



В.П. Польовий

**СТАН ФІБРИНОЛІТИЧНОГО ПОТЕНЦІАЛУ КРОВІ СТАРИХ ЩУРІВ
ПІСЛЯ ПОРАНЕННЯ СЕЛЕЗІНКИ**

Буковинський державний медичний університет, Чернівці

Ключові слова: фібринолітичний потенціал, кровотеча, гемостаз, вік

Відомо, що селезінка відіграє центральну роль у багатьох імунологічних реакціях. Тому після спленектомії різко зростає небезпека септичних ускладнень [12]. У тяжких випадках розвивається так звана "неподолана післяспленектомічна інфекція" (overwhelming postsplenectomy infection), яка призводить до загибелі хворого [9,10].

За даними О.В. Кузнецової [3], спленектомія викликає різке підвищення концентрацій в сироватці крові інтерлейкіну-1b (IL-1b) і фактору некрозу пухлин а (TNF-a), а в тканинах серця, легень, печінки, і тонкої кишки значно зростає інтенсивність фібринолізу і протеолізу [4]. Водночас введення ендотоксину спленектомованим щурам призводить до суттєвого зниження вмісту в крові прозапальних цитокінів - IL-1b і TNF-a. Крім того, після спленектомії у щурів відбувається пригнічення активності фагоцитувальних клітин крові та зменшення інтенсивності генерації активних форм кисню поліморфноядерними нейтрофілами і моноцитами. Введення ендотоксину в черевну порожнину спленектомованих тварин призводить до зниження неферментативного і ферментативного фібринолізу, лізису низько- та високомолекулярних білків у тканинах серця, легень, печінки, наднирників і тонкої кишки. Отже, спленектомія сприяє зниженню як специфічної імунної відповіді, так і неспецифічної резистентності організму [5].

Тому у клініці останнім часом більшість хірургів застосовують операційні втручання, спрямовані на збереження травмованої селезінки. Водночас суттєво зростає ризик розвитку післяопераційних ускладнень, обумовлених порушеннями регуляції агрегатного стану крові, особливо у пацієнтів літнього і старечого віку. Нерідко такі ускладнення пов'язані не стільки зі зрушеннями у системі гемостазу, скільки з порушенням фібринолітичної системи крові, механізми якого остаточно не з'ясовані.

Мета роботи – дослідити зміни фібринолітичного потенціалу крові у старих щурів після поранення селезінки
МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

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 проводились 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 верхньосередньої лапаротомії моделювали стандартизоване поранення печінки у статевозрілих і старих щурів за допомогою спеціального пристрою з нанесенням прицільної дозованої травми з двох зустрічних

напрямків силою до 120 кг/см². В якості ударників використовували монолітні конструкції різної форми та площі, а також з центральною і зміщеною віссю коректора ударної хвилі [8]. На розріз черевної стінки накладали 5 швів, що запобігало тепловим втратам. Дослідження змін параметрів плазмової фібринолітичної системи 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 натрію цитрату (1:9). Хагеман-залежний фібриноліз (ХЗФ), потенційну активність плазміногену (ПАП), активність антиплазмінів (АП) і концентрацію розчинних комплексів фібрин-мономеру (РКФМ) у крові досліджували за допомогою наборів реактивів фірми "Simko Ltd." (Україна) за стандартизованими методиками.

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

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Результати дослідження динаміки змін фібринолітичного потенціалу крові у статевозрілих і старих щурів наведені у таблиці 1. У статевозрілих щурів потенційна активність плазміногену через 15 і 30 хв. після поранення селезінки не змінювалась. Через 45 і 60 хв. спостерігалось підвищення ПАП відповідно на 25,6 і 31,0%. У старих тварин ПАП зростала на 18,5% вже через 15 хв., проте через 30 хв. не відрізнялася від вихідного рівня. Надалі відбувалося зменшення ПАП, яка через 45 і 60 хв. виявлялася меншою за контроль відповідно на 18,5 і 24,9%. Вихідний рівень ПАП у старих щурів відповідав такому у статевозрілих тварин. Через 15 хв. після поранення селезінки ПАП була на 13,5% вищою у старих щурів, однак в інші періоди експерименту ПАП виявилась значно меншою за таку у статевозрілих тварин: через 30 хв. – на 28,8%, через 45 хв. – на 69,1%, через 60 хв. – на 92,4%.

У статевозрілих щурів після поранення селезінки наставала швидка активація Хагеман-залежного фібринолізу, який через 15 хв. перевищував вихідний рівень на 14,4%, через 30 хв. – на 28,9%, через 45 хв. – на 33,0%. На 60-у хв. досліді інтенсивність ХЗФ відповідала вихідному рівню. У старих тварин після поранення селезінки ХЗФ через 15 хв. зростав на 43,9%, через 30 хв. перевищував контроль на 30,9%, через 45 хв. не відрізнявся від такого, а через 60 хв. різко зменшувався і був на 71,9% нижчим за вихідний рівень. Останній у старих щурів був на 26,8% вищим, ніж у статевозрілих тварин. На 15-у хв. експерименту інтенсивність ХЗФ також була значно більшою у старих щурів – у 2,1 рази, а на 30-у хв. – перевищувала таку у статевоз-

Таблиця 1

Динаміка змін фібринолітичного потенціалу крові у щурів з пораненням селезінки ($x \pm Sx$)

Періоди спостереження	Статевозрілі щури n=15				Старі щури n=15			
	ПАП, хв.	ХЗФ, хв.	АП, %	РКФМ, мкг/мл	ПАП, хв.	ХЗФ, хв.	АП, %	РКФМ, мкг/мл
Контроль (вихідні показники)	15,25±0,79	14,06±0,69	85,51±2,49	не визначаються	16,20±0,67 $p_1 > 0,05$	10,29±0,66 $p_1 < 0,001$	90,58±2,06 $p_1 > 0,05$	0,37±0,04
Через 15 хв. після поранення	15,27±0,67 $p > 0,5$	12,04±0,41 $p < 0,05$	104,90±5,06 $p < 0,02$	не визначаються	13,21±0,70 $p < 0,02$ $p_1 < 0,05$	5,77±0,33 $p < 0,001$ $p_1 < 0,001$	117,60±3,45 $p < 0,001$ $p_1 < 0,02$	1,21±0,09 $p < 0,001$
Через 30 хв. після поранення	13,46±0,62 $p > 0,05$	9,99±0,49 $p < 0,001$	119,30±2,42 $p < 0,001$	0,46±0,05	17,33±0,74 $p > 0,05$ $p_1 < 0,001$	7,11±0,62 $p < 0,02$ $p_1 < 0,02$	123,60±4,14 $p < 0,001$ $p_1 > 0,05$	3,62±0,21 $p < 0,001$ $p_1 < 0,001$
Через 45 хв. після поранення	11,35±0,69 $p < 0,001$	9,42±0,65 $p < 0,001$	112,90±3,53 $p < 0,001$	0,44±0,04	19,19±1,17 $p < 0,05$ $p_1 < 0,001$	10,66±0,84 $p > 0,5$ $p_1 > 0,5$	99,57±4,09 $p > 0,05$ $p_1 < 0,05$	7,50±0,81 $p < 0,001$ $p_1 < 0,001$
Через 60 хв. після поранення	10,52±0,71 $p < 0,001$	13,07±0,55 $p > 0,05$	100,40±3,81 $p < 0,02$	не визначаються	20,24±1,29 $p < 0,02$ $p_1 < 0,001$	17,69±0,94 $p < 0,001$ $p_1 < 0,001$	91,10±3,43 $p > 0,5$ $p_1 > 0,05$	9,46±0,80 $p < 0,001$

ПАП - потенційна активність плазміногену; ХЗФ - Хагеман-залежний фібриноліз; АП - антиплазміни;
РКФМ - розчинні комплекси фібрин-мономеру;
p - ступінь достовірності різниць показників відносно вихідного рівня;
 p_1 - ступінь достовірності різниць показників у статевозрілих і старих щурів у відповідні періоди спостереження;
n - число спостережень.

рілих тварин на 28,8%. На 45 хв. вірогідної міжгрупової різниці не виявлялось, а наприкінці спостереження ХЗФ у старих тварин був на 35,3% меншим за такий статевозрілих щурів.

У відповідь на активацію фібринолізу у статевозрілих щурів з пораненням селезінки зростала активність загальних антиплазмінів, яка перевищувала контроль впродовж всього експериментального періоду: через 15 хв. – на 19,4%, через 30 хв. – на 33,8%, через 45 хв. – на 27,4%, через 60 хв. – на 14,9%. У старих тварин активність загальних антиплазмінів після поранення селезінки через 15 хв. збільшувалась на 27,0%, через 30 хв. – на 33,0%, однак надалі зменшувалась і не відрізнялася від вихідного рівня. Порівняльний аналіз не виявив достовірної різниці у вихідному рівні активності загальних антиплазмінів у статевозрілих і старих щурів. В останніх активність антиплазмінів через 15 хв. після поранення селезінки була на 12,7% більшою, а через 45 хв., навпаки, на 13,3% меншою, ніж у статевозрілих тварин. В інші періоди досліду вірогідної міжгрупової різниці не виявлялося.

Інтегральну оцінку взаємодії про- і протифібринолітичних систем крові дозволяє провести аналіз вмісту в плазмі розчинних комплексів фібрин-мономеру (РКФМ). У статевозрілих тварин з пораненням селезінки РКФМ у крові в незначних концентраціях з'являлися тільки на 30-у і 45-у хв. досліду. Водночас у старих щурів РКФМ були присутні навіть у передопераційному періоді, а після поранення селезінки їх вміст у плазмі крові прогресивно

зростав, перевищуючи контрольні показники через 15 хв. у 3,3 рази, через 30 хв. – в 9,8 рази, через 45 хв. – у 20,3 рази, через 60 хв. – у 25,6 рази.

Відомо, що з віком відбувається прогресуюче підвищення прокоагулянтів та особливо фібриногену. Причому, вміст у крові розчинних комплексів мономерного фібрину із фібриногеном може досягати таких концентрацій, коли утворюється сприятлива ситуація для утворення нерозчинного стабілізованого фібрину [2]. Надлишок субстрату викликає стає підвищення активності фібринолітичної ланки системи гемостазу, що, в свою чергу, призводить до поступового виснаження її резервних можливостей. В умовах функціональних навантажень, стресових впливів це проявляє себе послабленням сили фібринолітичної реакції. Таким чином, в екстремальних умовах порушується синергізм взаємодії між основними процесами гемостазу – коагуляцією і фібринолізом. Виникаюча тимчасово дисоціація цих процесів створює у кровотоку схильність до тромбоутворення, яка за наявності циркуляторних, гемореологічних або судинних порушень може призвести до тромбозу. Після 50 років у людини збільшується вміст у крові факторів VIII, VII, V і активність фактору XIII. У літніх і старих людей виявлено підвищення адгезивних і агрегаційних властивостей тромбоцитів при відсутності значних змін їх кількісного складу, але за збільшення старих і дегенеративних форм [2,6,7]. Тромбоеластографічні дослідження підтверджують результати коагулометричних тестів



(збільшення концентрації фібриногену, активності фібринази), що доводить наявність гіперкоагуляції структурного типу навіть при фізіологічному старінні. Водночас у нормі при старінні у відповідь на структурну гіперкоагуляцію (збільшення в крові рівня субстратів – фібриногену і розчинного фібрину) розвивається компенсаторна гіперфункція системи ферментативного фібринолізу. Система гемостазу переходить на якісно новий рівень функціонування, який є менш економічним, оскільки активація механізму внутрішньосистемної компенсації – фактор, що обмежує адаптаційні можливості фізіологічної системи [2]. При фізіологічному старінні тромбози спостерігаються відносно рідко. Тільки у тих випадках, коли виникають надзвичайні для організму людей старших вікових груп обставини (наприклад, травма, операційні втручання, зв'язані з надходженням у кровотік тканинного тромбoplastину і надлишковим тромбіно- і фібриногенезом) [2,11], відбувається зрив внутрішньосистемних компенсаторно-приспосувальних механізмів, що необхідно враховувати в клініці при травмах селезінки у пацієнтів літнього і старечого віку.

ВИСНОВКИ

1. Потенційна активність плазміногену у статевозрілих тварин через 45 і 60 хв. після поранення селезінки збільшується, тоді як у старих шурів у зазначені періоди, навпаки, відбувається її зменшення.

2. Хагеман-залежний фібриноліз у статевозрілих шурів після поранення селезінки зростає з 15-ї по 45-у хв. досліді і нормалізується на 60-у хв. спостереження. У старих тварин інтенсивність Хагеман-залежного фібринолізу різко зростає через 15 і 30 хв. після поранення селезінки і значно знижується на 60-у хв. досліді.

3. У статевозрілих шурів з пораненням селезінки активність загальних антиплазмінів у відповідь на активацію плазмового фібринолізу швидко підвищується, що триває впродовж всього одногодинного періоду спостережень. Така рівновага про- і протифібринолітичних систем крові запобігає надмірному фібринолізу, про що свідчить відсутність у плазмі крові розчинних комплексів фібрин-мономеру на 15-у і 60-у хв. досліді при появі лише їх незначної кількості через 30 і 45 хв. після поранення селезінки. У старих шурів активність загальних антиплазмінів підвищується тільки через 15 і 30 хв. після травмування селезінки і знижується на 45-у і 60-у хв. експерименту. Про порушення балансу між профібринолітичними і антифібринолітичними системами у старих шурів свідчить швидке, значне, тривале і перманентне збільшення вмісту в крові розчинних комплексів фібрин-мономеру.

Перспективи подальших досліджень у даному напрямку. Започаткований в роботі напрямок дає можливість проводити клінічні дослідження потерпілих з пошкодженням селезінки, особливо літнього та старечого віку, що має значення як вибору оперативної тактики, так і ведення післяопераційного періоду.

ЛІТЕРАТУРА

1. Гланц С. Медико-биологическая статистика. - М.: Практика, 1999. - 459с.

2. Коркушко О.В., Коваленко А.Н. Система свертывания крови при старении. - К.: Здоров'я, 1988. - 216с.
3. Кузнецова О.В. Вплив спленектомії на вміст цитокінів і протеолітичну активність плазми крові у білих шурів // Праці 4-го міжнародного медичного конгресу студентів і молодих вчених. - Тернопіль, 2000. - С.275.
4. Кузнецова О.В. // Вісник наукових досліджень. - 2001. - № 1.-С.96-98.
5. Кузнецова О.В. // Бук. мед. вісник. - 2001. - Т. 5, № 3-4. - С.177-179.
6. Лишневская В.Ю. // Успехи геронтологии. - 2004. - Вып. 13.-С.29-30.
7. Монастирський В.А. // Пробл. старения и долголетия. - 2004.-Т.13, №1. -С.89-106.
8. Пикенин А.М., Горонов В.Г., Григорьян Г.О., Молчанов А.И. // Клини. хирургия. - 1990. - №4. - С.25-26.
9. Стручко Г.Ю. // Морфология. - 1998. - Т. 113, № 1. - С.105-108.
10. Стручко Г.Ю., Меркулова Л.М., Сергеева И.С. и др. // Иммунология. - 2000. - №2. - С.13-16.
11. Чесноков И.Г. // Клини. геронтология.-2000.- №7-8.- С.19-22.
12. Pabst R. // Clin. Exp. Immunol. -1999. - Vol.117, №3.- P.423-424.

Надійшла 25.05.2005р.

V.P. Poliiovij

CONDITION OF BLOOD IN OLD RATS AFTER SPLEEN INJURIES

Summary. The experiments conducted on white rats resulted in the increasing of the potential activity of plasminogen in mature animals after 45 and 60 minutes of spleen injury, while in the identical period of old rats, we can observe its decrease. Hagemman-dependant fibrinolysis in mature rats grows after the 15th to 45th minute of the experiment and normalizes on the 60th minute of the observation. In old animals the intensity of Hagemman-dependant fibrinolysis increases sharply 15 and 30 minutes after spleen injury and lowers considerably on the 60th minute of the experiment. Mature rats demonstrate quick increase of general antiplasmin activity that lasts during the whole one hour of observation. On the 15th and 60th minute of the experiment soluble complexes of fibrin-monomer are absent in blood plasma, their insignificant amount is detected only in 30 and 45 minutes after spleen injury. Old rats reveal general antiplasmin activity only in 15 and 30 minutes after spleen injury and it lowers in 45-60 minutes of the experiment which is accompanied by quick, considerable, long-term and permanent increase of soluble complexes of fibrin-monomer in blood.

Key words: fibrinolytic potencial, bleeding, hemostasis, age

Відомості про авторів:

Польовий В.П., к.мед.н., доцент кафедри хірургії, травматології, ортопедії та нейрохірургії Буковинського державного медичного університету.

Адреса для листування:

Польовий В.П.
58002, м. Чернівці, Театральна пл., 2, Буковинський державний медичний університет
Тел.: (0372)2 695-55