МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ДЕРЖАВНИЙ ВИЩИЙ НАВЧАЛЬНИЙ ЗАКЛАД
"ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
імені І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО"

Івасюк Леся Володимирівна

УДК: 612.017.1:616.34-008.87

ПАТОГЕНЕТИЧНІ ОСОБЛИВОСТІ СИСТЕМНОЇ І ЛОКАЛЬНОЇ ІНТРАОКУЛЯРНОЇ ДІЇ ЕНДОТОКСИНІВ ГРАМНЕГАТИВНОЇ І ГРАМПОЗИТИВНОЇ МІКРОФЛОРИ

14.03.04 – патологічна фізіологія

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата медичних наук

Тернопіль – 2010

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Буковинському державному медичному університеті МОЗ України.

Науковий керівник: член-кореспондент АПН України, доктор медичних наук, професор **Пішак Василь Павлович,** Буковинський державний медичний університет МОЗ України, професор кафедри медичної біології, генетики та гістології.

Офіційні опоненти:

доктор медичних наук, професор **Мисула Ігор Романович,** державний вищий навчальний заклад "Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського" МОЗ України, завідувач кафедри медичної реабілітації та спортивної медицини;

доктор медичних наук **Ульянов Вадим Олексійович,** Одеський державний медичний університет МОЗ України, завідувач кафедри гістології, цитології та ембріології.

Захист відбудеться 21 червня 2010 р. о 14 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 58.601.01 у державному вищому навчальному закладі "Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського" МОЗ України (46001, м. Тернопіль, майдан Волі, 1).

Із дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці державного вищого навчального закладу "Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського" МОЗ України (76018, м. Тернопіль, вул. Січових Стрільців, 8).

Автореферат розісланий 20 травня 2010 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради
доктор медичних наук, професор Я.Я. Боднар

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Відомо, що під впливом ендотоксинів розвивається клітинна інфільтрація тканин ока (Н.А.Ермакова, 2005), що призводить до увеїту (S.E.Temple et al., 2007) на тлі підвищення інтраокулярного вмісту ІЛ-1β, простагландину E_2 та лейкотрієну B_4 (Я.І. Пенішкевич, 2002). Простагландин E_2 стимулює продукцію ендотеліального фактора росту та фактора росту фібробластів (Z. Kassiri et al., 2009), що спричиняє інтраокулярний фіброз і може призвести до утворення шварт у склистому тілі з тракційним відшаруванням сітківки (К.С. Андріанова, 2008).

За внутрішньовітреального фіброзогенезу важливими є зміни інтраокулярних гемостатичних систем. У преретинальній мембрані людини виявлені білки системи згортання крові – фактор XIIIa і протеїн S, а в субретинальній рідині – плазмін. Вважається, що прокоагулянти, плазмін та його активатори, що виробляються клітинами пігментного епітелію, впливають на процеси фібробластної проліферації (A.F. Petit-Bertron et al., 2008).

Активація локального гемостазу у хворих із регматогенним відшаруванням сітківки сприяє проліферативній вітреоретинопатії, що підтверджується наявністю прямих кореляційних зв'язків між цими станами (Н.А. Ермакова, 2005). Дисбаланс між локальним фібриноутворенням і фібринолізом здатний призвести до тяжких порушень зору.

При травмі органа зору тяжкі ускладнення виникають після ушкодження заднього сегмента очного яблука, коли в запальний процес втягнуті склисте тіло та сітківка, що супроводжується фіброваскулярною проліферацією, спричиняє відшарування сітківки та втрату зору (М.Е. Тумкина, 2003). У фазу альтерації запальний процес характеризується некрозом і дегенеративними змінами тканин із вивільненням медіаторів запалення, які зумовлюють у подальшому фіброзні зміни ураженої зони ока (Я.І. Пенішкевич, 2002). Медіатори запалення стимулюють найбільш важливу ланку післятравматичних змін, а саме – міграцію у вогнище ушкодження сполучнотканинних і гліальних елементів. Друга фаза характеризується змінами реологічних властивостей крові, ексудацією плазми в оточуючі тканини, міграцією у вогнище ураження клітин мезенхіми, які на наступних етапах є основними клітинними елементами, що безпосередньо беруть участь у репаративних процесах. У третю фазу відбувається проліферація гліальних і сполучнотканинних клітин, синтез міжклітинної речовини, що призводить до фіброзного перетворення ушкоджених тканин (A.F. Petit-Bertron et al., 2008).

Збільшення проникності капілярів ока супроводжується геморагіями та плазморагіями. Наслідком перших є фіброз, а плазморагії зумовлюють дифузний та локальний ретинальний набряк (Р.М. Хаитов, 2006). Утворення грануляційної тканини поєднується з процесами організації крововиливів і призводить до утворення шварт, що є тяжким ускладненням післятравматичного запалення (Т.Ф. Субботина, 2006).

Надлишковий розвиток сполучної тканини в склистому тілі призводить не лише до порушення оптичної прозорості, але й у багатьох випадках спричиняє тракційне відшарування внутрішніх оболонок, рубцювання і, як наслідок, атрофію очного яблука. Гіперпроліферативні процеси з формуванням значних фіброзних шварт і травматичних кист спостерігаються у 68 % випадків проникаючих поранень ока (А.В. Савушкин, 2006). Причинами розвитку сполучної тканини є процеси організації запальних ексудатів з інтенсивним накопиченням колагену III типу в зоні ушкодження ока (J.R. Warders et. al., 2005).

Успіхи у вивченні біологічних ефектів ендотоксинів і патофізіології ендотоксинемії ознаменувалися відкриттям ролі цитокінів у реалізації ефектів ліпополісахаридів. З'ясовано, що ліпополісахариди впливають на фагоцитарну активність макрофагів (Л.М. Гринберг, 2007), мають пряму імуносупресивну дію (Ю.А. Витковский, 2006), є ключовими в патогенезі ендотоксинового шоку (Ф.Г. Кулачек та ін., 2004), який нерідко завершується поліорганною недостатністю, а також відіграють провідну роль у гемокоагуляційних порушеннях у пацієнтів з інфекціями (В.М. Бондаренко и др., 2002, Л.М. Гринберг, 2007).

Водночас, цілий ряд аспектів проблеми грампозитивної і грамнегативної ендотоксинемії залишається невирішеним. Перш за все, це питання, що пов'язані з визначенням ролі цитокінів в ендотоксин-індукованих порушеннях гемостазу, системного і локального (внутрішньоочного) протеолізу та фібринолізу, ліпопероксидації та неспецифічної реактивності.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертація є фрагментом комплексної наукової роботи Буковинського державного медичного університету "Дослідження порушень водно-електролітного обміну, закономірностей центральних стресіндукованих та ішемічних дисфункцій, паренхіматозно-стромального дисбалансу при ушкодженні внутрішніх органів за умов впливу екологічно несприятливих чинників з розробкою шляхів корекції виявлених патологічних змін" (номер державної реєстрації 0104U009029). Дисертант особисто дослідила зміни гемостазу, вмісту в тканинах ока і внутрішніх органів про- і протизапальних цитокінів, інтенсивність фібринолізу, протеолізу та ліпопероксидації при системному й локальному уведенні ендотоксинів грамнегативної і грампозитивної мікрофлори. Тема дисертації затверджена проблемною комісією МОЗ і АМН України "Патологічна фізіологія та імунологія" (протокол № 50 від 26 січня 2006 року).

Мета роботи. З'ясувати особливості порушень гемостазу, генерації про- і протизапальних цитокінів, інтенсивності фібринолізу, протеолізу та ліпопероксидації в тканинах ока й внутрішніх органів при системному й інтраокулярному уведенні ендотоксинів грамнегативної та грампозитивної мікрофлори і дослідити дозозалежний вплив індометацину на виявлені порушення.

Завдання дослідження*:*

1. Встановити зміни вмісту в склистому тілі кролів окремих цитокінів при інтраокулярному

уведенні ендотоксинів грамнегативної та грампозитивної мікрофлори.

2. Дослідити в склистому тілі кролів інтенсивність тканинного фібринолізу, протеолізу та ліпопероксидації при системному й інтраокулярному уведенні ендотоксинів грамнегативної та грампозитивної мікрофлори.

3. Вивчити зміни гемостазу, вмісту цитокінів у тканинах внутрішніх органів, функціональну активність фагоцитів крові, інтенсивність тканинного фібринолізу, протеолізу та ліпопероксидації за системного і локального уведення ендотоксинів грамнегативної та грампозитивної мікрофлори.

4. З'ясувати вплив різних доз індометацину на показники агрегатного стану крові, тканинний вміст цитокінів, інтенсивність плазмового і тканинного фібринолізу, протеолізу та ліпопероксидації при системному уведенні ендотоксинів грампозитивної мікрофлори.

Об'єкт дослідження: ендотоксин-індуковане запалення.

Предмет дослідження: протеоліз, фібриноліз, гемостаз, пероксидне окиснення ліпідів, цитокіни, функція моноцитів-макрофагів.

Методи дослідження: імуноферментні – для дослідження вмісту цитокінів у плазмі і тканинах; біохімічні – для дослідження інтенсивності сумарного, неферментативного і ферментативного плазмового і тканинного лізису азофібрину, розпаду низько- і високомолекулярних білків і колагену з використанням азосубстратів, стану пероксидного окиснення ліпідів: вмісту в тканинах внутрішніх органів і склистому тілі ока дієнових кон'югатів і малонового диальдегіду; хемілюмінесцентний – для вивчення окиснювального метаболізму поліморфноядерних лейкоцитів; коагулометричний – для вивчення стану судинно-тромбоцитарного і коагуляційного гемостазу; математичний – для статистичної обробки цифрових даних.

Наукова новизна одержаних результатів. Уперше проведено порівняльний аналіз впливу ендотоксинів грамнегативної та грампозитивної мікрофлори на основні патогенетичні ланки перебігу запалення в склистому тілі ока при проникаючій травмі та системні прояви поєднання цих патологічних станів. Уперше показано, що інтраокулярне уведення ендотоксину грамнегативної мікрофлори при травмі склери більшою мірою впливає на вміст у склистому тілі IL-1β, TNF-α, TGF-β1, а ендотоксин грампозитивної мікрофлори справляє більший вплив на вміст γ-INF.

Встановлено, що в склистому тілі ока кролів при інтравітреальному уведенні ендотоксину грампозитивної мікрофлори інтенсивність протеолітичної деградації низько- і високомолекулярних білків значно нижча, ніж при уведенні ендотоксину грамнегативної мікрофлори, а колагенолітична активність – вища. Вміст у склистому тілі продуктів пероксидного окиснення ліпідів значно менший у кролів, які отримували ендотоксин грампозитивної мікрофлори. Доведено, що системне уведення ендотоксину грамнегативної мікрофлори більш ефективне щодо змін вмісту в склистому тілі IL-2, IL-12, TNF-α та γ-INF, інтенсивності протеолітичного розпаду низько- і високомолеку-

лярних білків, ліпопероксидації та неферментативної фібринолітичної активності порівняно з уведенням ендотоксину грампозитивної мікрофлори. У тканинах селезінки, серця, легень, печінки і нирок системна дія ендотоксину грампозитивної мікрофлори збільшує інтенсивність як ферментативного, так і неферментативного фібринолізу, а ендотоксин грамнегативної мікрофлори справляє неоднозначні зміни цих показників.

Встановлено дизрегуляторний вплив системного уведення ендотоксину грампозитивної мікрофлори на агрегатний стан крові та наявність динаміки цих змін: через 24 год після його уведення виникає хронометрична гіперкоагуляція з активацією зовнішнього і внутрішнього механізмів утворення протромбінази, яка через 72 год змінюється хронометричною гіпокоагуляцією, переважно зовнішнього механізму утворення протромбінази.

Показано, що системне уведення ендотоксину грамнегативної мікрофлори посилює генерацію активних форм кисню в нейтрофілах та моноцитах, а інтраокулярне – збільшує утворення кисневих радикалів тільки в мононуклеарних фагоцитах крові.

Уперше встановлено, що індометацин у дозах 0,5 мг/кг та 2,5 мг/кг сприяє відновленню інтенсивності утворення протромбіназного комплексу, залежно від дози частково або повнітю нормалізує окремі показники агрегатного стану крові, фібринолітичної активності, порушені системним уведенням ендотоксину грампозитивної мікрофлори.

Практичне значення отриманих результатів. Результати дисертаційного дослідження дозволяють науково обґрунтувати причиново-наслідковий зв’язок між процесами, які призводять до порушень гемостазу, протеолізу, фібринолізу, ліпопероксидації за локальної і системної дії ендотоксинів грамнегативних та грампозитивних мікроорганізмів при проникаючій травмі ока і є теоретичною основою для розробки способів корекції зазначених порушень.

Результати роботи впроваджено на кафедрах патологічної фізіології Запорізького державного медичного університету, Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, ДВНЗ “Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського”, Івано-Франківського національного медичного університету, Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова, кафедрі офтальмології Буковинського державного медичного університету, кафедрі медичної біології, мікробіології, вірусології та імунології ДВНЗ “Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського”.

Особистий внесок здобувача. Автором особисто здійснено розробку основних теоретичних і практичних положень роботи, проведено аналіз літературних джерел, експериментальні дослідження, набір і обробку фактичного матеріалу, написано всі розділи дисертації. Аналіз та висновки сформульовано спільно з науковим керівником. У наукових працях, що опубліковані зі співавторами, самостійно зібрано матеріал, здійснено огляд літератури за темою, проведено статистичну обробку даних, зроблено узагальнення та сформульовані

висновки. При підготовці праць, які опубліковані в співавторстві, використано експериментальний матеріал, огляд літератури, статистичні дані автора.

Апробація матеріалів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи оприлюднені на III міжнародній медико-фармацевтичній конференції студентів і молодих вчених (Чернівці, 2006), регіональній науково-практичній конференції “Сучасні питання хірургії Буковини” (Чернівці, 2007), 89-ій підсумковій науковій конференції професорсько-викладацького персоналу Буковинського державного медичного університету (Чернівці, 2008), четвертій Всеукраїнській науково-практичній інтернет-конференції "Українська наука XXI століття" (Київ, 2008), VI міжнародній медико-фармацевтичній конференції студентів і молодих вчених (Чернівці, 2009), ювілейній підсумковій науковій конференції професорсько-викладацького персоналу Буковинського державного медичного університету (Чернівці, 2009), науково-практичній конференції офтальмологів Чернівецької області, присвяченій 100-річчю від дня народження заслуженого діяча науки професора Б.Л. Радзіховського (Чернівці, 2009).

Публікації. За темою дисертації опубліковано 6 наукових праць, із них 3 статті у фахових наукових виданнях, рекомендованих ВАК України, 1 патент на корисну модель, 1 стаття та 1 тези у матеріалах конференцій.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація викладена державною мовою на 190 сторінах машинописного тексту (із них основного тексту – 147 сторінок) і складається зі вступу, огляду літератури, розділу “Матеріали і методи дослідження”, чотирьох розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення отриманих результатів, висновків, списку використаних джерел літератури (267 джерел, із них 133 надруковані кирилицею, 134 – латиною) та додатків.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали і методи досліджень. У роботі використано 327 самців білих щурів масою тіла 0,14-0,16 кг та 31 кріль породи Шиншила масою тіла від 2,5 до 3,0 кг. Моделювання травми ока (лінійний розріз склери довжиною 4 мм) проводили в асептичних умовах під місцевою анестезією (ретробульбарне уведення 1,5 мл 2 % розчину новокаїну з дворазовою інстиляцією в кон’юнктивальну порожнину 0,25 % розчину дикаїну). У склисте тіло уводили 10 нг ендотоксину грамнегативної (ЕГНМ) або 10 нг ендотоксину грампозитивної (ЕГПМ) мікрофлори. Частині тварин контрольної та дослідної груп виконували енуклеацію травмованого ока та забір внутрішніх органів через 24 год, іншій частині – через 72 год. Енуклейовані очі та внутрішні органи негайно заморожували в рідкому азоті. Усі визначення проводили паралельно в контрольних групах (тварини, яким в аналогічний спосіб травмували око та уводили стерильний розчинник). Для визначення системних ефектів ендотоксини (1 мг/ кг) уводили в яремну вену під нембуталовим

наркозом. Частині тварин обох дослідних груп через три год після уведення ендотоксинів через шлунковий зонд уводили індометацин у дозах 0,5 або 2,5 мг/кг в розчині крохмального клейстеру.

Усі втручання та евтаназія тварин проводилися з дотриманням загальних правил і положень Європейської конвенції із захисту хребетних тварин, які використовуються для дослідницьких та інших наукових цілей (Страсбург, 1986), Загальних етичних принципів експериментів на тваринах (Київ, 2001), Закону України "Про захист тварин від жорстокої поведінки" (2006 р). Комісією з питань біоетики Буковинського державного медичного університету порушень морально-етичних норм при проведенні досліджень не виявлено (протокол №41 від 16 грудня 2009 р).

Визначення вмісту цитокінів проводили за допомогою наборів реагентів "РгоСоn IL-1β" (Росія), "РгоСоn TNF-α" (ООО "Протеиновый контур", Росія), "Rat IL-4 ELISA kit", "Rat IFNγ ELISA kit", "Rat TNF-α ELISA kit" (DiaClone, Франція), "Rat IL-6", "Rat IL-10", "Rat IL-2" (BioSource Int., США), "R&D Systems. Quantikine^{TM}-TGFβ$_1$" (США). Для виділення нейтрофілів і макрофагів використовували пробірки "Vacutainer$^{®}$ CPT^{TM}" фірми "BECTON DICKINSON" (США). Фагоцитарну активність та фагоцитарний індекс визначали за загальноприйнятими методами. Окислювальний метаболізм нейтрофілів та моноцитів-макрофагів визначали методом хемілюмінесценції (ХМЛ) на хемілюменометрі "ПХЛ-1" (Росія) в режимі накопичення при кількості нейтрофілів або моноцитів-макрофагів 2×10^4 клітин/мл.

У наважках тканин ока та внутрішніх органів (серця, легень, печінки, селезінки і нирки) та цитратній плазмі крові визначали протеолітичну активність (за лізисом азоальбуміну, азоказеїну та азоколу ("Simko Ltd", Україна)), сумарну, ферментативну і неферментативну фібринолітичну активність (СФА, ФФА, НФА відповідно, за лізисом азофібрину ("Simko Ltd", Україна), вміст малонового диальдегіду (МДА), дієнових кон'югатів (ДК) (В.М.Магаляс та ін, 2001). Для визначення показників гемостазу кров забирали з черевної частини аорти, стабілізували цитратом натрію. Стан тромбоцитарно-судинного гемостазу оцінювали за відсотком адгезивних тромбоцитів (ВАТ) та індексом спонтанної агрегації тромбоцитів (ІСАТ). Загальний коагуляційний потенціал крові: час рекальцифікації (ЧР), протромбіновий час (ПТЧ), тромбіновий час (ТЧ), активований парціальний тромбопластиновий час (АПТЧ), потенційну активність плазміногену (ПАП), антиплазміни (АП), рівень фібриногену (ФГ) в плазмі крові, активність антитромбіну III (АТІІІ) і концентрацію розчинних комплексів фібрин-мономера (РКФМ) у крові визначали за допомогою наборів реактивів фірми "Simko Ltd" (Україна) (О.Л.Кухарчук, 1996).

Результати опрацьовували методами варіаційного статистичного аналізу з визначенням критерію Ст'юдента за програмою "Biostat" на PC PENTIUM II.

Результати дослідження та їх обговорення. За умов інтравітреального уведення ЕГНМ (табл.1) проникаюча травма склери у кролів характеризувалася підвищенням вмісту у СТ IL-1β, TNF-α, TGF-β1 порівняно з показниками при неускладненій проникаючій травмі. Вміст γ-INF у

СТ травмованого ока не змінювався за цих умов. Уведення ЕГПМ за умов травми склери не міняло вміст IL-1β у СТ стосовно тварин із неускладненою травмою ока і зменшувало його порівняно з кролями, яким за умов поранення склери в СТ уводили ЕГНМ. Вміст TNF-α під впливом ЕГПМ не мінявся щодо показників у тварин із неускладненою травмою склери і був нижчим, ніж у кролів, яким уводили ЕГНМ. Після інтравітреального уведення ЕГПМ в СТ травмованого ока значно збільшувався вміст γ-INF відносно контролю, тварин із неускладненою травмою склери й тих, яким уводили ЕГНМ. TGF-β1 змінювався (зменшувався) лише стосовно тварин, що отримували інтравітреально ЕГНМ. У кролів із проникаючою травмою склери лізис низькомолекулярних (НМБ) і високомолекулярних білків (ВМБ) у СТ відносно контролю не змінювався, колагенолітична активність зменшувалась у 2,6 раза. Під впливом ЕГНМ лізис НМБ підвищувався на 41,7%, ВМБ – на 46,6 %, колагену – удвічі. При інтравітреальному уведенні ЕГПМ інтенсивність лізису НМБ перевищувала контрольний рівень у 2,3 раза, ВМБ – у 2,4 раза, колагену – у 2,5 раза. Порівняльний аналіз показав, що при уведенні у СТ ЕГПМ лізис НМБ був у 2,9 раза більшим, ніж при проникаючій травмі склери, та вдвічі вищим, ніж у тварин із проникаючим пораненням склери, яким у СТ уводили ЕГНМ.

Таблиця 1

Вплив ендотоксинів грамнегативної і грампозитивної мікрофлори на вміст цитокінів у склистому тілі при проникаючій травмі склери (M±m)

Показники, що вивчались	Група тварин			
	Контроль n=10	Травма склери, n=7 *1 група*	Травма склери + ендотоксин ЕГНМ, n=7 *2 група*	Травма склери + ендотоксин ЕГПМ, n=7 *3 група*
Інтерлейкін-1β, пг/ г тканини	41,3±5,84	55,7±8,30	392±41,5 $p<0,001$ $p_1<0,001$	74,2±7,96 $p<0,01$ $p_2<0,001$
Фактор некрозу пухлин α, пг/ г тканини	39,2±4,90	47,6±6,38	280±30,8 $p<0,001$ $p_1<0,001$	56,9±6,25 $p<0,05$ $p_2<0,001$
γ-інтерферон, пг/ г тканини	112±7,62	123±10,7	106±11,9	419±30,7 $p<0,001$ $p_1<0,001$ $p_2<0,001$
Трансформувальний	204±12,19	196±11,4	549±53,2	236±25,6

фактор росту β1, нг/ г тканини			$p<0,001$ $p_1<0,001$	$p_2<0,001$

Примітки: достовірність змін відносно: p - контролю; p_1, p_2 - відповідних груп тварин; n – кількість спостережень

Стосовно лізису НМБ, ВМБ та азоколу відповідне збільшення становило 3,0 і 2,1 та 6,4 і 3,3 раза.

Проникаюча травма склери спричинила в СТ зростання НФА в 3,1 раза та зниження ФФА на 38,4 %. За дії ЕГНМ у СТ НФА перевищувала контроль у 3,7 раза, а ФФА знижувалась у 2,5 раза. ЕГПМ не змінював СФА, проте зменшував НФА на 32,9% проти контролю і на 43,8 % стосовно кролів, яким уводили ЕГНМ. ФФА під впливом ЕГПМ зростала 75,8 % стосовно тварин, котрим у СТ уводили ЕГНМ.

Через 24 год після системного уведення ЕГНМ лізис НМБ, ВМБ, колагену в СТ зростав у 7,8, 8,3, 3,7 раза відносно показників у тварин з уведенням розчинника та у 7,1, 7,9 і 3,2 раза порівняно з показниками у тварин із проникаючою травмою ока без уведення ендотоксину. НФА зростала відносно цих контрольних груп відповідно в 6,0 і 5,6 раза, а ФФА – знижувалась у 5,6 і 5,8 раза. Рівні у СТ ДК та МДА перевищували відповідні показники в зазначених контрольних групах у 5,9 і 6,1 раза та в 6,4 і 6,3 раза.

Через 72 год після системного уведення ЕГНМ лізис НМБ та ВМБ був вищим у 10,0 і 9,7 раза та в 10,4 і 10,0 раза, ніж при уведенні розчинника і в кролів із травмою склери відповідно. Інтенсивність лізису азоколу у 2,8 і 3,2 раза зменшилась стосовно цих же груп контролю. Різко посилювався дисбаланс між ензиматичним і неензиматичним лізисом фібрину: НФА перевищувала показники відповідних контрольних груп у 9,3 і 8,7 раза, а ФФА була меншою за них у 8,8 і 9,1 раза. Тканинний вміст МДА перевищував показники в контрольних тварин та тварин із травмою склери у 10,1 та 10,5 раза, а ДК – у 9,7 раза стосовно контролю.

Системне уведення ЕГПМ спричинило зростання через 24 год у СТ протеолітичної деструкції НМБ, ВМБ і колагену стосовно тварин з уведенням розчинника і травмою склери в 5,2 і 4,7 раза, 4,8 і 4,6 раза, 2,3 і 2,0 раза відповідно. НФА зросла відповідно у 3,7 і 3,5 раза, а ФФА – зменшилась у 2,4 і 2,5 раза. Вміст ДК та МДА збільшився відносно вказаних контрольних груп відповідно в 3,6 і 3,7 та в 4,4 і 4,3 раза. Через 72 год лізис НМБ і ВМБ на 52,7 та 38,9 %, і 31,8 та 25,9 % перевищував відповідні показники в зазначених контрольних групах. Колагеноліз, НФА, ФФА та вміст МДА не змінювалися. Вміст ДК у СТ на 18,2 % переважав величини в кролів із травмою склери.

Порівняльний аналіз динаміки вмісту цитокінів у СТ кролів, яким системно уводили ЕГНМ та ЕГПМ після травми ока, наведено в табл. 2. Він свідчить, що через 24 год достовірні зміни мали місце лише щодо вмісту TNF-α, який був нижчим після уведення ЕГПМ. Проте через 72 год вміст

IL-2, IL-12, γ-INF та TNF-α у СТ кролів, яким внутрішньовенно уводили ЕГПМ, достовірно перевищував аналогічні показники після уведення ЕГНМ, а вміст IL-4, IL-6, IL-10 та TGF-β1, навпаки, був нижчим.

Таким чином, сукупне порівняння наслідків системного уведення ендотоксинів ЕГПМ та ЕГНМ свідчить, що в кролів, яким внутрішньовенно уводили ЕГПМ, інтенсивність протеолітичного розпаду низько- і високомолекулярних білків, ліпопероксидації та неферментативна фібринолітична активність у склистому тілі є значно меншою, ніж у тварин, які отримували ЕГНМ. Навпаки, колагенолітична активність і ферментативний фібриноліз є суттєво вищими в кролів першої дослідної групи. За умов внутрішньовенного уведення ЕГНМ вміст у склистому тілі таких цитокінів, як IL-2, IL-12, γ-INF та TNF-α, є набагато вищим, ніж за уведення ЕГПМ.

Таблиця 2

Порівняльний аналіз змін вмісту цитокінів у склистому тілі ока кролів після його травми та системного уведення ендотоксинів грамнегативної та грампозитивної мікрофлори (M±m)

Показники, що вивчалися	Характер впливу	Термін дослідження	
		24 год	72 год
Інтерлейкін-2, нг / мг білка	ЕГНМ ЕГПМ	5,14±1,08 n=11 3,21±0,516 n=11	7,87±1,57 n=20 1,24±0,201 n=20 p<0,001
Інтерлейкін-12, нг / мг білка	ЕГНМ ЕГПМ	3,49±0,896 n=11 2,38±0,410 n=11	5,73±1,04 n=20 1,38±0,326 n=20 p<0,001
Інтерферон-γ, нг / мг білка	ЕГНМ ЕГПМ	2,42±0,788 n=11 1,74±0,347 n=11	5,52±0,974 n=20 0,796±0,154 n=20 p<0,001
Фактор некрозу пухлин α, нг / мг білка	ЕГНМ ЕГПМ	3,50±0,710 n=11 1,36±0,205 n=11 p<0,01	6,30±1,25 n=20 0,873±0,243 n=20 p<0,001
Інтерлейкін-4, нг / мг білка	ЕГНМ ЕГПМ	2,12±0,506 n=11 2,41±0,413 n=11	1,68±0,425 n=20 5,83±1,149 n=20 p<0,01
Інтерлейкін-6, нг / мг білка	ЕГНМ ЕГПМ	1,33±0,430 n=11 1,59±0,392 n=11	0,967±0,334 n=20 4,72±0,705 n=20 p<0,001
Інтерлейкін-10,	ЕГНМ	1,91±0,420 n=11	1,71±0,430 n=20

нг / мг білка	ЕГПМ	2,12±0,496 n=11	6,68±1,37 n=20 p<0,001
Трансформувальний фактор росту β1, мкг / мг білка	ЕГНМ ЕГПМ	1,73±0,352 n=11 1,87±0,335 n=11	1,61±0,349 n=20 5,19±0,995 n=20 p<0,01

Примітки: ЕГНМ, ЕГПМ – ендотоксини грамнегативної і грампозитивної мікрофлори відповідно; p – достовірність змін у досліджуваних групах тварин; n – кількість тварин у групі

Оцінка системи регуляції агрегатного стану крові показала, що через 24 год після уведення ЕГПМ час рекальцифікації (ЧР) плазми крові скорочувався на 34,2 %, активований парціальний тромбопластиновий час (АПТЧ) – на 27,6 %, протромбіновий час (ПТЧ) – на 29,7 %, тромбіновий час (ТЧ) – на 40,8 %. Знижувалася активність антитромбіну III (АТIII) на 25,1 %. Активувався тромбоцитарно-судинний гемостаз: зріс відсоток адгезивних тромбоцитів (ВАТ) на 16,2 % при зростанні індексу спонтанної агрегації тромбоцитів (ІСАТ) майже в 5 разів. Плазмова концентрація фібриногену (ФГ) підвищилася на 30 %. СФА плазми крові зростала на 50,2 %, НФА – на 41,7 %, ФФА – на 49,1 %. При сталій потенційній активності плазміногену (ПАП) активувався Хагеман-залежний фібриноліз (ХЗФ), зросла активність загальних антиплазмінів (АП), концентрація розчинних комплексів фібрин-мономеру (РКФМ).

СФА тканини селезінки зросла на 21,0 % за рахунок НФА та ФФА, що збільшилися на 34,5 і 20,7 % відповідно. СФА в тканині серця зросла на 49,7 %, ФФА і НФА відповідно на 33,3 та 63,3 %. СФА в тканині легень збільшилася на 61,4 %: ФФА – у 2,1 раза, НФА – на 12,1 %. СФА в печінці зросла на 67,3 %, НФА – на 23,5 %, ФФА – у 2,1 раза. У кортикальній тканині нирок підвищення НФА склало 19,3 %, а ФФА – 2,4 раза.

Через 72 год після уведення ЕГПМ зміни коагуляційного потенціалу крові характеризувалися подовженням на 20,4 % ЧР, ПТЧ і ТЧ на 31,3 %, та 28,6 % відповідно. Активність АТIII зменшилася на 37,0 %, ВАТ зріс удвічі, а ІСАТ – майже в 11 разів. Відбулися зміни в системі плазмового фібринолізу: зниження СФА на 49,8 %, зростання НФА на 43,3 %, зменшення ФФА на 59,1 %. Інтенсивність ХЗФ знижувалась удвічі, ПАП – на 67,0 %. Активність антиплазмінів зросла: швидкодіючої фракції – на 40,5 %, повільнодіючої – на 68,8 %. Виявлялися високі концентрації РКФМ. Відбулися зміни тканинного фібринолізу: зниження СФА та ФФА селезінки на 48,0 та 50 %, зростання на 41,0 % НФА. У міокарді підвищилася на 31,5 % НФА на тлі зменшення ФФА на 24,2 %. У легенях НФА перевищила контроль на 39,0 %, а ФФА, навпаки, була на 44,9 % нижчою. СФА печінкової тканини зазнавала подібних змін. У кортикальній тканині нирок відмічалось зниження СФА на 38,8 %, причому винятково за рахунок ФФА, оскільки НФА достовірно не змінювалася.

Внутрішньоочне уведення щурам ЕГНМ достовірних змін сироваткової концентрації IL-1β не

спричинило, а рівень TNF-α зріс відносно контролю майже в 3 рази ($p<0,001$). За уведення ЕГНМ в яремну вену в крові достовірно збільшувався вміст обох цитокінів ($p<0,001$).

За уведення ЕГНМ у СТ додавання нейтрофілів до системи люменофору не впливало на інтенсивність ХМЛ, тоді як нейтрофіли щурів, яким ЕГНМ уводили внутрішньовенно, збільшували ХМЛ у 4,3 раза ($p<0,001$). Моноцити щурів, яким ЕГНМ вводили у СТ, достовірно підвищували інтенсивність ХМЛ у системі люменофору, так само, як і мононуклеарні клітини крові тварин, яким ЕГНМ уводили внутрішньовенно. Різниці в зростанні фагоцитарного числа і фагоцитарного індекса за різних шляхів уведення ЕГНМ не виявлено.

Після уведення ЕГНМ у СТ СФА плазми крові зростала у 2,8 раза за рахунок як НФА, так і ФФА. Лізис ВМБ зменшувався на 17,8 %, а лізис колагену зростав у 5,5 раза. За внутрішньовенного уведення ЕГНМ СФА плазми крові зростала більш, ніж у 4 рази, переважно за рахунок НФА. Лізис НМБ зростав на 61,7 %, ВМБ – на 56,5 %, колагенолітична активність – в 1,7 раза.

За системного уведення щурам ЕГНМ СФА в міокарді в 1,9 раза перевищила таку в щурів, яким ЕГНМ уводили у СТ, НФА майже у 3 рази, протеолітичний розпад НМБ і ВМБ – в 1,9 та 2,6 раза відповідно. У легенях більш високі показники НФА, лізису НМБ і ВМБ мали місце в разі внутрішньовенного уведення ЕГНМ (на 91,8, 33,9 та 30,0 % відповідно). ФФА і колагенолітична активність легеневої тканини були меншими у 2,0 та 2,7 раза відповідно порівняно з тваринами, яким ЕГНМ уводили в СТ. При уведенні ЕГНМ в яремну вену інтенсивність НФА і ФФА в печінці була майже в 2 рази, а колагенолітична активність – на 15,8 % нижчою за відповідні показники при уведенні ЕГНМ в СТ. Усі показники тканинного протеолізу і фібринолізу в селезінці були суттєво вищі в разі уведення ЕГНМ внутрішньовенно. У нирках за внутрішньоочного уведення ЕГНМ дворазово знижувалася СФА внаслідок пригнічення НФА і ФФА на 30,8 та 44,6 % стосовно контрольних показників. Лізис НМБ зменшувався у 2,7 раза, ВМБ – у 2,8 раза. У разі внутрішньовенного уведення ЕГНМ ФФА та лізис НМБ і ВМБ зазнавали більш глибоких змін і були нижчими за такі у тварин першої групи на 26,8, 30,5 та 44,3 %, відповідно.

У серці, легенях, нирках, селезінці внутрішньоочне уведення ЕГНМ вміст МДА не змінювало, але достовірно збільшувало його на 26,1, 88,5, 37,6 % та в 3,2 раза за уведення ЕГНМ у системний кровотік. У печінці вміст МДА змінювався (зростав на 74,2 %) лише за внутрішньоочного уведення ЕГНМ.

У щурів, яким уводили ЕГПМ та індометацин у дозі 0,5 мг/кг, через 24 год ЧР та АПТЧ поверталися до контрольних величин. ПТЧ подовжувався на 17,3 %, однак контрольних величин не досягав, залишаючись меншим на 17,6 %. Не спостерігалося достовірних змін ТЧ, який був меншим за контрольні показники на 35,2 %. Активність АТІІІ також зростала до контрольних величин, нормалізувався ВАТ. ІСАТ зменшувався майже втричі, наближаючись до контролю, проте перевищував його. Зниження концентрації ФГ в крові на 15,1 % також не призводило до

нормалізації цього показника. Зміни фібринолітичної системи плазми крові характеризувалися зниженням СФА, НФА і ФФА відповідно на 44,8, 99,7 і 44,1 %. Інтенсивність ХЗФ та концентрація в плазмі крові РКФМ під впливом індометацину знижувалася на 45,6 та 43,5 %, однак залишалися вищими, ніж у тварин контрольної групи. У селезінці підвищення СФА склало 16,1 %, ФФА – 17,9 %, а НФА суттєво зменшилася, що практично нормалізувало структуру сумарного фібринолізу. У серці індометацин сприяв підвищенню ФФА на 55,8 % за відсутності змін НФА, внаслідок чого в структурі СФА чітко переважала частка ензиматичного лізису фібрину. У легенях та печінці НФА знижувалася на 37,1 і 17,0 % відповідно, а ФФА та її частка в сумарному лізисі фібрину достовірно зростали на 47,9 і 80 %, наближаючись до контролю. У кортикальній тканині нирок СФА підвищувалася на 79,8 % за рахунок збільшення ФФА.

Через 72 год у щурів, яким уводили ЕГПМ та індометацин (0,5 мг/кг), ЧР зменшився на 18,3 %, АПТЧ – на 16,2%, ТЧ – на 21,5 %, у результаті чого зазначені показники досягли контрольних величин. ПТЧ скоротився на 41,8%. Активність АТІІІ підвищилася на 20,7 %. ВАТ знизився на 24,6 %, ІСАТ – у 2,1 раза. СФА плазми крові зросла на 36,1% за рахунок підвищення ФФА на 64,6 %. НФА зменшилась удвічі, що значно підвищило частку ФФА і нормалізувало структуру СФА. Інтенсивність ХЗФ збільшилась удвічі і сягла такої у тварин контрольної групи. Підвищення ПАП на 43,8 % сприяло нормалізації цього важливого параметра плазмового фібринолізу. Концентрація в плазмі крові РКФМ знизилася в 5,2 раза.

Тканинний фібриноліз у селезінці, легеневій тканині щурів, яким уводили ЕГПМ та індометацин характеризувався зниженням НФА у 2,5 раза, у міокарді – на 28,6 %, при зростанні ФФА у 2,6, 3,2 раза та 37,4 % відповідно, внаслідок чого СФА майже на 100 % презентувалася ФФА, що нормалізувало її структуру. У печінці також у 2,8 раза збільшилася ФФА та значно зросла її частка, а НФА достовірно зменшилася. У кортикальній тканині нирок індометацин підвищував СФА на 90,4 % за рахунок зростанням ФФА у 8 разів, хоча НФА зменшилась у 2,1 раза. Частка ФФА в структурі СФА наближалась до 90 %.

Індометацин (2,5 мг/кг маси) у щурів, які отримували ЕГПМ, збільшив ЧР на 51,8 %, АПТЧ – на 53,9 %, що нормалізувало ці показники. ТЧ зріс на 38,1 %, однак не досяг контрольних показників. На 25,5 % підвищувалась активність АТІІІ. Препарат вагомо знизив функціональну активність тромбоцитів – ВАТ та ІСАТ значно наблизилися до контрольних величин. СФА плазми крові зросла на 81,7 %, що пов’язано зі значним (у 2,3 раза) підвищенням інтенсивності ФФА. ХЗФ не змінювався, однак ПАП зросла на 44,3 % (до контрольних величин). Вміст у плазмі крові РКФМ зменшився в 3,1 раза. Фібриноліз у внутрішніх органах під впливом препарату змінювався наступним чином: у тканинах селезінки, міокарда, легень, печінки та нирок НФА знизилася у 8,4, 7,4, 4,0, 3,9, 3,1 раза, а ФФА зросла в 1,1, 2,8, 3,6, 4,1, 5,1 раза відповідно, що нормалізувало або наближало до норми структуру СФА, змінену ендотоксином.

ВИСНОВКИ

У дисертації наведено теоретичне узагальнення результатів експериментального вивчення локального інтраокулярного і системного впливу ендотоксинів грамнегативної і грампозитивної мікрофлори на стан гемостазу, генерації про- і протизапальних цитокінів, інтенсивності в тканинах ока і внутрішніх органів фібринолізу, протеолізу, ліпопероксидації та патогенетично обґрунтувано дозозалежний спосіб корекції виявлених порушень індометацином.

1. У кролів за внутрішньоочного уведення ендотоксинів грамнегативної мікрофлори в склистому тілі порівняно з неускладненою травмою зростає вміст IL-1β, TNF-α, TGF-β1 у 7,0, 5,9, 2,8 раза відповідно. Посилюється інтенсивність лізису низько-, високомолекулярних білків та колагену на 41,7, 46,6, 100 %. Інтравітреальне уведення ендотоксинів грампозитивної мікрофлори призводить до зростання в 3,4 раза вмісту γ-INF, інтенсивності лізису низько-, високомолекулярних білків та колагену у 2,0, 2,1, 3,3 раза, зниження на 33% неферментативної фібринолітичної активності.

2. Через 24 год після системного уведення ендотоксинів грамнегативної мікрофлори в склистому тілі кролів зростає лізис низько- і високомолекулярних білків, колагену, неферментативна фібринолітична активність, вміст дієнових кон'югатів і малонового диальдегіду відповідно в 7,8, 8,3, 3,7, 6,0, 5,9 і 6,4 раза, знижується ферментативна фібринолітична активність у 5,6 раза. Через 72 год підвищується лізис низько- і високомолекулярних білків, неферментативна фібринолітична активність в 10,7, 10,4, 9,3 раза відповідно, знижується колагенолітична активність, ферментативна фібринолітична активність у 2,8 та 8,8 раза, вміст дієнових кон'югатів і малонового диальдегіду – відповідно в 10,1 і 9,7 раза. Вміст IL-2, IL-12, γ-INF та TNF-α у склистому тілі за цих умов характеризується значним підвищенням через 24 год та ще вагомішим – через 72 год спостереження.

3. Через 24 год після внутрішньовенного уведення ендотоксинів грампозитивної мікрофлори в склистому тілі кролів зростає інтенсивність протеолітичної деструкції низько-, високомолекулярних білків, колагену, неферментативна фібринолітична активність, вміст дієнових кон'югатів та малонового дидіальдегіду. Підвищення ІЛ-2, γ-INF, IL-12, IL-4, TNF-α становить 3,1, 2,7, 2,0, 1,6, 1,5 раза. Через 72 год за цих експериментальних умов у склистому тілі зростає лізис азоальбуміну на 39 %, лізис азоказеїну – на 26 %, вміст дієнових кон'югатів на 18%, IL-6, TGF-β1, IL-4, IL-10 – у 5,5, 4,6, 4,2 раза та 4 рази відповідно.

4. Внутрішньовенне уведення ендотоксину грамнегативної мікрофлори активує систему генерації активних форм кисню як у нейтрофілах, так і в моноцитах, а уведення ліпополісахариду в склисте тіло посилює утворення кисневих радикалів тільки в мононуклеарних фагоцитах крові.

5. За внутрішньоочного уведення ендотоксину грамнегативної мікрофлори інтенсивність ліпопероксидації зростає тільки в печінці, а внаслідок його внутрішньовенного уведення процеси пероксидного окиснення ліпідів активуються в тканинах серця, легень, селезінки й нирок.

6. Через 24 год після уведення ендотоксину грампозитивної мікрофлори спостерігається хронометрична гіперкоагуляція з активацією зовнішнього і внутрішнього механізмів утворення протромбінази, скорочення тривалості фібриногенезу, пригнічення протизгортальної активності крові, збільшення функціональної активності тромбоцитів та концентрації в крові фібриногену, активація систем плазмового фібринолізу, підвищення активності антиплазмінів, тромбоцитарної ланки первинного гемостазу, глибока депресія ферментативного фібринолізу, суттєве зниження інтенсивності Хагеман-залежного фібринолізу та потенційної активності плазміногену на тлі неадекватної активації антиплазмінів і накопичення в крові розчинних комплексів фібрин-мономера.

7. У щурів, які отримували ендотоксин грампозитивної мікрофлори, індометацин у дозі 0,5 мг/кг через 24 год сприяє нормалізації інтенсивності утворення протромбіназного комплексу за внутрішнім механізмом згортання крові, підвищує активність антитромбіну III та агрегаційну здатність тромбоцитів, нормалізує їх адгезивні властивості на тлі зниження концентрації в крові фібриногену, зменшує фібринолітичну активність плазми крові, особливо неферментативну.

8. У дозі 2,5 мг/кг індометацин нормалізує активність плазмових факторів внутрішнього механізму згортання крові, зменшує інтенсивність генерації тромбіну за зовнішнім шляхом гемокоагуляції, значно знижує активність тромбоцитарної ланки первинного гемостазу, а також суттєво поліпшує стан фібринолітичної системи плазми крові у тварин, які отримували ендотоксин грампозитивної мікрофлори.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Пішак В. П. Зміни вмісту цитокінів у склоподібному тілі з проникним пораненням склери: вплив ендотоксинів грамнегативної і грампозитивної мікрофлори / В. П. Пішак, Л. В. Івасюк // Клінічна та експериментальна патологія. – 2007. – Т. VI, № 1. – С. 80–83. (Здобувачем проведено експериментальні втручання, статистичну обробку та підготовку матеріалів до друку).

2. Івасюк Л. В. Вплив ендотоксинів грамнегативної і грампозитивної мікрофлори на інтенсивність фібринолізу у склоподібному тілі ока кролів з проникним пораненням склери / Л. В. Івасюк, Я. І. Пенішкевич // Клінічна та експериментальна патологія. – 2008. – Т. VII, № 3. – С. 56–59. (Здобувачем проведено експериментальну частину досліджень, статистичну обробку матеріалу та підготовку його до друку).

3. Івасюк Л. В. Вплив ендотоксинів грамнегативної та грампозитивної мікрофлори на інтенсивність протеолізу в склистому тілі ока кролів з проникним пораненням склери / Л. В. Івасюк,

Я. І. Пенішкевич // Буковинський медичний вісник. – 2009. – Т. 13, № 2. – С. 69–72. (Здобувачем проведено експериментальні дослідження, статистичну обробку та підготовку матеріалів до друку).

4. Пат. на корисну модель 21947 Україна, МПК G 09 B 23/28 (2007.01). Спосіб експериментального моделювання проникної інфікованої травми склери заднього сегмента ока / Пішак В. П., Івасюк Л. В., Висоцька В. Г., Магаляс В. М. – № u2006 11355 ; заявл. 27.10.2006 ; опубл. 10.04.07, Бюл. № 4. (Здобувач брала участь у розробці пристрою, описанні спостережень та їх аналізі).

5. Пенішкевич Я. І. Корекція порушень ліпоксигеназного метаболізму арахідонату за проникного поранення рогівки, обтяженого уведенням ендотоксину в передню камеру ока / Я. І. Пенішкевич, Л. В. Івасюк, Г. П. Доманська // Проблемы, достижения и перспективы развития медико-биологических наук и практического здравоохранения. – 2008. – Т. 144, ч. 2. – С. 124–126. (Здобувач здійснила експериментальні втручання, статистичну обробку та підготовку матеріалів до друку).

6. Івасюк Л. В. Вплив глюкозоамінілмурамілдипептиду на інтенсивність фібринолізу в склоподібному тілі ока кролів з проникним пораненням склери / Л. В. Івасюк // Українська наука XXI століття : четверта всеукраїнська науково-практична інтернет-конференція, 25-27 червня 2008 р. : матеріали конф. – Київ, 2008. – С. 10–11.

АНОТАЦІЯ

Івасюк Л.В. Патогенетичні особливості системної і локальної інтраокулярної дії ендотоксинів грамнегативної і грампозитивної мікрофлори. – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.04 – патологічна фізіологія. – Державний вищий навчальний заклад "Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського" МОЗ України, Тернопіль, 2010.

Дисертація присвячена вивченню динаміки порушень генерації про- і протизапальних цитокінів, гемостазу, інтенсивності в тканинах ока і внутрішніх органів щурів і кролів фібринолізу, протеолізу та ліпопероксидації при поєднанні проникної травми склери з інтраокулярним або системним уведенням ендотоксинів грамнегативної і грампозитивної мікрофлори, а також патогенетичному обгрунтуванню ефективності індометацину в їх корекції. Встановлено, що при травмі склери внутрішньоочне уведення ендотоксинів грамнегативної мікрофлори підвищує вміст у склистому тілі TNF-α, IL-1β, TGF-β1, а ендотоксинів грампозитивної мікрофлори – вміст γ-INF. За цих умов суттєво зростає інтенсивність лізису низько-, високомолекулярних білків та колагену, пероксидного окиснення ліпідів, виникають різноспрямовані зміни фібринолітичної активності. За системного уведення ендотоксину грамнегативної мікрофлори вміст у склистому тілі IL-2, IL-12, γ-INF та TNF-α, інтенсивність протеолітичного розпаду низько- і високомолекулярних білків, ліпопероксидації та неферментативна фібринолітична активність вищі, ніж за дії ендотоксину грампозитивної мікрофлори, а колагенолітична активність і ферментативний фібриноліз – нижчі. У

тканинах селезінки, серця, легень, печінки і нирок за системної дії ендотоксину грамнегативної мікрофлори зміни фібринолітичної активності неоднозначні, а ендотоксин грампозитивної мікрофлори підвищує всі види фібринолітичної активності у тканинах цих органів.

Через 24 год після уведення ендотоксину грампозитивної мікрофлори виникає хронометрична гіперкоагуляція за рахунок активації як зовнішнього, так і, меншою мірою, внутрішнього механізмів утворення протромбінази, яка через 72 год змінюється хронометричною гіпокоагуляцією переважно зовнішнього шляху утворення протромбінази.

Індометацин в обох застосованих дозах сприяє частковій нормалізації тих чи інших досліджених показників залежно від дози.

Ключові слова: проникаюча травма склери, ендотоксини, цитокіни, протеоліз, фібриноліз, гемостаз, ліпопероксидація, індометацин.

АННОТАЦИЯ

Ивасюк Л.В. Патогенетические особенности системного и локального интраокулярного действия эндотоксинов граммположительной и граммотрицательной микрофлоры. – Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.04 – патологическая физиология. – Государственное высшее учебное заведение “Тернопольский государственный медицинский университет имени И.Я. Горбачевского” МЗ Украины, Тернополь, 2010.

Диссертация посвящена изучению динамики нарушений в тканях глаза и внутренних органов крыс и кролей генерации про- и противоспалительных цитокинов, интенсивности фибринолиза, протеолиза и липопероксидации, а также гемостаза при системном и интраокулярном введении эндотоксинов граммотрицательной и граммположительной микрофлоры и патогенетическому обоснованию эффективности индометацина в их коррекции.

Установлено, что у кролей при внутриглазном введении эндотоксина граммотрицательной микрофлоры в стекловидном теле значительно возрастает содержание IL-1β, TNF-α, TGF-β1, лизис низко- и высокомолекулярных белков, коллагенолитическая, неферментативная фибринолитическая активность, содержание ДК, МДА и снижается ферментативный фибринолиз. Интравитреальное введение эндотоксина граммположительной микрофлоры приводит к повышению содержания в стекловидном теле уровня γ-INF, уменьшению неферментативной фибринолитической активности. После системного введения эндотоксина граммотрицательной микрофлоры содержание IL-2, γ-INF и TNF-α в стекловидном теле значительно повышается через 24 часа и еще больше – через 72 часа наблюдения. В стекловидном теле кролей, которым внутривенно вводили эндотоксин граммположительной микрофлоры, через 24 часа значительно

возрастает интенсивность протеолитической деструкции низко-, высокомолекулярных белков и коллагена, содержание ДК и МДА, активность неферментативного фибринолиза при уменьшении активности ферментативного. Количество IL-2, γ-INF, TNF-α, IL-4 в стекловидном теле пораженного глаза превышает таковое у контрольных животных. Через 72 часа содержание IL-4, IL-6, IL-10, TGF-β1, ДК, лизис низко- и высокомолекулярных белков в стекловидном теле остаются повышенными, остальные показатели не отличаются от контроля.

Через 24 часа после системного введения эндотоксина граммположительной микрофлоры развивается хронометрическая гиперкоагуляция с активацией внешнего и внутреннего механизмов образования протромбиназы при значительном сокращении продолжительности фибриногенеза и угнетении противосвертывающей активности крови, увеличение функциональной активности тромбоцитов и концентрации в крови фибриногена. В тканях селезенки, сердца, легких, печени и почек наблюдается повышение всех составных фибринолитической активности. Через 72 часа в этих же условиях наблюдается хронометрическая гипокоагуляция, более выраженная со стороны внешнего механизма образования протромбиназы, что сопровождается замедлением процессов фибриногенеза. Уменьшение противосвертывающего потенциала крови сочетается со значительной активацией тромбоцитарного звена первичного гемостаза, глубокой депрессией плазменного ферментативного фибринолиза, резким уменьшением интенсивности Хагеман-зависимого фибринолиза, накопления в крови растворимых комплексов фибрин-мономера. В тканях селезенки, сердца, легких, печени и почек повышается неферментативная и уменьшается ферментативная фибринолитическая активность. При системной эндотоксинемии отмечается активация систем генерации активных форм кислорода как в нейтрофилах, так и в моноцитах, а в случае введения эндотоксина граммотрицательной микрофлоры в стекловидное тело усиление процессов образования кислородных радикалов наблюдается только в мононуклеарных фагоцитах крови, тогда как функциональная активность моноцитов-макрофагов возрастает в обоих случаях. Индометацин у крыс, которые получали эндотоксин граммположительной микрофлоры, через 24 часа способствует полной или частичной нормализации интенсивности образования протромбинового комплекса по внутреннему механизму, но мало влияет на интенсивность тромбиногенеза по внешнему пути гемокоагуляции. Под влиянием препарата уменьшается фибринолитическая активность плазмы крови, особенно неферментативная. Общей закономерностью изменений тканевого фибринолиза является значительное повышение ферментативной фибринолитической активности. Через 72 часа после введения эндотоксина граммположительной микрофлоры и индометацина хронометрическая гипокоагуляция по внешнему пути образования протромбинового комплекса сменяется укорочением периода генерации активного тромбина. Кроме того, препарат способствует нормализации ферментативной фибринолитической активности плазмы крови, а также восстановлению структуры суммарной фибринолитической активности в тканях селезенки, сердца, легких, печени и почек.

Ключевые слова: проникающая травма глаза, эндотоксины, цитокины, протеолиз, фибринолиз, гемостаз, липопероксидация, индометацин.

SUMMARY

Ivasiuk L.V. Pathogenetic characteristics of the systemic and local intraocular action of endotoxins of gramnegative and grampositive microflora. – Manuscript.

The thesic for obtaining degree of a Candidate of Medical Scienses. Specialty code – 14.03.04. – Pathologic Physiology. State Higher Educational Establishment "I.Ya. Horbachevsky Ternopil State Medical University", Ternopil, 2010.

The thesis deals with the studying of the dynamics of the generation disturbances of pro- and antiinflammatory cytokines, hemostasis, the intensity of fibrinolysis, proteolysis and lipoperoxidation in the tissues of the eye and viscera of rats and rabbits in case of a combined penetrating sclera injury with intraocular or systemic introduction of endotoxins of gramnegative and grampositive microflora and pathogenetically substantiated efficacy of indomethacin in their correction.

It has been established that in case of sclera injury intraocular introduction of endotoxins of gramnegative microflora increases the content of TNF-α, IL-1β, TGF-β1 in vitreous body and introduction of endotoxins of grampositive microflora increases the content γ-INF. Under these conditions the lysis intensity of low -, high molecular proteins and collagen, lipid peroxidation substantially increases, variously aimed changes of fibrinolytic activity occur. Due to systemic introduction of endotoxin of gramnegative microflora the IL- 2, IL-12, γ-INF and TNF-α in the vitreous body, the intensity of proteolytic destruction of low – and high molecular proteins, lipoperoxidation and non- enzymatic fibrinolytic activity are higher than in case of endotoxin action of grampositive microflora, whereas collagen activity and enzymatic fibrinolysis are lower. Changes of fibrinolytic activity are not the same in the tissues of the spleen, heart, lungs, liver and kindneys in case of systemic endotoxin action of gramnegative microflora, and endotoxin of grampositive microflora increases all kinds of fibrinolytic activity in the tissues of these organs.

In 24 hours following endotoxin introduction of grampositive microflora chronometric hypocoagulation occurs at the expense of activation of both external and internal mechanisms of prothrombinase formation, which changes to chronometric hypercoagulation predominantly by means of external route of prothrombinase formation in 72 hours.

In both doses applied indometacin promotes a partial normalization of those and others investigated indices, depending upon the dose.

Key words: penetrating injury of sclera, endotoxins, cytokines, proteolysis, fibrinolysis, hemostasis, lipoperoxidation, indometacin.