомогенати органів інкубували 30 хв з азофібрином фірми "Simko Ltd" (Україна) [8]. Протеолітичну активність плазми крові визначали подібним чином, без використання плазміногену, використовуючи колорогенні сполуки: азоальбумін (лізис низькомолекулярних білків), азоказеїн (лізис високомолекулярних білків) та азокол (лізис колагену) (Simko Ltd., Україна) [8]. Отримані результати статистично оброблені на РС "Pentium II" методом варіаційної статистики з визначенням t-критерію Стьюдента за програмою "Bio Stat".

Обговорення результатів дослідження

Дослідження плазмового фібринолізу осліплених щурів (перша група) (табл. 1) показало зростання всіх його показників. Підвищення сумарної фібринолітичної активності (СФА) відносно контрольної на 31%, за рахунок збільшення як ферментативного лізису фібрину (ФФА) - на 38%, так і неферментативної (НФА) - на 25%. При аналізі змін плазмового фібринолізу осліплених тварин за

введення L-тироксину (третя група) встановлено, що сумарна фібринолітична активність зростала відносно контрольної групи в 1,4 раза за рахунок зростання як неензиматичного лізису фібрину в 1,7 раза так і ензиматичного - на 19 %. Відносно показників першої групи спостерігалось підвищення СФА - 13 %, за зростанням НФА в 1,4 раза. Проте в порівнянні з показниками другої групи - сумарний лізис фібрину знижувався в 2,4 раза,

Таблиця 1**Характеристика змін плазмового фібринолізу та протеолізу в осліплених гіпертиреїдних щурів ($\bar{x} \pm Sx$)**

Показники, що вивчалися	контроль n=10	Енуклеація n=7 перша група	L-тироксин n=7 друга група	Енуклеація+ L-тироксин n=7 третя група
Сумарна фібринолітична активність, мкг азофібрину/1г тканини за 1 год	0,45±0,03	0,59±0,03 p ₁ <0,005	1,61±0,13 p ₁ <0,001	0,67±0,09 p ₁ <0,001 p ₃ <0,001
Неферментативна фібринолітична активність, мкг азофібрину/1г тканини за 1 год	0,24±0,01	0,30±0,03 p ₁ <0,05	0,89±0,07 p ₁ <0,001	0,42±0,06 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001 p ₃ <0,001
Ферментативна фібринолітична активність, мкг азофібрину/1г тканини за 1 год	0,21±0,02	0,29±0,01 p ₁ <0,005	0,72±0,06 p ₁ <0,001	0,25±0,03 p ₁ <0,05 p ₃ <0,001
Лізис низькомолекулярних білків, мкг азоальбуміну/1 г тканини за 1 год	3,13±0,28	1,33±0,09 p ₁ <0,001	3,68±0,16 p ₁ <0,05	0,95±0,11 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001 p ₃ <0,001
Лізис високомолекулярних білків, мкг азокозеїну/1 г тканини за 1 год	2,08±0,06	1,31±0,07 p ₁ <0,001	6,06±0,33 p ₁ <0,001	0,87±0,09 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001 p ₃ <0,001
Лізис колагену, мкг азоколу/1 г тканини за 1 год	0,20±0,03	0,30±0,04 p ₁ <0,05	0,07±0,01 p ₁ <0,001	0,13±0,02 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001 p ₃ <0,001

Примітка: n - число спостережень; p₁ - ступінь достовірності різниць показників відносно контролю; p₂ - ступінь достовірності різниць показників відносно таких у тварин першої групи; p₃ - ступінь достовірності різниць показників відносно таких у тварин другої групи.

ферментативний фібриноліз - в 2,8 раза, неферментативний - в 2,1 раза. Показники протеолітичної активності третьої групи тварин знижувались відносно всіх порівнювальних груп, а саме: відносно контролю - лізис азоальбуміну в 3,2 раза, азокозеїну - в 2,3 раза, азоколу - в 1,5 раза. В порівнянні з показниками першої групи - лізис низькомолекулярних білків - в 1,4 раза, лізис високомолекулярних білків - в 1,5 раза, лізис азоколу - в 2,3 раза. У порівнянні з показниками другої групи

деградація низькомолекулярних білків знижувалася в 3,8 раза, високомолекулярних - у 5 разів, проте колагеноліз зростав у 1,8 раза.

При характеристиці змін тканинного фібринолізу в серці (табл. 2) осліплених щурів встановлено зростання сумарного лізису фібрину в 3,4 раза, за зростанням неензиматичного лізису фібрину в 3,4 раза, ензиматичного - в 3,3 раза. При введенні енуклейованим тваринам L-тироксину спостерігалось зростання СФА відносно контролю в 1,8

Таблиця 2

Характеристика змін тканинної фібринолітичної активності в осліплених гіпертензивних щурів ($\bar{x} \pm S_x$)

Показники, що вивчалися	контроль n=10	Енуклеація n=7 перша група	L-тироксин n=7 друга група	Енуклеація+ L-тироксин n=7 третья група
Сумарна фібринолітична активність, мкг азофібрину/1г тканини за 1 год (тканина серця)	8,56±0,47	29,43±0,89 p ₁ <0,001	33,75±1,81 p ₁ <0,001	15,48±0,69 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001 p ₃ <0,001
Неферментативна фібринолітична активність, мкг азофібрину/1г тканини за 1 год (тканина серця)	4,62±0,28	16,11±0,31 p ₁ <0,001	17,90±0,91 p ₁ <0,001	8,22±0,45 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001 p ₃ <0,001
Ферментативна фібринолітична активність, мкг азофібрину/1г тканини за 1 год (тканина серця)	3,95±0,21	13,31±0,61 p ₁ <0,001	15,85±0,90 p ₁ <0,001	7,26 ±0,24 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001 p ₃ <0,001
Сумарна фібринолітична активність, мкг азофібрину/1г тканини за 1 год (тканина печінки)	12,03±0,62	28,92±2,34 p ₁ <0,001	45,55±2,38 p ₁ <0,001	15,22±1,17 p ₁ <0,01 p ₂ <0,01 p ₃ <0,001
Неферментативна фібринолітична активність, мкг азофібрину/1г тканини за 1 год (тканина печінки)	6,01±0,29	22,77±1,67 p ₁ <0,001	23,85±1,33 p ₁ <0,001	9,64±1,02 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001 p ₃ <0,001
Ферментативна фібринолітична активність, мкг азофібрину/1г тканини за 1 год (тканина печінки)	5,95±0,36	6,15±0,91 p ₁ <0,05	21,70±1,16 p ₁ <0,001	5,58±0,15 p ₃ <0,001
Сумарна фібринолітична активність, мкг азофібрину/1г тканини за 1 год (тканина легень)	9,59±0,28	4,55±0,71 p ₁ <0,001	40,78±2,71 p ₁ <0,001	12,74±0,71 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001 p ₃ <0,001
Неферментативна фібринолітична активність, мкг азофібрину/1г тканини за 1 год (тканина легень)	4,76±0,24	2,45±0,35 p ₁ <0,001	20,56±1,56 p ₁ <0,001	6,42±0,44 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001 p ₃ <0,001
Ферментативна фібринолітична активність, мкг азофібрину/1г тканини за 1 год (тканина легень)	4,75±0,10	2,11±0,37 p ₁ <0,001	20,22±1,35 p ₁ <0,001	6,32±0,27 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001 p ₃ <0,001

Примітка: n - число спостережень; p₁ - ступінь достовірності різниць показників відносно контролю; p₂ - ступінь достовірності різниць показників відносно таких у тварин першої групи; p₃ - ступінь достовірності різниць показників відносно таких у тварин другої групи.

раза, за рахунок зростання НФА в 1,7 раза, ФФА - в 1,8 раза. Відносно показників першої групи сумарна фібринолітична активність знижувалася в 1,9 раза, за рахунок пригнічення ферментативного фібринолізу в 1,8 раза, неферментативного - в 1,9 раза. У порівнянні з показниками другої гру-

пи, сумарний лізис фібрину третьої групи знижувався в 2,1 раза, за рахунок зниження як ензиматичного, так і неензиматичного лізису фібрину в 2,1 раза.

У печінці, сумарний лізис фібрину третьої групи тварин підвищувався відносно контролю на

26%, за рахунок зростання показників неферментативного фібринолізу в 1,6 раза (табл. 2). Відносно показників першої групи, сумарна фібринолітична активність третьої групи знижувалася в 1,9 раза, за рахунок пригнічення показників неферментативної фібринолітичної активності у 2,3 раза. Відносно показників другої групи зниження інтенсивності сумарного фібринолізу у 2,9 раза, відмічали за рахунок зниження ферментативної фібринолітичної активності в 3,8 раза, неферментативної - в 2,4 раза.

У тканині легень третьої групи тварин спостерігалось зростання сумарного лізису фібрину відносно контрольної групи в 1,4 раза за рахунок підвищення неензиматичного та ензиматичного лізису фібрину в 1,3 раза. Відносно показників першої групи, сумарна фібринолітична активність третьої, підвищувалась у 2,8 раза, за зростанням неферментативного фібринолізу в 2,6 раза, ферментативного - у 2,9 раза. Стосовно показників другої групи сумарний лізис фібрину знижувався в 3,2 раза, за рахунок зниження ензиматичного та неензиматичного лізису фібрину в 3,2 раза.

Отримані нами результати свідчать про пригнічення показників фібринолітичної активності в тканинах серця та печінки, натомість активація процесів фібринолізу в легенях і плазмі крові тварин третьої, досліджуваної групи, що на нашу думку зумовлено комбінованим впливом гормонів епіфіза та щитоподібної залози (мелатонін, L-тироксин) та різною фазою біоритму зазначених органів або різною їх тропністю до мелатоніну. Не виключно, що активація фібринолізу в плазмі крові та тканині легень, при тироксиновій інтоксикації, є наслідком підвищення активності калікреїну.

Висновки

За умов уведення L-тироксину енуклеюванням тваринам встановлено:

1. У плазмі крові пригнічення лізису високо- та низькомолекулярних білків та активація лізису азоколу, що супроводжується тотальним зростанням показників фібринолізу. Зниження показників фібринолітичної активності в усіх досліджуваних органах у порівнянні з відповідними показниками гіпертиреодних тварин.

2. Зниження сумарної фібринолітичної активності в тканинах серця та печінки відносно показників першої групи (осліплених щурів) та зростання їх у тканині легень і плазмі крові.

3. Підвищення всіх показників фібринолітичної активності в порівнянні з показниками контрольної групи тварин.

Перспективи подальших досліджень

Отримані результати свідчать про доцільність продовження дослідження у вибраному нами науковому напрямку.

Література. 1. Акбашева О. Е. Ингибиторы протеиназ в регуляции плазменного и внутриклеточного протеолиза: автореферат дис. ... доктора медицинских наук: Томск, 2011. - 42 с. 2. Анохина С.И. Роль шишкоподобного тела у регуляции гемостаза при гипо- та гипертиреодных станах: Автореф. дис. ... к. мед. наук: 14.03.04 / С.И. Анохина. - Тернопіль, 2004. - 21 с. 3. Арушанян Э. Б. Мелатонин как лечебное средство: состояние вопроса сегодня и грядущие перспективы / Э. Б. Арушанян // Экспериментальная и клиническая фармакология. - 2014г. т.77, N 6. - 151.15, p. - С.39-44. 4. Арушанян Э.Б. Мелатонин как универсальный модулятор любых патологических процессов Э.Б. / Арушанян, Е.В.Щетинин // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. - 2016. - N 1. - С.79-88. 5. Бондаренко Л. А. Влияние курсового введения мелатонина на гормональную активность гипоталамо-тиреоидной системы у старых крыс с возрастным гипотиреозом / Л. А. Бондаренко, А. Р. Геворкян // Буковинский медицинский вестник. - 2009. - Т. 13, № 4. - С. 38-40. 6. Бондаренко Л. А. Возрастные особенности суточных колебаний гормональной активности гипоталамо-тиреоидной системы у крыс / Л. А. Бондаренко, А. Р. Геворкян // Пробл. эндокрин. Патол. - 2009. - № 1. - С. 52-57. 7. Губина-Вакулик Г. И. Суточные особенности морфофункциональных изменений щитовидной железы у молодых половозрелых и старых крыс / Г. И. Губина-Вакулик, Л. А. Бондаренко, А. Р. Геворкян // Пробл. эндокрин. патол. - 2009, № 3. - С. 55-59. 8. 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 / О.Л. Кухарчук. - Одеса, 1996. - 37 с. 9. Кучук О.П. Патогенетичні особливості запального процесу при проникних пораненнях заднього сегмента ока і профілактика післятравматичних ускладнень: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук: спец. 14.03.04 - "Патологічна фізіологія" / О.П.Кучук. - Тернопіль, 2001. - 17 с. 10. Мелатонин в комплексном лечении сердечно-сосудистыми заболеваниями / Р.М. Заславская, А.Н. Шарикова, Г.В. Лилица, Э.А.Щербань. - М.: ИД МЕДПРАКТИКА-М, 2005. - 192 с. 11. Перепелюк М.Д. Кислотовидільна функція нирок при експериментальному гіпертиреозі: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук: спец. 14.03.04 - "Патологічна фізіологія" / М.Д. Перепелюк. - Львів. - 38 с. 12. Lewinski A. Melatonin and the thyroid gland / A. Lewinski, M. Karbownik // Neuroendocrin. Lett. - 2002- Vol. 48, № 1. - P. 73-78. 13. Ostrowska Z. Circadian rhythm of melatonin in patients with hypertension / Z. Ostrowska, B. Kos-Kudla, B. Marek [et al.] // Pol. Merkur. Lekarski. - 2004. - vol.17, №97. - P.50-54.

ХАРАКТЕРИСТИКА ИЗМЕНЕНИЙ ФИБРИНО- И ПРОТЕОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ПЛАЗМЫ КРОВИ И ТКАНЕЙ ВНУТРЕННИХ ОРГАНОВ У ГИПЕРТИРЕОИДНЫХ ОСЛЕПЛЕННЫХ КРЫС

С.И.Анохина

Резюме. В экспериментах на гипертиреодных, ослепленных (энуклеированных) нелинейных самцах белых крыс были установлены изменения: в плазме крови - угнетение лизиса высоко- и низкомолекулярных белков, активация лизиса азокола, что сопровождалось тотальным ростом показателей фибринолиза. В тканях сердца и печени, угнетение показателей фибринолитической активности, а также интенсификация лизиса фибрина в легочной ткани.

Ключевые слова: энуклеация, гипертиреоз, плазменный фибринолиз, фибринолитическая активность тканей, протеолиз.

THE CHARACTERISTIC OF CHANGES OF THE FIBRINOLYTIC AND PROTEOLYTIC ACTIVITY OF THE BLOOD PLASMA AND TISSUES OF THE

**INTERNAL ORGANS OF THE HYPERTHYROID
BLINDED BY RATS**

S.I. Anokhina

Abstract. In experiments on in hyperthyroid, the blinded nonlinear males of albino rats were set changes: in the blood plasma - inhibition of lysis of high- and low molecular weight proteins, activation lysis azokola, which was accompanied the growth of total indicators of fibrinolysis. In the tissues heart and liver of, inhibition of the fibrinolytic activity indicators and in-

tensification of lysis fibrin in the lung tissue.

Key words: enucleation, hyperthyroid, plasma fibrinolysis, fibrinolytic activity of tissues, proteolysis.

**Higher State Educational Establishment of Ukraine
"Bukovinian State Medical University", Chernivtsi**

Clin. and experim. pathol.- 2016.- Vol.15, №3 (57).-P.07-11.

Надійшла до редакції 10.08.2016

Рецензент – проф. І.І. Заморський

© С.І. Анохіна, 2016