

**В.П. Польовий**

Буковинський державний медичний  
університет, м. Чернівці

## ХАРАКТЕРИСТИКА ОСОБЛИВОСТЕЙ ДИНАМІКИ ЗМІН ФІБРИНОЛІТИЧНОЇ АКТИВНОСТІ ПЛАЗМИ КРОВІ В СТАРИХ ЩУРІВ ІЗ ПОРАНЕННЯМ СЕЛЕЗІНКИ

---

**Ключові слова:** селезінка, поранення, кровотеча, плазма, фібриноліз.

**Резюме.** Експериментально встановлено, що в статевозрілих щурів у відповідь на зміни гемокоагуляції після поранення селезінки швидко зростає інтенсивність плазмового неферментативного фібринолізу, яка через 45 хв знижується й досягає контрольного рівня. Саме в цей період підвищується ферментативна фібринолітична активність плазми крові. На 60-у хв показники сумарного, ферментативного і неферментативного фібринолізу відповідають вихідному рівню. У старих тварин (віком 20-22 міс.) із пораненням селезінки сумарна фібринолітична активність плазми крові залишається підвищеною впродовж всього одногодинного періоду спостереження внаслідок збільшення інтенсивності як ензиматичного, так і неензиматичного лізису фібрину. Із віком у структурі сумарної фібринолітичної активності плазми крові суттєво зростає частка неферментативного фібринолізу, що зберігається в старих щурів і після поранення селезінки — включно до 60-ї хв спостереження.

---

### **Вступ**

Сучасні досягнення коагулології відкривають принципово нові можливості для вивчення вікового розвитку, в тому числі й фізіологічного старіння організму людини. Встановле-

но, що гемокоагуляція є фізіологічним процесом, але під впливом різних патологічних чинників згортання крові може перетворитися на патофізіологічний механізм і спричинити розвиток структурних ушкоджень ще до органно-

© В.П. Польовий, 2005

го рівня організації, що характеризується розвитком дегенеративно-дистрофічних змін тканин і органів – так звана коагуляційна дистрофія. Процеси регенерації, навпаки, спрямовані на відновлення структури і функцій ушкоджених органів. Обидва зазначені процеси функціонують як єдиний коагуляційно-регенеративний механізм. Деякі автори вважають, що фізіологічне старіння організму фактично є процесом цито-гісто-гемокоагуляції, який реалізується в умовах генетично детермінованого його підсилення та істотного переважання над механізмами регенерації, що має місце тільки в похилому і старечому віці. Переважання коагуляції спричиняє накопиченню структурних ушкоджень організму на різних рівнях його організації, що й проявляється у вигляді вікової коагуляційної дистрофії [6,7,8]. За таких умов важливого значення набуває стан фібринолітичної системи, особливо при ситуаціях, які призводять до активації механізмів згортання крові.

#### **Мета дослідження**

З'ясувати динаміку змін фібринолітичного потенціалу крові у старих щурів із пораненням селезінки.

#### **МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ**

У роботі використано 75 статевозрілих і 75 старих самців білих щурів з масою тіла 0,14-0,16 кг (статевозрілі тварини віком 4-6 міс.) та 0,49-0,55 кг (старі тварини віком 20-22 міс.).

Усі операційні втручання проводилися відповідно до основних вимог Ванкуверських конференцій (1979, 1994) про біомедичні експерименти щодо гуманного відношення до лабораторних тварин, в асептичних умовах, під уретановим наркозом (1000 мг на 1 кг маси тіла). Після виконання серединної лапаротомії моделювали стандартизоване поранення селезінки у статевозрілих і старих щурів за допомогою спеціального пристрою з нанесенням прицільної дозованої травми з двох зустрічних напрямків силою до 120 кг/см<sup>2</sup>. Як ударники використовували монолітні конструкції різної форми та площі, а також з центральною і зміщеною віссю коректора ударної хвилі [10]. У всіх випадках після поранення селезінки на розріз черевної порожнини накладали 5 швів, що запобігало тепловим втратам.

Дослідження змін параметрів плазмового фібринолізу виконувалося серійно (по 15 тварин у серії) – через 15, 30, 45 і 60 хв після поранення селезінки. Кров забирали з черевної

аорти силіконовим шприцом, стабілізуючи її 3,8% розчином цитрату натрію (1:9). Сумарну (СФА), неферментативну (НФА) і ферментативну (ФФА) фібринолітичну активність плазми крові визначали за допомогою азофібрину – реактив фірми “Simko Ltd.” (Україна). *Принцип методу:* при інкубації азофібрину зі стандартною кількістю плазміногену в присутності активаторів та інгібіторів фібринолізу, що містяться у плазмі крові, утворюється плазмін, активність якого оцінюється за ступенем забарвлення розчину в лужному середовищі в присутності  $\epsilon$ -амінокапронової кислоти (неферментативний фібриноліз) або без неї (сумарна фібринолітична активність). Різниця між ними відповідає інтенсивності ферментативного фібринолізу.

Визначення фібринолітичної активності плазми крові проводили за методикою [9]. Цитратну плазму крові (0,5 мл) змішували з 0,5 мл боратного буфера (рН 9.0). По 0,5 мл суміші вносили в 2 ряди пробірок із марками “СФА” (сумарна фібринолітична активність) і “НФА” (неферментативна фібринолітична активність). Пробірки “СФА” містили 1 мг азофібрину, 1 мг плазміногену (“Simko Ltd”, Україна) і 1 мл боратного буфера (рН 9.0). У пробірки “НФА”, крім того, додавали 5 мг  $\epsilon$ -амінокапронової кислоти, для пригнічення активності плазміну. У дублікати пробірок “РП” (розчин порівняння) замість плазми додавали 0,5 мл боратного буфера. Усі пробірки одночасно інкубували у водяному термостаті “ТПС-8” за температури 37°C впродовж 15 хв. За цей період відбувається розпад азофібрину і вивільнення азобарвника в інкубаційний розчин пропорційно фібринолітичній активності плазми крові. Після інкубації всі пробірки одночасно охолоджували до 5°C з метою припинення лізису азофібрину. У кожен пробірку додавали по 20 мкл 5 М розчину NaOH для створення лужного середовища. Потім вміст пробірок фільтрували через прошарок вати, що утримувався в шприцах. На спектрофотометрі “СФ-46” (Росія) при довжині хвилі 440 нм вимірювали оптичну щільність проб. Отримані екстинції перераховували в мкг азофібрину на 1 мл плазми крові за 1 год інкубації за формулою:

$$\text{СФА (НФА)} = (E_{440} \times 4 \times 1000 \times k) = \text{мкг/1 мл плазми за 1 год, де } k \text{ – коефіцієнт перерахунку.}$$

Статистичну обробку отриманих даних проводили методом варіаційного аналізу на РС IBM 586 з визначенням критерію Стьюдента за допомогою програми “BioStat” [1].

Динаміка змін плазмового фібринолізу в щурів із пораненням селезінки ( $\bar{x} \pm Sx$ )

Періоди спостереження	Статевозрілі щури n=15			Старі щури n=15		
	СФА, мкг азотфібрину/1 г тканини за 1 год	НФА, мкг азотфібрину/1 г тканини за 1 год	ФФА, мкг азотфібрину/1 г тканини за 1 год	СФА, мкг азотфібрину/1 г тканини за 1 год	НФА, мкг азотфібрину/1 г тканини за 1 год	ФФА, мкг азотфібрину/1 г тканини за 1 год
Контроль (вихідні показники)	6,46±0,28	0,61±0,05	5,85±0,26	6,11±0,33 p <sub>1</sub> >0,05	1,81±0,06 p <sub>1</sub> <0,001	4,30±0,33 p <sub>1</sub> <0,001
Через 15 хв після поранення	7,19±0,31 p>0,05	0,90±0,05 p<0,001	6,29±0,29 p>0,05	9,42±0,20 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001	2,42±0,15 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001	7,00±0,22 p<0,001 p <sub>1</sub> >0,05
Через 30 хв після поранення	7,41±0,25 p<0,05	0,84±0,05 p<0,02	6,57±0,25 p>0,05	8,99±0,47 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,02	2,63±0,32 p<0,05 p <sub>1</sub> <0,001	6,36±0,33 p<0,001 p <sub>1</sub> >0,5
Через 45 хв після поранення	7,31±0,29 p<0,05	0,67±0,05 p>0,05	6,64±0,28 p=0,05	8,89±0,54 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,05	2,63±0,23 p<0,02 p <sub>1</sub> <0,001	6,26±0,44 p<0,02 p <sub>1</sub> >0,05
Через 60 хв після поранення	6,62±0,47 p>0,5	0,59±0,06 p>0,5	6,03±0,44 p>0,5	9,01±0,39 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001	2,65±0,27 p<0,02 p <sub>1</sub> <0,001	6,36±0,30 p<0,001 p <sub>1</sub> >0,05

**Примітка.** СФА – сумарна фібринолітична активність; НФА – неферментативна фібринолітична активність; ФФА – ферментативна фібринолітична активність; p – ступінь вірогідності різниць показників відносно вихідного рівня; p<sub>1</sub> – ступінь вірогідності різниць показників у статевозрілих і старих щурів у відповідні періоди спостереження; n – число спостережень.

### Обговорення результатів дослідження

Динаміка змін плазмового фібринолізу у статевозрілих і старих щурів після стандартизованого поранення селезінки наведена у таблиці. Сумарна фібринолітична активність плазми крові в статевозрілих щурів через 15 хв після моделювання травми селезінки не змінювалася. Через 30 і 45 хв СФА зростала і перевищувала контроль відповідно на 14,7 і 13,2%, нормалізуючись на 60-у хв спостереження. У старих щурів СФА вже через 15 хв після поранення селезінки зростала відносно вихідного рівня на 54,2% і залишалася високою впродовж всього періоду спостереження, перевищуючи контрольні показники на 47,1, 45,5 і 47,5% відповідно на 30-у, 45-у і 60-у хв досліджу. Порівняльний аналіз не виявив вірогідної різниці між вихідним рівнем СФА в статевозрілих і старих щурів. Однак після поранення селезінки СФА в усі періоди спостереження була вищою в старих тварин: через 15 хв – на 31,0%, через 30 хв – на 21,3%, через 45 хв – на 21,6%, через 60 хв – на 36,1%.

Неферментативна фібринолітична активність плазми крові в статевозрілих щурів через 15 хв після поранення селезінки зростала на 47,5%, через 30 хв – на 37,7%. Надалі інтенсивність неферментативного плазмового фібринолізу знижувалась і відповідала контрольним показникам. У старих щурів НФА підвищувалася на 33,7% через 15 хв після поранення селезінки і залишалася високою впродовж всього періоду спостереження, перевищуючи контроль через 30 і 45 хв на 45,3%, через 60 хв – на 46,4%. Варто зазначити, що вихідний рівень НФА в старих тварин виявився втричі біль-

шим, ніж у статевозрілих щурів. Через 15 хв після поранення селезінки інтенсивність неферментативного плазмового фібринолізу в старих тварин була вищою, ніж у статевозрілих щурів, у 2,7 раза, через 30 хв – у 3,1 раза, через 45 хв – у 3,9 раза, через 60 хв – у 4,5 раза.

Ферментативна фібринолітична активність плазми крові в статевозрілих щурів вірогідно перевищувала контроль лише через 45 хв після поранення селезінки (на 13,5%), тоді як у старих тварин інтенсивність ензиматичного лізису фібрину зростала на 62,8% вже через 15 хв і залишалася підвищеною протягом всього експериментального періоду: через 30 хв – на 47,9%, через 45 хв – на 45,6%, через 60 хв – на 47,9%. При цьому вихідний рівень ФФА у старих щурів був на 26,5% меншим за такий у статевозрілих тварин. Саме тому в наступні періоди дослідження вірогідної міжгрупової різниці в інтенсивності ферментативного фібринолізу не виявлялось.

Структура, тобто відсоток інтенсивності неферментативного і ферментативного фібринолізу в сумарній фібринолітичній активності статевозрілих і старих впродовж експерименту не змінювався. У структурі СФА старих тварин переважала частка низькоефективного неферментативного фібринолізу, тоді як у статевозрілих щурів явно переважав ензиматичний лізис фібрину (рис. 1).

Старіння закономірно викликає специфічні кількісні та якісні зміни в цілісному організмі на всіх його рівнях – системному, органному, клітинному, молекулярному [5, 11, 12]. У похилому віці відбувається прогресивне підвищення рівня прокоагулянтів, особливо фібри-

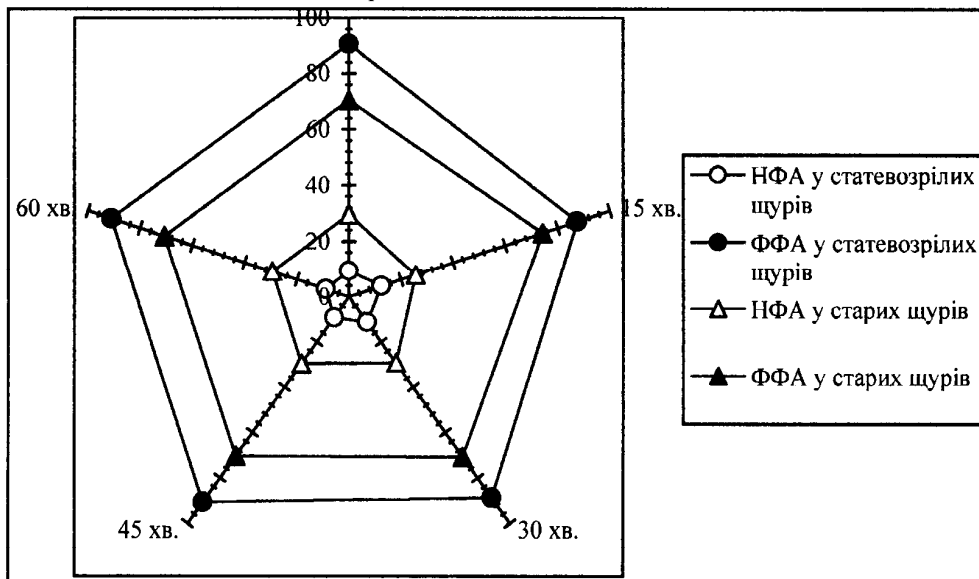


Рис. 1 Порівняльна характеристика динаміки змін структури плазмового фібринолізу у статевозрілих і старих щурів з пораненням селезінки (% від сумарної фібринолітичної активності).

Примітка. НФА – неферментативна фібринолітична активність, ФФА – ферментативна фібринолітична активність.

ногену і розчинних комплексів мономерного фібрину, що може досягти таких концентрацій, коли створюється сприятлива ситуація для швидкого утворення нерозчинного стабілізованого фібрину [13]. Надлишок ІІ фактору викликає постійне підсилення активності фібринолітичної ланки системи гемостазу, тобто в нормі при старінні у відповідь на повільне згортання крові, головним чином, при формуванні структурної гіперкоагуляції (збільшення в крові рівня субстратів – фібриногену і розчинного фібрину) розвивається компенсаторна гіперфункція системи ферментативного фібринолізу. Тому при фізіологічному старінні тромбози спостерігаються рідко [4]. Проте зазначена готовність системи фібринолізу до швидкої активації створює серйозну загрозу для життя пацієнтів похилого і старечого віку, які мають кровотечі будь-якого генезу [2], а особливо – абдомінальні [3]. Результати нашого дослідження свідчать про надмірну активацію плазмового фібринолізу в старих тварин із ураненням селезінки, що не тільки сприяє подовженню кровотечі, але й створює перешкоди для репаративної регенерації, яка в зоні ушкодження реалізується через фіксацію фібробластів на фібриновому шарі. Окрім того, збільшення інтенсивності низькоєфективного неензиматичного лізису фібрину загрожує відривом тромбу з емболізацією магістральних судин.

## Висновки

1. У статевозрілих щурів у відповідь на зміни гемокоагуляції після поранення селезінки швидко зростає інтенсивність плазмового неферментативного фібринолізу, яка через 45 хв знижується і досягає контрольного рівня. Саме в цей період підвищується ферментативна фібринолітична активність плазми крові. На 60-у хв показники сумарного, ферментативного і неферментативного фібринолізу відповідають вихідному рівню.

2. У старих тварин з пораненням селезінки сумарна фібринолітична активність плазми крові залишається підвищеною впродовж всього одноденного періоду спостереження внаслідок збільшення інтенсивності як ензиматичного, так і неензиматичного лізису фібрину.

3. З віком у структурі сумарної фібринолітичної активності плазми крові суттєво зростає частка неферментативного фібринолізу, що зберігається у старих щурів і після поранення селезінки – включно до 60-ї хв спостереження.

## Перспективи подальших досліджень

Вибраний в роботі напрямок дає можливість проводити клінічні дослідження потерпілих з травмою селезінки, особливо літнього та старечого віку, з метою адекватного вибору як оперативної тактики, так і ведення післяопераційного періоду.

**Література.** 1. Гланц С. Медико-біологічна статистика. — М.: Практика, 1999. — 459 с. 2. Гребенюк Ю.А., Ютовець Ю.Г. Результаты лечения пострадавших пожилого и старческого возраста с множественными и сочетанными повреждениями длинных костей конечностей // Ортопедия, травматология и протезирование. — 2001. — № 3. — С.77-78. 3. Ефименко Н.А., Лысенко М.В., Асташов В.Л. Кровотечение из хронических гастродуоденальных язв: современные взгляды и перспективы лечения // Хирургия. — 2004. — № 3. — С.56-60. 4. Коркушко О.В., Коваленко А.Н. Система свертывания крови при старении. — К.: Здоров'я, 1988. — 216 с. 5. Лішневська В.Ю. Реологічні властивості крові в осіб похилого віку, хворих на ІХС // Бук. мед. вісник. — 2002. — Т. 6, № 4. — С.93-96. 6. Монастирський В.А. Біологічна коагулологія (цитогісто-гемокоагулологія) // Пробл. екології та медицини. — 2000. — № 1. — С.51-55. 7. Монастирський В.А. Коагулологічні аспекти патогенезу загальнопатологічних процесів // Акад. мед. наук України. — 2002. — Т. 8, № 2. — С.238-258. 8. Монастирський В.А. Коагуляційно-гіпотрофічна теорія фізіологічного старіння як складова коагуляційно-регенеративної теорії вікового розвитку організму // Пробл. старення і довголіття. — 2004. — Т. 13, № 1. — С.89-106. 9. Патент України на винахід № 30727 А. Спосіб визначення тканинної фібринолітичної активності / Б.М. Боднар, О.Л. Кухарчук, В.М. Магалаєс. - Бюл. № 8. — 1999; Бюл. № 7-ІІ. — 2000. 10. Пікенин А.М., Горонов В.Г., Григорьян Г.О., Молчанов А.И. Принципы моделирования травматических повреждений внутренних органов в экспериментальной хирургии //Клин. хирургия. — 1990. - №4. — С. 25-26. 11. Рибера-Касадо Дж. М. Старение и сердечно-сосудистая система // Клин. геронтол. — 2000. — № 11-12. — С.28-36. 12. Чеснокова И.Г. Иммунологические и гемостазиологические нарушения при травматической болезни у пожилых больных // Клин. геронтол. — 2000. — № 7-8. — С.19-22. 13. Sushko H.A., Platonova T.N., Lukinova N.I. Fibrinogen in chronic DIC patients with essential hypertension of different ages // Blood coagulation and fibrinolysis. — 1994. — Vol. 5 (Suppl. 2). — P.24.

#### ХАРАКТЕРИСТИКА ОСОБЕННОСТЕЙ ДИНАМИКИ ИЗМЕНЕНИЙ ФИБРИНОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ПЛАЗМЫ КРОВИ У СТАРЫХ КРЫС С РАНЕНИЕМ СЕЛЕЗЕНКИ

*В.П. Полевой*

**Резюме.** Экспериментально установлено, что у половозрелых крыс в ответ на изменение гемокоагуляции после ранения селезенки быстро возрастает интенсивность плазменного неферментативного фибринолиза, которая

через 45 мин. снижается и достигает контрольных величин. Именно в этот период повышается ферментативная фибринолитическая активность плазмы крови. На 60-ю мин. показатели суммарного, ферментативного и неферментативного фибринолиза соответствуют исходному уровню. У старых животных с ранением селезенки суммарная фибринолитическая активность плазмы крови остается повышенной на протяжении всего одночасового периода наблюдения вследствие увеличения интенсивности как энзиматического, так и неэнзиматического лизиса фибрина. С возрастом в структуре суммарной фибринолитической активности плазмы крови существенно возрастает доля неферментативного фибринолиза, что сохраняется у старых крыс и после ранения селезенки — до 60-й мин. наблюдения включительно.

**Ключевые слова:** селезенка, ранение, кровотечение, плазма, фибринолиз.

#### CHARACTERISTIC OF THE PECULIARITIES OF THE DYNAMIC CHANGES OF THE BLOOD PLASMA FIBRINOLYTIC ACTIVITY IN OLD RATS WITH SPLENIC INJURY

*V.P. Poliov*

**Abstract.** It has been established in an experiment that in response to a hemocoagulation change after splenic injury in mature rats the intensity of plasma non-enzymatic fibrinolysis increases rapidly, which lowers in 45 minutes and reaches the control level. The blood plasma enzymatic fibrinolytic activity increases exactly during this period. The parameters of total, enzymatic and non-enzymatic fibrinolysis correspond to the initial level at the 60 th minute. The total blood plasma fibrinolytic activity remains increased in old animals with splenic injury during the whole one-hour period of observation due to the intensity increase both non-enzymatic and non-enzymatic fibrinolysis. The share of non-enzymatic fibrinolysis increases significantly with the age in the structure of the total blood plasma activity that is preserved in oldrats even after splenic injury till the 60 th minute of observation inclusively.

**Key words:** spleen, injury, bleeding, plasma, fibrinolysis.

**Bukovinian State Medical University (Chernivtsi)**

*Clin. and experim. pathol. — 2005. — Vol.4, №2. — P.77–81.*

*Надійшла до редакції 11.05.2005*