

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
БУКОВИНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

На правах рукопису

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

ДИСЕРТАЦІЯ

на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук

Науковий керівник
Пішак Василь Павлович
доктор медичних наук, професор

Чернівці, 2010

ЗМІСТ

ВСТУП.....	6
РОЗДІЛ 1. СУЧАСНІ УЯВЛЕННЯ ПРО МЕХАНІЗМИ РЕГУЛЯЦІЇ ЕНДОТОКСИНАМИ ГРАМНЕГАТИВНОЇ ТА ГРАМПОЗИТИВНОЇ МІКРОФЛОРИ АКТИВНОСТІ ФАКТОРІВ СИСТЕМИ ІМУННОГО ЗАХИСТУ (огляд літератури).....	13
1.1. Фізіологічні і патофізіологічні аспекти дії ендотоксинів	13
1.2. Сучасні уявлення про патогенез порушення активності факторів системи гемостазу ендотоксином грамнегативної мікрофлори	23
1.3. Роль цитокінів у регуляції неспецифічної реактивності та імунної відповіді лімфоцитів	35
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	39
2.1. Характеристика експериментальних моделей, що використовувалися в роботі	39
2.2. Методи дослідження вмісту цитокінів, функціональної активності нейтрофілів і моноцитів-макрофагів	40
2.3. Біохімічні, коагулометричні і статистичні методи дослідження	43
РОЗДІЛ 3. ХАРАКТЕРИСТИКА ВПЛИВУ ЕНДОТОКСИНІВ ГРАМНЕГАТИВНОЇ І ГРАМПОЗИТИВНОЇ МІКРОФЛОРИ НА ВМІСТ ЦИТОКІНІВ, ПРОТЕОЛІЗ І ФІБРИНОЛІЗ У СКЛИСТОМУ ТІЛІ ОКА КРОЛІВ ІЗ ПРОНИКАЮЧИМ ПОРАНЕННЯМ СКЛЕРИ	51
3.1. Зміни вмісту цитокінів за локальної дії ендотоксинів грамнегативної і грампозитивної мікрофлори в склистому тілі кролів із проникаючою травмою склери	51
3.2. Зміни протеолізу, фібринолізу і ліпопероксидації в склистому тілі кролів після системного уведення ендотоксину грамнегативної мікрофлори (ГНМФ).....	58

3.3. Вплив системного уведення глюкозоамінілмураміддипептиду (ГПМФ) на інтенсивність протеолізу, фібринолізу і ліпопероксидації та вміст цитокінів у склистому тілі ока кролів	65
3.4. Порівняльний аналіз ефектів системного уведення ліпополісахариду грамнегативної мікрофлори та глюкозоамінілмураміддипептиду на показники протеолізу, фібринолізу, ліпопероксидації та вмісту цитокінів у склистому тілі ока кролів	69
РОЗДІЛ 4. ХАРАКТЕРИСТИКА РЕГУЛЯЦІЇ АГРЕГАТНОГО СТАНУ КРОВІ, ПЛАЗМОВОГО І ТКАНИННОГО ФІБРИНОЛІЗУ У ЩУРІВ, ЯКІ ЗАЗНАВАЛИ СИСТЕМНОЇ ДІЇ ГЛЮКОЗОАМІНІЛМУРАМІЛДИПЕПТИДУ	76
РОЗДІЛ 5. ВПЛИВ ВНУТРІШНЬООЧНОГО ТА ВНУТРІШНЬОВЕННОГО УВЕДЕННЯ ЕНДОТОКСИНУ ГРАМНЕГАТИВНОЇ МІКРОФЛОРИ НА МЕХАНІЗМИ НЕСПЕЦИФІЧНОЇ РЕАКТИВНОСТІ, ТКАНИННИЙ ПРОТЕОЛІЗ І ФІБРИНОЛІЗ ТА ЛІПОПЕРОКСИДАЦІЮ В ЩУРІВ.....	101
РОЗДІЛ 6. ВПЛИВ ІНДОМЕТАЦИНУ НА СИСТЕМУ АГРЕГАТНОГО СТАНУ КРОВІ, ПЛАЗМОВИЙ І ТКАНИННИЙ ФІБРИНОЛІЗ У ЩУРІВ, ЯКІ ЗАЗНАВАЛИ СИСТЕМНОЇ ДІЇ ГЛЮКОЗОАМІНІЛМУРАМІЛДИПЕПТИДУ	122
РОЗДІЛ 7. АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ	151
ВИСНОВКИ.....	169
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ЛІТЕРАТУРИ	172
ДОДАТОК(акти впровадження).....	204

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

АП – антиплазмін

АПТЧ – активований парціальний тромбoplastиновий час

АТШ – антитромбін Ш

ВАТ – відсоток адгезивних тромбоцитів

ВМБ – високомолекулярний білок

ГМД – глюкозоамінілмураміддипептид

ГНМФ – грам негативна мікрофлора

ГПМФ – грам позитивна мікрофлора

ДК – дієнова кон'югата

ЕГНМ – ендотоксин грамнегативної мікрофлори

ЕППМ – ендотоксин грампозитивної мікрофлори

ІСАТ – індекс спонтанної агрегації тромбоцитів

МДА – малоновий диальдегід

МПО – мієлопероксидаза

НМБ – низькомолекулярний білок

НФА – неферментативна фібринолітична активність

НФФ – неферментативний фібриноліз

ПАП – потенційна активність плазміногену

ПТЧ – протромбіновий час

РКФМ – розчинний комплекс фібрин-мономера

СТ – склисте тіло

СФА – сумарна фібринолітична активність

ТФ – тканинний фібриноліз

ТЧ – тромбіновий час

ФГ – фібриноген

ФФ – ферментативний фібриноліз

ФФА – ферментативна фібринолітична активність

ХЗФ – Хагеман-залежний фібриноліз

ЧР – час рекальцифікації

ВСТУП

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-1 β , простагландину E₂ та лейкотрієну B₄ (Я.І. Пенішкевич, 2002). Простагландин E₂ 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 мезенхімальних клітин, 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 веде 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 із 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 проникних поранень ока (А.В. Савушкин, 2006). Причинами розвитку сполучної тканини є процеси організації запальних ексудатів із інтенсивним накопиченням колагену III типу в зоні ушкодження ока (J.R. Wanders 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 ендотоксिनного 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 діальдегіду; 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-1 β , TNF- α , TGF- β 1, а ендотоксин грампозитивної мікрофлори справляє більший вплив на вміст γ -INF.

Встановлено, що в склистому тілі ока кроликів при інтравітреальному уведенні ендотоксину грампозитивної мікрофлори інтенсивність протеолітичної деградації низько- і високомолекулярних білків значно нижча, ніж при уведенні ендотоксину грамнегативної мікрофлори, а колагенолітичної активності – 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 ефективно щодо змін вмісту в склистому тілі IL-2, IL-12, TNF- α та γ - INF, інтенсивності протеолітичного розпаду низько- і високомолекулярних білків, ліпопероксидації та неферментативної фібринолітичної активності порівняно з уведенням ендотоксину грампозитивної мікрофлори. У тканинах селезінки, серця, легень, печінки і нирок за системної дії ендотоксин 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 у 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 повністю 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 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.

РОЗДІЛ 1
СУЧАСНІ УЯВЛЕННЯ ПРО МЕХАНІЗМИ РЕГУЛЯЦІЇ
ЕНДОТОКСИНАМИ ГРАМНЕГАТИВНОЇ ТА ГРАМПозИТИВНОЇ
МІКРОФЛОРИ АКТИВНОСТІ ФАКТОРІВ СИСТЕМИ ІМУННОГО ЗАХИСТУ
(огляд літератури)

1.1. Фізіологічні і патофізіологічні аспекти дії ендотоксинів

Ендотоксини бактеріального походження складають невід'ємну частину антигенного середовища існування людини і тварин. Вони беруть участь у нормальному розвитку та становленні імунної системи і водночас займають провідне місце в патогенезі багатьох бактеріальних інфекційних та неінфекційних захворювань [159].

Ендотоксин є обов'язковим компонентом структури зовнішньої мембрани грамнегативних мікроорганізмів [180]. Носієм біологічної активності ендотоксину є ліпополісахариди. Комплексна молекула цих біополімерів включає три ліпід А, коровий олігосахарид і О-специфічний полісахарид. Гідрофобна частина макромолекули ліпополісахариду ліпід – А визначає його біологічні ефекти: токсичність, пірогенність, реакцію Шварцмана, індукцію утворення фактора некрозу пухлин, інтерлейкіну-1, ад'ювантну і мітогенну активність тощо [186].

Ліпід А – найбільш консервативна частина макромолекули ліпополісахариду, про що свідчить наявність у ній епітопів, які створюють можливість перехресних реакцій між окремими таксонами [226]. У більшості з вивчених до цього часу мікроорганізмів ліпід А структурно – це фосфорильований дисахарид, який складається з двох залишків D-глюкозаміну, що несуть залишки вищих жирних кислот. Ліпіди А різних бактерій подібні за загальною архітектонікою макромолекули, а різниця між представниками окремих таксонів зумовлена складом жирних кислот та структурними особливостями гідрофільної частини макромолекули [82].

Висловлюється гіпотеза, що в процесі еволюції грамнегативних бактерій виникла структура, яка включає ліпід А, необхідний для організації і

функціонування зовнішньої мембрани, тобто для росту та виживання бактерій. Водночас, інфіковані макроорганізми створювали на клітинах фагоцитарної системи структури розпізнавання ліпід-А-вміщуючої мікробної поверхні, які філогенетично є найбільш старою формою імунного захисту. Захист мікроорганізмів розвивався не шляхом втрати ліпиду А, а його маскуванню за механізмом приєднання О-специфічного ланцюга, що призвело до збереження структурної цілістності домену – ліпиду А бактеріальної мембрани [86].

Відносна стабільність біохімічної структури ліпиду А в ліпополісахаридах різного походження зумовлює типовість біологічних властивостей ендотоксинів усіх грамнегативних мікроорганізмів [138], отже ліпід А забезпечує ендотоксичну активність, тому автори провідних робіт цього напрямку досліджень ставлять знак рівності між поняттями ендотоксин і ліпополісахарид [141].

Джерелом ендотоксину в організмі людини і тварин є грамнегативна мікрофлора, для якої кишечник є природним резервуаром. Самовідновлення пулу сапрофітної мікрофлори кишечника спричиняє вивільнення біологічно активного ендотоксину. Причиною цього може бути загибель не тільки кишкової палички та (або) сапрофітних грамнегативних анаеробних бактерій, але й патогенних грамнегативних мікроорганізмів (*Salmonella*, *Shigella* та ін.) [143].

Вважають, що частина ендотоксину сапрофітів кишечника проходить через бар'єр слизової оболонки і надходить у порталний кровотік [1], де за фізіологічних умов елімінується клітинами Купфера. Помірна ендотоксинемія стимулює систему імунного захисту [27]. При стресових станах та за різних патологічних процесів кількість ліпополісахариду, що надходить у кров, може значно зростати і сапрофітний ендотоксин відіграє роль тригера шокового стану [45], як це відбувається при грамнегативному сепсисі [43].

Ендотоксин грамнегативної мікрофлори має широкий спектр біологічної активності та здатний взаємодіяти практично зі всіма клітинами людини і тварин. Залежно від дози, він може пошкоджувати клітини або стимулювати синтез ряду фізіологічно активних речовин, таких як інтерлейкіни, фактор некрозу пухлин, колонієстимулювальні фактори та ін. Високі дози ендотоксину призводять до

розвитку дисемінованого внутрішньосудинного згортання крові або до ендотоксिनного шоку [13].

Фізіологічні і патофізіологічні ефекти ліпиду А включають активацію комплементу, індукцію неспецифічної резистентності до інфекцій, захист організму від радіації, летальну токсичність, пірогенність, лейкопенію [67]. Деякі з цих властивостей є шкідливими, інші – корисними, що залежить від кількості ендотоксину, який вивільняється з грамнегативних бактерій кишкової мікрофлори або надходить у загальний кровотік при інфекційних захворюваннях [60].

За фізіологічних умов ендотоксин розглядають як диференціюючий і проліферуючий імуногенний сигнал, який характеризується низкою специфічних антигенних властивостей [77]. На даний час відомі 5 різних видів антитіл, специфічних до гідрофільного скелета ліпиду А або його складових структур [62].

У людини існує низка гуморальних і клітинних чинників, які зв'язують ліпополісахарид: антитіла, ліпопротеїни високої щільності, клітини Купфера, гранулоцити, макрофаги та ін. У невеликих кількостях ліпополісахарид виявляється в здорових людей і навіть у новонароджених дітей у системному кровотоці – плазмі крові та на поверхні лейкоцитів [4]. Нормально функціонуючі ендотоксинзв'язуючі фактори забезпечують ефективний захист організму від шкідливих ефектів ендотоксину за фізіологічних умов. Однак, ситуація може істотно змінюватися при стресі, за дії іонізуючої радіації та інших шкідливих чинників довкілля, при різних інфекційних та неінфекційних захворюваннях. При збільшенні надходження ліпополісахариду в системний кровотік різко знижуються титри проти ендотоксिनних антитіл до гліколіпиду хемотипу Re, відсоток вмісту ліпополісахарид-позитивних лейкоцитів та резервів зв'язування гранулоцитами ендотоксину. Тобто, організм практично втрачає системи захисту від подальших ліпополісахаридних навантажень [251].

Вплив ендотоксину на імунну систему організму може бути прямим і опосередкованим. Зокрема, сальмонельозний ендотоксин сприймається насамперед макрофагальною системою: моноцитарними макрофагами кишкової стінки і фагоцитарно-ендотеліальної системи, а також нейтрофілами. Макрофаги

презентують оброблений антиген лімфоцитам, після чого розвиваються гуморальна і клітинна імунні реакції, а в сенсibiliзованому організмі – реакції гіперчутливості негайного типу. Опосередкована дія сальмонельозного ендотоксину пов'язана з активацією синтезу простагландинів і циклічних нуклеотидів, що володіють властивостями медіаторів імунної відповіді. Велике значення має активація системи комплементу, що бере участь у регуляції фагоцитозу завдяки опсонізуючій активності її компонентів [129].

Важливою ланкою впливу ендотоксину на систему імунного захисту є його дія на клітинні об'єкти. Специфічні рецептори до ендотоксину виявлені в цитоплазматичній мембрані макрофагів, лімфоцитів, тромбоцитів та деяких інших клітин [216]. Компонентом, відповідальним за стимуляцію макрофагів, є ліпід А, що зв'язується з гліцерофосфатидами (CD14) на поверхні перитонеальних і купферовських клітин [248].

На думку інших авторів, процес зв'язування ендотоксину з мембраною має неспецифічний характер, однак, після інтерналізації ліпиду А він вступає у взаємодію зі специфічним цитоплазматичним рецептором, що є продуктом $1ps^n$ -гена. Комплекс рецептор – ліпід А діє як ДНК-зв'язувальний ліганд, активує процес транскрипції специфічних сегментів ДНК, що, у свою чергу, активує транскрипцію специфічної мРНК і трансляцію негістонних хромосомних білків, які стимулюють клітинний метаболізм, синтез монокінів. Виявлено, що ліпополісахарид *E.colli*, трансформований у макрофагах, володіє в 10-100 разів більшою імуотропною активністю (стимуляція утворення інтерлейкіну-1, мітогенна дія на В-клітини), ніж ліпополісахарид, що не вступає у взаємодію з макрофагами [245].

Пряма дія ендотоксинів здійснюється за рахунок ліпиду А, що входить до складу бактеріальної стінки. Доведено, що він спроможний викликати активацію макрофагів і системи комплементу (альтернативний шлях) та підсилювати міграцію В-лімфоцитів із маргінальної зони в фолікули селезінки. Проте головна дія ендотоксину реалізується в лімфоїдній системі через простагландини і циклічний аденозинмонофосфат, які відносять до групи речовин, що володіють

властивостями медіаторів імунної відповіді [35]. Лімфоцити мають рецептори до простагландинів E_1 , E_2 , $F_{2\alpha}$. Кількість клітин, які сприймають простагландини, зростає після антигенної стимуляції, що супроводжується збільшенням генерації циклічного аденозинмонофосфату і прискоренням диференціювання протимоцитів і про-В-лімфоцитів у зрілі популяції цих клітин [124].

Простагландини беруть участь у регуляції імунної відповіді переважно на ранній стадії активації лімфоцитів і макрофагів. Вони здійснюють супресорну дію, контролюють таким чином диференціювання, проліферацію і деякі функції Т-клітин. Простагландини E_1 і $F_{2\alpha}$ пригнічують активацію Т-лімфоцитів. Простагландин E_2 є сильним інгібітором Т-лімфоцитів і реалізує свою дію за допомогою двох механізмів: гальмує продукцію інтерлейкіну-2 Т-лімфоцитами та активує Т-супресори [148]. Пригнічення синтезу простагландинів призводить до підсилення клітинної імунної реакції. Простагландини серій E та F діють на В-лімфоцити, беручи таким чином участь у регуляції синтезу антитіл [144].

Макрофаги забезпечують презентацію ендотоксину Т-лімфоцитам-хелперам. Важливе значення в цьому процесі має здатність ліпополісахариду стимулювати секрецію макрофагами інтерлейкіну-1, що активує стимульовані антигеном Т-хелпери. Одночасно синтезується колоніестимулювальний фактор макрофагів, що активує секрецію інтерферону. Останній посилює відповідь організму на ендотоксин [168].

У більшості випадків, при додаванні до культури макрофагів *in vitro*, ліпополісахариди стимулюють макрофагальний ендоцитоз [173], а при уведенні в організм збільшують кліренс неорганічних тест-часток або мікробних тіл системою мононуклеарних фагоцитів [175]. Існує залежність між дозою ліпополісахариду і характером змін фагоцитозу: малі дози викликають двофазне підвищення кліренсу вугілля з крові лабораторних тварин із піками через 2,5 і 48 годин після уведення, великі дози спочатку пригнічують елімінуючу функцію макрофагів, а потім тривалий час стабільно стимулюють її [178]. Активація фагоцитозу під впливом ліпиду А супроводжується зміною метаболізму макрофагів із підвищенням викиду й активності кислої фосфатази,

N-ацетилглюкозамінази і β -глюкуронідази [190]. Стимуляція фагоцитарної і метаболічної активності значною мірою визначає здатність ліпополісахариду підвищувати антимікробні функції фагоцитів. Протективний ефект ліпиду А при різних інфекціях підтверджується численними експериментальними та клінічними спостереженнями [196].

В останні роки значно розширилось уявлення про роль макрофагів у механізмах імунного захисту [199]. Виділяють декілька етапів їх участі в імунній відповіді: 1) безпосереднє поглинання та знищення мікроорганізмів; 2) презентація антигенів мікроорганізмів лімфоцитам з одночасною активацією останніх; 3) виділення цитокінів, що змінюють стан імунної системи; 4) розщеплення піноцитованих імунних комплексів.

Активация макрофагів відбувається за участі ендотоксину, пептидогліканів, а також цитокінів, джерелом яких є Т-лімфоцити $CD4^+$ та $CD8^+$. У цьому напрямку найбільш вивчені два фактори: γ -1Ф та інтерферон, фактор, що пригнічує міграцію макрофагів, підвищує їх адгезивні властивості. Фактор, що пригнічує міграцію макрофагів, стимулює експресію макрофагами білків гістосумісності, збільшує генерацію H_2O_2 та NO^- , яким притаманні мікробіоцидні та цитолітичні ефекти. Макрофаги виділяють хемотаксичний фактор ІЛ-8, що залучає в запальний процес інший вид фагоцитів – нейтрофіли [219].

Ліпополісахариди є сильними активаторами секреторної діяльності макрофагів. Lemaire G., Tenu J.R. (1985) запропонували наступну класифікацію монокінів, емісія яких зростає під впливом ліпополісахаридів:

1. Медіатори, що впливають на активність імуноцитів (включно з макрофагами) та інших клітинних популяцій (інтерлейкін-1, фактор активації В-клітин, фактор активації мононуклеарів, фактор активації фібробластів, колонієстимулювальний фактор, інтерферон, арахідонати, цитотоксини тощо).

2. Медіатори запалення (ейкозаноїди, інтерлейкін-1, фактор некрозу пухлин).

3. Ферменти і чинники, що впливають на функцію сполучної тканини (колагеназа, аргіназа, інгібітор ліпопротейінової ліпази, фактор з інсулінподібною

активністю тощо).

4. Фактори, що безпосередньо беруть участь в імунному захисті (фібрoneктин, білки комплементу).

Ліпополісахариди, мабуть, є потужними індукторами синтезу і секреції інтерлейкіну-1 – ключового медіатора імунної системи. Генерація інтерлейкіну-1 зростає в присутності інтерферону, що підвищує чутливість макрофагів до ліпополісахариду і колонієстимулювального фактора [227]. Інтерлейкін-1 збільшує синтез інтерлейкіну-2 Т-лімфоцитами, простагландинів та металопротеїнів фібробластами, інтерлейкіну-6 та колонієстимулювального фактора мезенхімальними та епітеліальними клітинами [223]. Внутрішньовенне уведення ліпополісахариду мишам призводить до швидкого підвищення інтерлейкіну-6, яке досягає пікової величини через 2 год у селезінці і через 3 год у кістковому мозку [234]. Доведено, що інтерлейкін-1 посилює функції макрофагів синергічно з іншими цитокінами або з ліпополісахаридом [244].

Збільшення синтезу колонієстимулювального фактора пояснюють здатністю ліпиду А стимулювати процеси колонієутворення, у тому числі ріст макрофагальних колоній і проліферативну активність макрофагів. Ліпополісахариди забезпечують виділення макрофагами ендogenous фактора, що підсилює синтез колонієстимулювального фактора В-клітинами. Водночас, при додаванні ліпиду А до культури зрілих макрофагальних елементів відбувається блокада проліферативної активності та підсилення процесів термінального диференціювання [238].

Ендотоксин підвищує протипухлинну активність макрофагів: після обробки *in vitro* ліпополісахаридом E.colli макрофаги проявляли чітку кілерну активність щодо пухлинних штамів клітин, але не впливали на життєздатність нормальних сингенних клітин. Парентеральне уведення ліпополісахариду запобігає розвитку неоплазми і сприяє регресії вже розвиненої пухлини [247]. Ліпополісахариди збільшують утворення цитокінів, що беруть участь у протипухлинному захисті. У сироватці крові тварин, стимульованих ендотоксином, виявляється фактор некрозу пухлин α , який викликає геморагічний некроз пухлини, а *in vitro* – лізис

неопластичних клітин [241]. Внутрішньовенне уведення ендотоксину підвищує вміст фактора некрозу пухлин у плазмі крові через 0,5 год, який сягає максимуму через 2 год з наступним поверненням до початкового рівня через 4 год [220].

Ліпополісахарид і мураміддипептид окремо і в комбінації стимулюють синтез цитотоксичних факторів макрофагами і лімфоцитами мишей, мають синергічну дію на генерацію цитотоксичних факторів та інтерлейкіну-1 [26, 20].

Взаємодія ліпополісахариду з поліморфноядерними лейкоцитами (ПМЛ) розглядається як важлива ланка захисту організму від інфекцій. У нормі є резерви зв'язування ендотоксину, які реалізуються ПМЛ за допомогою Fc-залежного механізму [23]. Це є важливою ланкою протиендотоксिनного захисту та резистентності організму до умовно патогенної грамнегативної мікрофлори. Кількість ПМЛ, здатних зв'язувати ліпополісахарид, значно підвищується при імунізації корпускулярною вакциною з Re-мутанта. Доведено, що під впливом ліпиду А пригнічується продукція фактора некрозу пухлин ПМЛ, тоді як за дії цілісного організму бактерій відбувається стимуляція його синтезу [111].

Встановлена здатність ендотоксину стимулювати антитілогенез в імунізованих тварин (ад'ювантність дії ліпополісахариду спостерігається лише у випадку уведення його одночасно з антигеном або після нього), а також пряма мітогенна дія на В-клітини з позитивною активацією В-лімфоцитів [114].

Мітогенний ефект ліпополісахариду на В-клітини не потребує участі Т-клітин і макрофагів, хоча в присутності допоміжних клітин він виражений сильніше. Активовані ліпополісахаридом В-лімфоцити здатні синтезувати IgM та IgG: через 60 год після внутрішньовенного уведення мишам 10 мкг ліпополісахариду E.colli кількість IgM-бляшкоутворюючих клітин у селезінці збільшується майже в 20 разів, а через 110 год кількість IgG2a- та IgG2b-бляшкоутворюючих клітин зростає у 30-40 разів [1].

Рецепторний механізм клональної експансії В-клітин під впливом ліпополісахариду полягає в тому, що ендотоксин-рецепторний комплекс В-клітин зумовлює послідовний ланцюг подій, які призводять до експресії відповідних lуб-антигенів, дозрівання і диференціювання В-лімфоцитів [3].

Поліклональна активація виникає за безпосереднього впливу ендотоксину на В-лімфоцити, а для ад'ювантного ефекту ліпополісахариду в процесі імунної відповіді на антигенну стимуляцію необхідна участь Т-клітин і макрофагів [7].

Можлива як пряма активація Т-хелперів ліпополісахаридом, так й ендотоксинзалежне підсилення процесів кооперації між Т-хелперами і В-клітинами. Інкубація клітин селезінки безтимусних мишей або мишей, оброблених анти-Т-сироваткою в присутності тимусзаміщуючого фактора, ліпополісахариду й еритроцитів барана, характеризувалася вищим від очікуваного при простому адитивному ефекті рівнем імунної відповіді. Це спостерігалось винятково за наявності антигену. Можливо, що ліпополісахариди заміщують Т-хелперний фактор, але не мають високої антигеноспецифічності [142].

З іншого боку, високі дози ендотоксину знижують імунну реактивність. Реалізація супресорної активності ендотоксину щодо гуморальної імунної відповіді здійснюється за різними механізмами, включаючи як макрофагальну, так і Т- та В-клітинну супресію. Ліпополісахариди генерують клон антигенспецифічних супресорів, які блокують процес кооперації між В-клітинами і Т-хелперами. Індукована *in vitro* Т-клітинна супресія імунної відповіді усувається видаленням Т-клітин з культури з наступною заміною їх Т-клітинами тварин, що не одержували ліпополісахарид. Не виключено, що ендотоксин, викликаючи поліклональну активацію В-клітин, індукує проліферацію клона В-супресорів, що виробляють відповідний супресорний фактор.

Gallahon R., Michalec S. (1983) запропонували концепцію імуномодулюючої дії ендотоксину грамнегативних бактерій, згідно з якою регулююча дія ліпополісахариду опосередкована Т-клітинами, що контролюють відповідь В-лімфоцитів на ліпополісахарид і запобігають надмірній стимуляції В-клітин з боку існуючих в навколишньому середовищі ендотоксинів. У свою чергу, ендотоксини грамнегативної мікрофлори, що знаходяться в кишечнику, впливають на інтенсивність імунної відповіді на антигени, які надходять перорально. Одним із проявів цієї взаємодії є регуляція синтезу IgA в лімфоїдній тканині, асоційованої з кишечником, і стимуляція супресорів, які регулюють

системну відповідь на антигени. Отже, висока чутливість імунної системи до ліпополісахариду має глибоку філогенетичну основу і зв'язана з процесом взаємодії макроорганізму з грамнегативною мікрофлорою кишечника.

Бактеріальні ендотоксини зв'язуються в організмі з більшістю лімфоїдних клітин, зокрема з Т-лімфоцитами [41]. Вплив ліпополісахариду на Т-клітинні функції вивчено значно менше. Як вже відзначалося, ліпополісахариди здатні індукувати проліферацію Т-лімфоцитів як з хелперною, так і з супресорною активністю. Модулюючий ефект ліпополісахариду на Т-систему значною мірою опосередкований через макрофаги (в основному, через інтерлейкін-1 та ейкозаноїди) [56]. Отримані дані, що підтверджують можливість прямого впливу ліпополісахариду на Т-клітини, та виявлена здатність Т-лімфоцитів взаємодіяти з певними антигенними детермінантами на молекулі ліпополісахариду [80], доведений прямий мітогенний ефект ліпополісахариду на Т-лімфоцити [209]. Як і у випадку гуморальної відповіді, спрямованість ефектів ліпополісахариду щодо Т-клітинних феноменів визначається дозовим і часовим факторами: уведення в змішану культуру лімфоцитів ендотоксину *E.colli* в дозі 5 мкг/мл підсилювало генерацію цитотоксичних Т-лімфоцитів, тоді як використання більш високих доз (25-100 мкг/мл) затримувало їх утворення [212]. Супресорні клітини, що пригнічують активність цитотоксичних лейкоцитів у змішаній культурі лімфоцитів, індукуються при уведенні ендотоксину в ранній термін культивування. Уведення ліпополісахариду через 48 год від початку культивування відновлює генерацію цитотоксичних лейкоцитів [221]. Подібна закономірність є характерною і для реакцій гіперчутливості сповільненого типу [224].

Таким чином, ліпополісахариди грамнегативних бактерій мають широкий діапазон імунотропних властивостей – від потужної стимуляції до депресії імунної відповіді. Вони є на сьогоднішній день найбільш сильними модуляторами імунної реактивності серед природних і синтетичних сполук. Імунотропний ефект ендотоксину характеризується переважно позитивною спрямованістю. Особливо чітко імуностимульовальна активність ліпополісахариду виявляється щодо макрофагів, що визначає основний аспект застосування ліпополісахаридів, як

стимуляторів неспецифічної резистентності організму. Вплив ліпополісахаридів на В- і Т-клітинні функції значною мірою визначається часом уведення ліпополісахариду відносно антигенного стимулу з переважною участю тих чи інших клітинних популяцій у реалізації та індукції імунної відповіді (макрофаги, Т-хелпери, Т-супресори). Впливи ендотоксину на імунну реактивність залежать і від медіаторів, вивільнення яких зростає під дією ліпополісахариду (наприклад, ейкозаноїди та інтерлейкін-1) і які впливають на імунокомпетентні клітини. Такі ефекти ліпополісахариду дозволяють розробляти підходи до диференційованого впливу на систему імунітету. Пошук малотоксичних, імунологічно активних ліпополісахаридів (зокрема, з максимальним селективним ефектом щодо окремих популяцій і субпопуляцій імунокомпетентних клітин) відкриває перспективи для створення нових імуномодуляторів [23].

1.2. Сучасні уявлення про патогенез порушення активності факторів системи гемостазу ендотоксином грамнегативної мікрофлори

Серед численних біологічних реакцій організму на проникнення в його внутрішнє середовище бактеріального ендотоксину порушення в системі гемостазу відіграють дуже важливу роль.

Активація системи гемостазу при ендотоксикозі може бути обумовлена впливом бактеріального ендотоксину на тромбоцити, судинний ендотелій, комплемент, макрофаги, обмін біогенних амінів, на гуморальні фактори згортання крові й одночасно затруднення інактивації останніх внаслідок блокади фагоцитарно-моноцитарної системи.

Тромбоцити є основним клітинним об'єктом патогенної дії ендотоксинів, що потрапили в кров'яне русло. Безпосередня дія ліпополісахариду менінгокока, сальмонели тифімуриум на кров'яні пластинки донорів *in vitro* дозволила виявити деякі закономірності дії токсину на морфофункційні властивості тромбоцитів. Помірні дози ендотоксину (0,1-10 мкг) і короткий час їх дії активували тромбоцити, причому з підвищенням дози їх агрегаційна та секреторна здатність посилювались. Більш високі концентрації (100-200 мкг) та більш тривалий час

інкубації тромбоцитів із токсином пригнічували функційну активність кров'яних пластинок [116].

Підтвердженням цього є наступні факти: 1) при ендотоксемії у тварин і в людей різко знижується вміст тромбоцитів у периферичній крові, що поєднується з появою тромбоцитарних агрегатів у дрібних судинах різних органів; 2) відтворення у тварин тромбоцитопенії запобігає розвитку генералізованого феномена Шварцмана; 3) мічені ендотоксини, уведені в кров, зв'язуються в основному з тромбоцитами; 4) *in vitro* відбувається пряма взаємодія ендотоксинів із тромбоцитами [126].

Насамперед цікавий сам факт прояву вираженого тропізму бактеріального ендотоксину до тромбоцитів: протягом декількох хвилин понад 90 % уведеного в кровотік ендотоксину зв'язується з кров'яними пластинками. У результаті цієї взаємодії тромбоцити зникають із кров'яного русла, що реєструється вже в перші хвилини після ін'єкції ендотоксину у тварин різних видів. При внутрішньовенному уведенні кролям ендотоксину спостерігалася залежно від дози зниження кількості тромбоцитів у венозній крові, причому максимальні зміни фіксуються через 2 і 5 хв після ін'єкції [106]. До 15-ї і 30-ї хв відбувалося часткове відновлення числа пластинок, мабуть, за рахунок розпаду утворених у судинах агрегатів, а також надходження тромбоцитів з кісткового мозку. При великій дозі ендотоксину спостерігалася вторинна тромбоцитопенія. Подібна двофазна реакція відбувається також у щурів.

In vitro проведені численні експерименти з тромбоцитами, отриманими від різних видів тварин і людини. Можливість прямої реакції тромбоцитів і ендотоксину визначається наявністю на їхній мембрані відповідних рецепторів. Завдяки цьому відмиті тромбоцити зберігають здатність взаємодіяти з ендотоксином. Один з наслідків цієї взаємодії – реакція вивільнення [79].

Електронно-мікроскопічним дослідженням виявлено прилипання до тромбоцитів часток ендотоксину (ліпополісахариду), виготовленого за методом Буавена і уведеного експериментальним тваринам. При цьому спостерігалася руйнування цитолемі тромбоцитів під дією лізосомальних ферментів. У цьому

феномені основна роль належить системі комплементу, тому що видалення її компонентів призводило до гальмування прилипания часток ліпополісахариду до тромбоцитів і дегрануляції останніх. Результатом впливу ендотоксину на тромбоцити є їх агрегація і запуск реакції вивільнення. Іншим важливим ефектом ендотоксину є синтез простагландинів, зокрема, тромбоксан A_2 , здатного посилювати агрегацію і реакцію вивільнення. Наявність арахідонової кислоти в зразках багатій тромбоцитами плазми стимулює агрегацію тромбоцитів за участі як АДФ, так і ендотоксину [147].

У багатьох експериментальних роботах отримано докази участі в реакції тромбоцитів на ендотоксин системи комплементу, яка активується за класичним та альтернативним шляхами. Уведення кролям фактора кобри, що призводить до зниження в крові рівня фракції С3 і інших фракцій комплементу, запобігає розвитку тромбоцитопенії при наступній ін'єкції ендотоксину. Подібні результати виявлені в щурів із дефіцитом фракції С6, а також у морських свинок із дефіцитом фракції С1 [151].

Під дією ендотоксину ушкоджується ендотелій кровоносних судин. Морфологічні зміни ендотеліальних клітин відбуваються дуже швидко після уведення ендотоксину в кров'яне русло. Вони полягають у набряку ендотелію з наступним роз'єднанням клітинних сполук, оголенням базальної мембрани; в ряді випадків пошкодження клітин завершується їх некрозом. Описані зміни є наслідком формування тромбоцитарних агрегатів, виходу фібриногену в інтерстиційний простір і екстравазацією еритроцитів [152]. Однак в умовах цілісного організму важко визначити – вплив ендотоксину на ендотелій безпосередній чи опосередкований різними гуморальними і клітинними чинниками. Про прямі ефекти ендотоксину може свідчити той факт, що пошкодження ендотелію артеріальних стінок виникає внаслідок відкладання в них фібрину. З іншого боку, утворення тромбів у дрібних судинах викликає ішемію судинної стінки і вторинне пошкодження ендотелію. Поява ендотеліальних клітин у кров'яному руслі – також результат залучення цих елементів у розвиток судинних змін при ендотоксикозі.

Прямі й опосередковані біогенними амінами та іншими медіаторами зміни ендотелію при ендотоксикозі створюють умови для активації фактора Хагемана, що є тригерним механізмом стимуляції гуморальної системи гемостазу, кінінової і фібринолітичної систем. З іншого боку, активований ендотоксином судинний ендотелій здатен виділяти простациклін – сильний вазодилататор і антиагрегант [174].

Можливо також, що механізми пошкоджувальної дії ендотоксину на клітини ендотелію опосередковуються через поліморфноядерні лейкоцити. Результат взаємодії ендотоксину з лейкоцитами і властивості гранулоцитів, які індуковані ліпополісахаридом, залежать від концентрації ендотоксину: при низьких концентраціях має місце активація і позитивний (фізіологічний) ефект, при високих – гіперактивація, перевантаження лейкоцитів ендотоксином і патологічний ефект (розвиток органопатології). При гіперактивації гранулоцитів і їх зруйнуванні відбувається викид великої кількості ферментів, зокрема еластази та інших лізосомальних ферментів, які мають пошкоджувальну дію на клітини ендотелію [169]. Під впливом ліпополісахариду в гранулоцитах активуються ферменти перекисного окиснення ліпідів, кінцеві продукти якого можуть викликати пошкодження ендотелію. Альтернативний ефект ендотоксину може бути реалізований також і через систему комплементу – це ще один із механізмів дії ліпополісахариду на ендотелій. На поверхні клітин ендотелію знаходиться фібронектин, який відіграє важливу роль у взаємодії клітина-клітина і в прикріпленні клітини до підшару [181]. При системній ендотоксемії фібронектин плазми може руйнуватися лейкоцитарними протеазами і витрачається в якості опсоніну, що може призводити до його вимивання з поверхні клітин ендотелію і їх злушення. Після уведення ендотоксину клітини ендотелію виявляються в кровотоці у 88 % експериментальних тварин, тоді як до уведення ендотоксину вони знаходилися лише у 12 % здорових тварин. Ендотоксин викликає пошкодження ендотелію, стимулює потім репарацію цих пошкоджень шляхом активації синтезу ДНК і поділу клітин ендотелію в пошкоджених ділянках. Виникнення локальних пошкоджень ендотелію і підвищення проникності судин

можуть викликати накопичення ліпідів і ліпопротеїнів у підендотеліальному шарі і збільшення кількості гладеньком'язових клітин [187]. Ці ліпопротеїни підвищують токсичність ліпополісахариду за рахунок формування комплексів між окисненими формами ліпопротеїнів низької питомої щільності і ліпополісахариди, при взаємодії з скевенджер-рецепторами, легко проникають у клітини і викликають їх загибель. При цьому необхідно враховувати, що окисненні форми цих ліпопротеїнів самі по собі токсичні для клітин, особливо для проліферуючих, а ендотоксин стимулює викид ферментів, що окислюють ліпопротеїни низької щільності [192].

Відомо, що через 3 год після уведення мишам, сальмонельозний ендотоксин можна виявити в ендотелії капілярів печінки, легень, тонкої кишки і нирок. Встановлено, що в ранній термін після уведення ендотоксину пошкоджуються тромбоцити і поліморфноядерні лейкоцити, а зміни в ендотелії виявляються вже після випадіння депозитів фібрину, тобто є вторинними (результат гіпоксії, що розвивається). Ушкодження ендотеліальних клітин веде до серйозних наслідків. По-перше, відбувається гальмування синтезу простагліну (простагландину I₂) і простагландинових ендоперекисів, що виробляються судинною стінкою і є сильними (особливо простаглінін) інгібіторами агрегації тромбоцитів [75]. По-друге, ушкодження ендотелію викликає контактну активацію фактора Хагемана [259].

Таким чином, ендотоксин впливає одночасно на обидва компоненти згортальної системи крові – ендотелій судин і тромбоцити. При цьому реалізується цитотоксична дія цієї сполуки, що виявляється ушкодженням клітин, а також здатність ліпополісахариду й, особливо, найбільш активної складової останнього – ліпіда А – вступати в хімічні реакції з простагландиновими компонентами згортальної системи крові. При цьому порушується рівновага складної динамічної системи, що забезпечує рідкий стан крові і функціонує на межі контакту тромбоцита із судинною стінкою. З одного боку, діє потужний індуктор агрегації тромбоцитів тромбоксан, з іншого – простаглінін – найбільш активний із відомих інгібіторів агрегації. Цей механізм значною мірою визначає

нетромбогенність інтактного ендотелію. У нормі переважає простацикліновий, а в патології – тромбоксановий метаболізм арахідонової кислоти [244].

Ендотоксини здатні прямо чи опосередковано активувати фактор Хагемана, а через нього – внутрішню систему згортання крові. Активація фактора Хагемана може бути наслідком низки взаємопов'язаних процесів: безпосередньої активації XII фактора взаємодією з ліпополісахаридом, зокрема з ліпідом А; контакту XII фактора з оголеною субендотеліальним підшарком судинної стінки; активуючого впливу кислих мукополісахаридів, які виділяються внаслідок патогенної дії ендотоксину на лейкоцити і тканинні елементи; активації фактора Хагемана сприяє спазм артеріол, який виникає внаслідок посиленої секреції катехоламінів та кортикостероїдів; прямої стимуляції фактора Хагемана надлишком катехоламінів; стимуляції фактора Хагемана калікреїном і фібринолізином, які первинно активуються при бактеріальній інтоксикації; пригнічення едотоксином активності АТФ-ази – сильного інгібітора XII фактора [87].

In vivo отримані докази зв'язування ендотоксину з фактором Хагемана. Так, при використанні високоочищених препаратів XII фактора, отриманого з крові людини, показано, що бактеріальний ендотоксин, і рівною мірою виділений з нього ліпід А, утворюють комплекси з фактором Хагемана. Передбачається, що фактор зв'язується з негативно зарядженою часткою ліпополісахариду, зокрема з фосфатними групами, що входять до складу ліпиду А [91].

Ендотоксин може і безпосередньо активувати фактор Хагемана. Активованій фактор Хагемана здатний активувати 3 інших протеолітичних ферменти плазми крові. Калікреїн, що утвориться під дією фактора Хагемана з прекалікреїну, викликає звільнення брадикініну, який має судинорозширювальну дію. Активацію калікреїн-кінінової системи після уведення ендотоксину розглядають як доказ активації фактора Хагемана безпосередньо ендотоксином. Одночасно активується система комплементу і плазміноген-плазміну. Отже, одночасно з активацією згортальної системи крові під дією ендотоксину через фактор Хагемана активується протизгортальна система [101].

Опосередкований вплив ендотоксину на згортальну систему крові

обумовлено активацією синтезу простагландинів, що беруть участь у регуляції згортальної та протизгортальної систем крові, а також ушкодженням поліморфноядерних лейкоцитів і макрофагальної системи. Останні фагоцитують розчинні комплекси фібрину [136].

Участь зовнішньої підсистеми гемостазу в патогенезі ендотоксикозу також не викликає сумнівів. Вона запускається тканинним тромбoplastином, синтез якого в багато разів зростає в активованих ендотоксином моноцитах, у клітинах ретикулярної сітки селезінки, печінки й інших органів [11].

Отже, при дії ендотоксину в організмі активується внутрішній і зовнішній механізми коагуляційного гемостазу, що разом із клітинним, зокрема його тромбоцитарною ланкою, призводить до розвитку синдрому дисемінованого внутрішньосудиного згортання крові (ДВС-синдром).

При уведенні ендотоксину в тварин різних видів виявляються всі основні клінічно-лабораторні і морфологічні критерії розвитку ДВС-синдрому: зниження в крові рівня фібриногену й антитромбіну III, наростання розчинних комплексів фібрин-мономерів і тканинного тромбoplastину зі зниженням вмісту протромбіну. Одночасно фіксується відкладення фібрину в легенях, печінці, селезінці й особливо в ниркових клубочках. Особливе значення надається пригніченню антизгортальних механізмів, зокрема ключового фактора – антитромбіну III [18].

За нормальних умов механізм гемостазу регулюється двома протилежними системами – згортальною та протизгортальною, а також підтримується завдяки вчасному кліренсу активованих факторів тієї або іншої системи. Порушення цього балансу може бути досягнуто різними шляхами. Активація XII фактора є пусковим моментом внутрішньої підсистеми згортання крові з одночасним запуском калікреїн-кінінової та фібринолітичної систем. Надходження в кровотік тромбoplastичних субстанцій із активованих макрофагів, пошкоджених тканин призводить до активації підсистеми гомеостазу. Контакт тромбоцитів із пошкодженою стінкою капілярів, а саме з субендотеліальним колагеновим шаром спричиняє адгезію тромбоцитів до колагену з наступною їх агрегацією.

Тромбоцити можуть безпосередньо підлягати дії агрегуючих факторів у кровотоці, при цьому паралельно з агрегацією запускається реакція звільнення з появою у плазмі активаторів згортання, індукторів подальшої агрегації, а також вазоактивних медіаторів [48].

Відповідно до сучасних трактувань, під ДВЗ-синдромом розуміють комплекс порушень, які виникають у системі кровообігу при генералізованій активації системи гемостазу по одному з перелічених механізмів. При ендотоксикозі можуть одночасно включатися усі вказані механізми. Необхідно враховувати, що в патогенезі ДВЗ-синдрому, в тому числі і при ендотоксикозі, важливу роль відіграє недостатність природних чинників, які перешкоджають згортанню крові: інгібіторів тромбокінази і тромбіну, а саме антитромбіну Ш, а також плазміну, зниження кліренса тромбoplastину, комплексів фібриноген-фібрин, продуктів деградації фібриногена елементами фагоцитарно-моноцитарної системи [66].

Морфологічну основу ДВЗ-синдрому складає численний мікротромбоз периферичних судин різних органів і крововиливи різної величини – від дрібних до профузних.

ДВЗ-синдром завжди спостерігається при шоках різної етіології, але він частіше носить вторинний характер і розвивається на фоні таких проявів шоку, як порушення мікроциркуляції, стаз, гіпоксичне пошкодження ендотелію капілярів, ацидоз та ін. Найчастіше синдром виникає при токсико-інфекційному шоці, оскільки є тісний взаємозв'язок і взаємообумовленість цих двох видів патології [81]. У хворих ДВЗ-синдром виявляється ще на стадії загрожуючого, але не реалізованого шоку і посилюється на фоні вказаних шоківих проявів. Основним діючим чинником виникнення синдрому при токсико-інфекційному шоці служать ендотоксини, рідше – екзотоксини. При експериментальному ендотоксикозі ДВЗ-синдром передуює порушенню гемодинаміки і змінам метаболізму в різних органах [76].

Експериментальною моделлю ДВЗ-синдрому довгий час служив феномен Санареллі-Шварцмана. Однак зовсім не обов'язково для відновлення синдрому

дотримуватися класичної схеми дворазового уведення ендотоксину, як це пропонувалося Шварцманом. Достатньо одноразової ударної дози ендотоксину або його тривалої інфузії в сумарній летальній або сублетальній дозі [75].

При ендотоксикозі виділяють кілька пускових механізмів виникнення ДВЗ-синдрому, питома вага яких може варіювати і не може бути оцінена повністю на сучасному рівні знань. Такими є: первинна агрегація тромбоцитів і звільнення ними згортальних і агрегуючих факторів, адгезія тромбоцитів до пошкодженої судинної стінки, активація фактора Хагемана, секреція протромбінази і факторів активації згортання крові макрофагами і ендотеліальними клітинами. Певний вклад вносить взаємодія ендотоксинів із комплементом і лабілізація лізосом. У результаті підвищується коагуляційний потенціал, що клінічно позначається як перша стадія – гіперкоагуляції – і маніфестується відкладанням мікротромбів у дрібних судинах [108]

Утворення внутрішньосудинних згустків проходить ферментативним шляхом за допомогою полімеризації фібрин-мономерів і наступного перетворення фібрину S у фібрин і під впливом стабілізуючого фактора (XIII А фактор). У той же час не можна виключити і неензимний шлях, при якому розчинений фібрин взаємодіє з деякими білками плазми крові, утворює високомолекулярний нерозчинний комплекс, що осідає в басейні мікроциркуляції [132]. Утворені мікротромби можуть розчинятися фібринолітичною системою або поглинатися кров'яними або тканинними макрофагами. Наступна блокада цих елементів у поєднанні з пригніченням фібринолізу призводить до того, що утворений фібрин вже не виділяється із судин і утворення мікротромбів продовжується на другій і навіть на третій стадіях ДВЗ-синдрому.

Тривалість фази гіперкоагуляції варіює в значних межах і в цілому обернено пропорційна інтенсивності цього процесу. При великій початковій дозі ендотоксину тривалість цієї фази може вимірюватися хвилинами, протягом яких велика частина тромбоцитів осідає у дрібних судинах у вигляді агрегатів, а значна кількість циркулюючого фібриногену перетворюється в згустки фібрину.

У зв'язку з тим, що дисеміноване згортання крові супроводжується

активацією фібринолітичної системи з наступним лізисом утворених мікротромбів, клінічно перша фаза може перебігати стерто, хоча і залишається більш важливим ланцюгом патогенезу ДВЗ-синдрому. Крім того, реальна гіперкоагуляція може змінюватися потенційною гіперкоагуляцією, незважаючи на настання другої і навіть третьої стадії, які характеризуються протилежними зсувами в системі гемостазу [100]. При потенційній гіперкоагуляції згортання крові вже не відбувається за виснаження цієї системи і блокади її продуктами протеолізу. Але вона може в будь-який момент відновитися, оскільки в кров можуть потрапляти нові порції ендотоксину, тромбoplastичних речовин і в кровотоці тривалий час залишаються активовані фактори згортання, зокрема тромбін. Це утворює основу для циклічності процесу, його рецидивуючого перебігу й ускладнює тактику лікування.

Друга стадія – гіпокоагуляція – обумовлена використанням тромбоцитів і факторів згортання (тромбоцитопенія і коагулопатія споживання) та виснаження їх резервів. Певну роль відіграє і та обставина, що в процесі згортання крові, фібринолізу та інших проявів протеолізу утворюються продукти розщеплення фібриногену і фібрину, інших плазмових білків, які мають антикоагулянтні властивості. Існує думка, що не слід надавати важливого значення використанню фібриногену і афібриногенемії, усунення цього дефіциту шляхом уведення екзогенного фібриногену суттєво не впливає на перебіг ДВЗ-синдрому [78].

В основі патогенезу третьої стадії ДВЗ-синдрому (геморагічної), яку нерідко об'єднують із другою стадією, лежать наступні механізми: коагулопатія споживання; активація фібринолітичної системи; пошкодження стінки капілярів; розширення дрібних судин і підвищення їх проникності під впливом вазоактивних медіаторів.

Кровоточивість є клінічною ознакою ДВЗ-синдрому. Однак у багатьох випадках, незважаючи на тяжкість перебігу синдрому, спостерігається геморагічний діатез без яскравих ознак. У цих випадках про його наявність можна судити з виникнення петехій, екхімозів у процесі неврологічного обстеження за допомогою молоточка, накладання присосок при електрокардіографії,

вимірювання артеріального тиску сфігмоманометром [71].

Інтенсивність кровотеч – від дрібних до надмірних – може варіювати в різних органах. Клінічно виявляються крововиливи в нирках, наднирникових залозах, гіпофізі, легенях, печінці, стінці шлунка і кишечника. Сильні кровотечі в порожнини тіла можуть призвести до смерті [64].

У більшості випадків спостерігається гострий перебіг ДВЗ-синдрому. Блискавичні форми нерідко трапляються при менінгококцемії. Затяжні й навіть хронічні форми виникають лише у 10 % хворих [228].

Лабораторну діагностику ДВЗ-синдрому взагалі і при ендотоксикозі зокрема вивчало багато дослідників; при цьому їх зусилля були спрямовані в основному на виявлення коагулопатії споживання. Необхідна динамічна комплексна оцінка різних фаз ДВЗ-синдрому, їх особливостей у зв'язку з динамікою надходження ендотоксину із первинного вогнища в кровотік, сумарною дозою отрути, специфікою самого інфекційного процесу, який ускладнюється ендотоксикозом. Доцільно в практичному відношенні диференціювати реальну або потенційну гіперкоагуляцію, гіпокоагуляцію і геморагічний діатез [65].

Одним із ранніх показників гіперкоагуляції служить підвищення вмісту в крові розчинного фібрину або фібрин-мономерів, що виявляється за допомогою етанолового або протамінсульфатного тестів. Етаноловий тест дає можливість виявити великі концентрації фібринмономерів: він специфічний і для фрагмента X комплексу фібрину і фібриногену і продуктів деградації фібрину – фібриногену, виявлення яких можливе за допомогою імунологічного або стафілококового клампінг-тесту. Можлива диференціація ранніх фрагментів – X і У - за даними тесту склеювання стафілококів і кінцевих фрагментів – d і e за даними імунологічного тесту.

Підвищений вміст комплексів фібринмономерів і продуктів деградації фібриногена свідчить про активацію ферментів системи гемостазу – тромбіну і плазміну. Збільшення в'язкості крові внаслідок появи в кровотоці високомолекулярних продуктів може призвести до порушення мікроциркуляції

навіть без утворення мікротромбів [63].

Важливе значення має динамічний контроль кількості тромбоцитів у периферичній крові. Оскільки тромбоцити є об'єктом безпосередньої дії ендотоксину, рання тромбоцитопенія служить патогномонічною ознакою ендотоксикозу. Одночасно вона є одним із головних проявів коагулопатії споживання. Лабораторними тестами активації тромбоцитів можуть служити поява в плазмі крові III і IV факторів тромбоцитів, вільного серотоніну і ріст концентрації компонента альфа-гранул-бета-тромбоглобуліну [61].

На ранній стадії шоку численні тромбоцитарні тромби або емболи утворюються в різних органах, переважно в легенях [28]. У процесі подальшого розвитку шоку роль тромбоцитів порівняно з плазмовими факторами знижується, хоча вони продовжують виділяти III і IV фактор, обумовлюючи поряд з іншими плазмовими факторами потенціальну гіперкоагуляцію. Зниження агрегаційної здатності тромбоцитів, виділених від хворих або отруєних ендотоксином тварин, може бути помилково інтерпретовано як пригнічення функцій тромбоцитів під впливом ендотоксину. Насправді внаслідок елімінації із кровотоку найбільш активних тромбоцитів і осідання їх у капілярах різних органів, а також звільнення ними біологічно активних продуктів, тромбоцити, які залишилися в циркуляції, втрачають здатність в умовах *in vitro* до повноцінної реакції на дію агрегуючих агентів: аденозиндифосфату, колагену, адреналіну або того ж ендотоксину. При цьому реальна гіпоагрегація може поєднуватися з потенційною гіперагрегацією, яка виділяється за допомогою методики “перенесення” [34]. Про використання основних субстратів згортання крові – факторів V, VIII, X, фібриногену – свідчить подовження активованого часткового тромбопластинового часу, гіпофібриногенемія, зниження індексу тромбодинамічного потенціалу тромбоеластограми, а також зміна інших її показників. Позитивна проба переноса по Рабі на тромбоеластографі підтверджує наявність потенційної гіперкоагуляції в другій фазі ДВЗ-синдрому [9].

Важливим діагностичним критерієм синдрому незалежно від етіологічного чинника і форми є вміст у плазмі основного фактора протизгортальної системи –

антитромбіну Ш. Зниження його рівня внаслідок використання, а на більш пізніх стадіях і порушення функції печінки, лежить в основі недостатності ефективності гепаринотерапії, оскільки антитромбін Ш є його кофактором [106]. Інші дослідники надають важливого значення зниженню толерантності плазми до гепарину, зменшенню рівня протромбіну в плазмі крові [52]. В усіх хворих відмічалися клінічні і лабораторні показники, характерні для ДВЗ-синдрому. Летальність хворих складала близько 60 %. Автори вважають прогностично несприятливими прогресуючу тромбоцитопенію, стійке зниження антитромбіну Ш і плазміногену, які проявляються зростанням рівня продуктів деградації фібриногену [258]. При сприятливому завершенні шоку ці показники нормалізувалися.

1.3. Роль цитокінів у регуляції неспецифічної реактивності та імунної відповіді лімфоцитів

За нормальних умов цитокіни, що утворюються в первинній імунній відповіді, практично не надходять у кровотік – у сироватці крові може бути присутня лише незначна кількість цитокінів, недостатня для прояву їх системних ефектів. Навіть за порушення механізмів, що обмежують поширення цитокінів в організмі, (наприклад, при введенні екзогенних цитокінів у кров), тривалого їх накопичення у кровотоці не спостерігається внаслідок дуже високої інтенсивності їх ниркового кліренсу. Елімінація цитокінів підпорядковується двоетапній кінетиці. При цьому основна маса цитокінів виводиться під час першого етапу, зазвичай того, який реалізується впродовж декількох хвилин: для ІЛ-1 $T_{1/2}$ швидкоскладаючої дорівнює 1,9 хв, повільної – 41,1 хв, для ІЛ-2 – відповідно 5-7 та 30-120 хв [161].

Однак, при інтенсивних і довготривалих запальних процесах у крові, а також локально, у вогнищі запалення, накопичуються прозапальні цитокіни (ІЛ-1, TNF- α , ІЛ-6) [32, 140]. В організмі існують різноманітні механізми, що запобігають виходу цитокінів за межі місця їх утворення, а в разі надходження цитокінів у кровотік відбувається їх швидке видалення через нирки. Це

забезпечує локальний характер дії цитокінів за нормального перебігу запальних та імунних процесів.

Встановлено, що ІЛ-1 за різних патологічних процесів має виражену амбівалентну дію на нейтрофіли. Уведення рекомбінантного ІЛ-1 під шкіру викликає локальну акумуляцію нейтрофілів, а системне застосування ІЛ-1 зумовлює двофазну гостру лейкоїдну реакцію, перший етап якої характеризується тимчасовою лейкопенією внаслідок внутрішньосудинної адгезії нейтрофілів, а другий – нейтрофільним лейкоцитозом через вивільнення депонованих форм поліморфноядерних лейкоцитів [155].

На внутрішньоклітинному рівні регуляції метаболічних процесів ІЛ-1 сприяє мобілізації вільного і зв'язаного з мембранами кальцію та активує біосинтез лейкотрієнів. Водночас, ІЛ-1 не має ефекту нейтрофільного хемотаксису і не здатний стимулювати респіраторний вибух нейтрофілів. Продукція супероксиданіону в останніх збільшується лише за поєднаного впливу ІЛ-1 та активаторів протеїнкінази С. Обробка нейтрофілів рекомбінантним ІЛ-1 *in vitro* значно знижує їх здатність до адгезії [261].

Активує нейтрофіли TNF- α , дія якого залежить від синтезу білків та нуклеїнових кислот [267]. Реакції зрілих нейтрофілів на TNF- α можна поділити на дві категорії: ранні та пізні. Більшість реакцій нейтрофілів на TNF- α (вплив на фагоцитоз, хемотаксис, міграцію, адгезію, дегрануляцію, продукцію активних форм кисню (АФК)) належить до пізніх, тобто таких, які відбуваються через 2-3 год [249]. До ранніх (що виникають у перші 10 хв) належать ліганд-рецепторна взаємодія ФНП α , активація протеїнкіназ та фосфорилування специфічних білків із молекулярною масою 64 кД, а також вивільнення арахідонової кислоти. Під впливом TNF- α нейтрофіли синтезують лейкотрієн B₄ [221]. Біосинтез лейкотрієнів відіграє важливу роль у подальшій нейтрофільній реакції, оскільки саме інгібітори ліпоксигенази, а не циклооксигенази пригнічують активацію нейтрофілів, опосередковану TNF- α [250].

Феноменальним є стимулювальний вплив TNF- α на інтенсивність вивільнення АФК адгезованими нейтрофілами: оптимальна молярна концентрація

цього цитокіну на 3-5 порядків нижча, а вивільнення пероксиду водню – в 10-100 разів вище, ніж за дії інших природних стимуляторів продукції кисневих радикалів нейтрофілами (C5 компонент комплементу, лейкотрієн B₄, арахідонова кислота, фактор активації тромбоцитів) [146]. Отже, вивільнення TNF- α макрофагами та лімфоцитами в зоні запалення може призвести як до збільшення адгезії нейтрофілів до ендотелію, так і до підвищення функціональної активності адгезованих нейтрофілів.

In vitro та *in vivo* встановлено, що збільшення міграції нейтрофілів у вогнище запалення зумовлено TNF- α . Ці ефекти пов'язані як із прямим впливом TNF- α на міграцію та хемотаксис, так і з його дією на ендотелій судин, що призводить до збільшення продукції хемотаксичних факторів, активації адгезії нейтрофілів, підвищення чутливості ендотеліальних клітин до нейтрофілзалежної альтерації [165]. Крім того, TNF- α активує антитілозалежну клітинну цитотоксичність нейтрофілів [203]. У механізмах цитотоксичності активованих TNF- α нейтрофілів відіграють роль пероксид водню, мієлопероксидаза, β -глюкуронідаза, лізоцим.

Наведені дані свідчать про важливу, а у ряді випадків ключову роль цитокінів у механізмах розвитку адаптаційних та патофізіологічних реакцій системи нейтрофілів, особливо на ранніх етапах імунної відповіді, яка супроводжується лейкоцитозом, збільшенням числа клітин мієлоїдного ростка в селезінці та складними змінами нейтрофілів тимуса [200]. Для ранніх етапів імунної відповіді характерним є десквамативний тимічний синусит, в період якого в дилатованих синусах тимуса, селезінки та лімфатичних вузлів накопичується значна кількість нейтрофілів [16].

Одним із перших виявлених ефектів IL-1 була стимуляція проліферації тимоцитів у відповідь на антигени. IL-1 діє на молекулярні структури клітин тимуса, викликаючи в них секрецію IL-2, що призводить до проліферації тимічних лімфоцитів [176]. Встановлені також інші імунобіологічні ефекти IL-1: індукція Т-хелперів у тимусі, індукція Т-кілерів у клітинноопосередкованій цитологічній відповіді проти сингенних лейкозних клітин і супресорних

лейкоцитів *in vitro*, підвищення активності клітин-кілерів та природних кілерів, збільшення числа та афінності антигензв'язуючих рецепторів на Т-клітинах, підсилення імунної відповіді на еритроцити барана або мітоген лаконоса *in vivo* та *in vitro*, стимуляція проліферації В-лімфоцитів та генерація клітин, що секретують імуноглобуліни, індукція рецепторів для імуноглобулінів, Іа-білка, рецептора до комплексу, стимуляція поліпотентних стовбурових клітин, активація нейтрофілів і фібробластів, збільшення секреції ІЛ-2 [15].

Є дані, що ІЛ-1 стимулює утворення в тимусі Т-хелперів, які сприяють проліферації В-лімфоцитів та збільшенню продукції антитіл завдяки інтерлейкінзалежного зменшення чутливості Т4-лімфоцитів до інгібувального впливу стероїдів. Доведено, що *in vitro* ІЛ-1 здатен підсилювати імунну відповідь лімфоїдних клітин селезінки на еритроцити барана або мітоген лаконоса [160].

Встановлено, що антитіла проти ІЛ-1 пригнічують В-клітинну проліферацію та утворення лімфоцитів, що секретують імуноглобуліни, тоді як сам ІЛ-1 індукує експресію В-клітинних маркерів: рецепторів імуноглобулінів, Іа-білка, рецепторів комплексу. Участь ІЛ-1 у процесі антитілоутворення реалізується через стимуляцію однієї або декількох популяцій Т-клітин, але не виключена можливість прямого впливу ІЛ-1 на В-лімфоцити. Вважається, що ІЛ-1 є необхідним на ранній стадії В-клітинної активації (перетворення незрілих попередників у В-лімфоцити) для підготовки кооперації В-клітин з Т-лімфоцитами, оскільки ІЛ-1 та Т-клітинний ростовий фактор є костимуляторами В-лімфоцитарної активності [229].

Незважаючи на значні досягнення у вивченні механізмів впливу ендотоксинів, на стан імунної системи, агрегатний стан крові залишається невирішеним ряд питань:

1. Наявність особливостей перебігу запального процесу в тканинах ока, при локальному або системному шляхах інфікування.
2. Патогенетичні особливості запалення залежно від інфікування грампозитивною чи грамнегативною мікрофлорою.

У зв'язку з цим нами проведено дане дослідження.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

У роботі використано 327 самців нелінійних білих щурів масою тіла 0,14-0,16 кг та 31 кроль породи Шиншила масою тіла від 2,5 до 3,0 кг.

Тварин утримували за звичайних умов віварію на стандартному харчовому раціоні з вільним доступом до води. Усі дослідження проведено протягом весняно-літнього періоду.

2.1. Характеристика експериментальних моделей, що використовувалися в роботі

Для вирішення поставлених завдань було проведено серії експериментів *in vitro* та *in vivo*.

Моделювання травми ока в кролів проводили під місцевою анестезією (ретробульбарне уведення 1,5 мл 2 % розчину новокаїну з дворазовою інстиляцією в кон'юнктивальну порожнину 0,25 % розчину дикаїну). Проникаючу травму склери здійснювали в асептичних умовах сколеним лезом бритви, що фіксувалося лезотримачем. Формували лінійний розріз довжиною 4 мм. У скловидне тіло вводили 10 нг ендотоксину грамнегативної мікрофлори (ендотоксин *Salmonella typhimurium*) або 10 нг ендотоксину грампозитивної мікрофлори – глюкозоамінілмураміддипептиду (ГМД) в 0,5 мл фізіологічного розчину. Проводили первинну хірургічну обробку рани (ушивання склери) в асептичних умовах. У частину кролів контрольної та дослідної груп виконували енуклеацію травмованого ока через 24 год, в іншій частині - через 72 год. Перед початком операції виконували ретробульбарну анестезію 2 % розчином новокаїну (2 мл) та інстилювали в кон'юнктивальну порожнину 0,25 % розчин дикаїну. Енуклеювані очі негайно

заморожували в рідкому азоті. Усі визначення паралельно проводили в контрольних групах (інтактні щури та тварини, яким в аналогічний спосіб травмували око та вводили стерильний розчинник (фізрозчин).

Для визначення системних ефектів ендотоксини грамнегативної та грампозитивної мікрофлори під нембуталовим наркозом вводили в яремну вену в дозі 10 мг на кг маси тіла в фізіологічному розчині.

Частині тварин обох дослідних груп через три год після уведення ендотоксинів перорально, користуючись шлунковим зондом, вводили індометацин у дозі 0,5 мг/ кг в розчині крохмального клейстеру. За даними літератури, препарат у вказаній дозі забезпечує не лише анальгетичну, але й протизапальну дію [266, 97], що відповідало меті і завданням нашого дослідження. Контрольні групи тварин отримували розчинник препарату в тій же кількості та в той же спосіб уведення.

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).

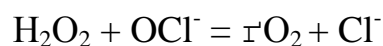
2.2. Методи дослідження вмісту цитокінів, функціональної активності нейтрофілів і моноцитів-макрофагів

Визначення вмісту цитокінів проводили в склистому тілі. Екстракцію цитокінів проводили на мікроколонках C₂ AmprepTM (Велика Британія) з реєстрацією показників світлопоглинання на рідері “Уніплан-М” (Росія) за допомогою наборів реагентів “PgoCon IL-1β” для визначення ІЛ-1β (Росія)

та “ProCon TNF α ” (ООО “Протеиновый контур”, Росія) для визначення ФНП α , а також “Rat IL-4 ELISA kit”, “Rat IFN γ ELISA kit”, “Rat TNF α ELISA kit” (DiaClone, Франція), “Rat IL-6”, “Rat IL-12”, “Rat IL-10”, “Rat IL-2” (BioSource Int., США), “R&D Systems. Quantikine™ -TGF- β 1” (США). Рівень в плазмі крові трансформувального фактора росту β 1 визначали методом імуноферментного аналізу реактивами фірми “R&D Systems. Quantikine™ - TGF- β 1” (США).

У роботі виконано низку спеціальних методів дослідження клітин неспецифічного захисту *in vitro*: окиснювальний метаболізм поліморфноядерних лейкоцитів (ПМЛ) визначали методом хемілюмінесценції [8]. Для виділення нейтрофілів і макрофагів використовували пробірки “Vacutainer® СРТ™” фірми “BECTON DICKINSON” (США). Фагоцитарну активність та фагоцитарний індекс визначали за загальноприйнятими методами [118]. Окиснювальний метаболізм нейтрофілів та моноцитів-макрофагів визначали методом хемілюмінесценції (ХМЛ) [192]. Реєстрацію ХМЛ проводили на хемілюменометрі “ПХЛ-1” (Росія) в режимі накопичення при кількості нейтрофілів або моноцитів-макрофагів 2×10^4 клітин/мл [58].

Принцип. Респіраторний “вибух” нейтрофілів асоціюється з генерацією світлової енергії, відомої як хемілюмінесценція (ХМЛ), що залежить від продукції синглетного кисню (rO_2). Синглетний кисень продукується, коли один непарний електрон кисню займає більш високу орбіту зі спіновою інверсією. Емісія світла відбувається при поверненні електрона у попередній стан. Синглетний кисень генерується в реакції між H_2O_2 та гіпохлоритом:



Емітоване світло реєструється флуориметричним детектором. Чутливість методу підвищується при використанні люмінолу, який є субстратом для синглетного кисню. Генерація люмінолзалежної

хемілюмінесценції відповідає активності мієлопероксидази (МПО) нейтрофілів (МПО- H_2O_2 -галоїдної системи).

Обладнання. Хемілюмінометр “ПХЛ-1” (Росія). Скляні сцинтиляційні флакони - 20 мл. Термостат водяний “ТПС-8” (Україна). Ротаційний штатив.

Реагенти. 1. Люмінол (Sigma), молекулярна маса - 177,16. а. Базовий розчин - 5,5 мМ у диметилсульфоксиді. б. Розведення: ex tempore 1:200 у фосфатному буфері (рН 7.4) - 0,2 мл на пробірку (кінцева концентрація - 1,0 мкМ). 2. Розчин Хенкса з Ca^{2+} і Mg^{2+} . 3. Гепарин, 1000 од/мл. 4. NH_4Cl , 0,87% розчин. 5. Фосфатний буфер. 6. Ендотоксин (*S.thyphimurium*). 7.Інтерлейкін-1 β (Росія).

Препарація клітин. 1. Кров із черевної аорти - 5,0 мл + 50 од гепарину. 2. Лізис еритроцитів: 0,075 мл крові + 5,0 мл 0,87% розчину NH_4Cl , повільна ротація - 15 хв. 3. Центрифугування: 5 хв, 800 об/хв з подвійним промиванням осаду розчином Хенкса. 4. Ресуспендування в 1,0 мл розчину Хенкса. Підрахунок кількості нейтрофілів. Розведення до 2×10^4 клітин/мл.

Процедура аналізу. 1.Серії пробірок: а) розчин Хенкса + люмінол; б)розчин Хенкса + люмінол + ендотоксин; в) розчин Хенкса + люмінол + ПМЛ; г) інкубація - 30 хв при 37°C. 2. Об'єми реагентів: а) ендотоксин - 0,1 мл (кінцева концентрація - 3 мкг/мл); б) інтерлейкін-1 β - 0,1 мл (кінцева концентрація - 9 пг/мл); б) робочий розчин люмінолу - 0,2 мл (кінцева концентрація - 1 мкМ); в) розчин Хенкса - 4,2 мл; г) сцинтилометрія охолоджених проб.

Робочий режим приладу: накопичення кількості квантів світла за одиницю часу (мВт).

2.3. Біохімічні, коагулометричні і статистичні методи дослідження

Тканини внутрішніх органів (серце, легені, печінку, селезінку і нирку) одразу після декапітації щурів заморожували в рідкому азоті. Наважки тканин органів гомогенізували в 2,0 мл боратного буферу (рН 9.0) і надалі використовували в біохімічному аналізі. Протеолітичну активність цитратної плазми крові і тканин внутрішніх органів визначали за лізисом азоальбуміну, азоказеїну та азоколу ("Simko Ltd", Україна). Принцип методу полягає в тому, що при інкубації білкових азосполук у присутності активаторів та інгібіторів протеолізу плазми крові і тканин, відбувається лізис азоальбуміну (деградація низькомолекулярних протеїнів), азоказеїну (протеоліз високомолекулярних білків) та азоколу (колагеноліз), інтенсивність якого оцінюється за ступенем забарвлення інкубаційного середовища.

Визначення сумарного, ферментативного і неферментативного фібринолізу в плазмі крові і тканинах внутрішніх органів проводили за лізисом азофібрину ("Simko Ltd", Україна): при інкубації азофібрину зі стандартною кількістю плазміногену в присутності активаторів та інгібіторів фібринолізу, які містяться в плазмі крові або в тканинах, утворюється плазмін, а інтенсивність фібринолізу оцінюється за ступенем забарвлення розчину в лужному середовищі в присутності ϵ -амінокапронової кислоти (неферментативний фібриноліз), або без неї (сумарна фібринолітична активність). Різниця між ними відповідає інтенсивності ферментативного фібринолізу [118]. У тканинах внутрішніх органів визначали вміст малонового діальдегіду (МДА) та дієнових кон'югатів (ДК) [118].

Визначення стану тромбоцитарно-судинного і коагуляційного гемостазу, протизгортальної і фібринолітичної систем, тканинного фібринолізу (ТК) і протеолізу проводили за стандартними методиками [69].

Кров забирали з черевної аорти силіконованим шприцем, під нембуталовим наркозом (40 мг/кг), стабілізували цитратом натрію, центрифугували при 3000 об/хв і відокремлювали плазму від формених елементів.

Стан тромбоцитарно-судинного гемостазу оцінювали за відсотком адгезивних тромбоцитів (ВАТ), а також за індексом спонтанної агрегації тромбоцитів (ІСАТ) [69].

Загальний коагуляційний потенціал крові (час рекальцифікації (ЧР) плазми, протромбіновий (ПТ) і тромбіновий час (ТЧ), активований парціальний тромбoplastиновий час (АПТЧ)), потенційну активність плазміногену (ПАП), антиплазміни, рівень фібриногену в плазмі крові, активність антитромбіну III, концентрацію розчинних комплексів фібрин-мономера (РКФМ) в крові визначали за допомогою наборів реактивів фірми "Simko Ltd." (Україна).

Силіконування посуду проводили у витяжній шафі. Сухі чисті пробірки, колби, піпетки, шприци та голки заповнювали 5 % розчином дихлордиметилсилану або трихлорметилсилану в толуолі (силікон) на 5-10 хвилин. Посуд висушували при температурі 180-200 °С.

При дослідженні активності антитромбіну III в плазмі крові розведену цитратну плазму інкубували зі стандартною кількістю тромбіну з активністю 10 NIH/мл (частина тромбіну при цьому з'єднується з антитромбіном III), потім за часом згортання фібриногену визначали залишкову активність тромбіну.

До 0,2 мл робочого розчину тромбіну додавали 0,1 мл проби (плазма, розведена в 20 разів). Суміш інкубували протягом 2-х хвилин при 37°С. Потім пробірку витягували з водяної бані, інтенсивно струшували її декілька разів для ретракції утвореного згустка. Швидко відбирали 0,2 мл суміші, додавали їй до 0,3 мл розчину фібриногену (прогрітого протягом 1 хвилини при 37°С) і одночасно вмикаючи секундомір. Пробірку виймали з водяної бані і струшували її на фоні пучка світла матової панелі

термостата “ТПС-8”, фіксували час утворення фібринового згустка. За калібровочною кривою визначали активність антитромбіну III.

При дослідженні концентрації фібриногену в плазмі крові до розбавленої цитратної плазми додавали розчин тромбіну і відмічали час утворення фібринового згустка. При надлишку тромбіну час утворення згустка залежить від концентрації фібриногену, котру визначали по калібровочній кривій.

Розведену (1:9) цитратну плазму в об’ємі 0,2 мл проби прогрівали протягом 1 хвилини у водяному термостаті, після чого до неї додавали 0,2 мл розчину тромбіну (активність - 10 NIH/мл) та одразу ж вмикали секундомір. Відмічали час утворення ниток фібрину (невеликого згустка) при періодичному струшуванні пробірки. Час утворення згустка фіксували на фоні панельної підсвітки термостата “ТПС-8”.

Для визначення активності фактора XIII фіксували час розчинення згустку плазми в щавлевокислій сечовині після інкубації плазми з моноіодоцтовою кислотою, котра блокує активність фактора XIII. При цьому час розчинення згустку залежить від активності фактора Лакі-Лорана в досліджуваній плазмі.

До 0,1 мл досліджуваної цитратної плазми додавали 0,1 мл розчину моноіодоцтової кислоти та 0,2 мл 0,025 М розчину кальцію хлориду. Змішували вміст пробірки струшуванням і залишали при кімнатній температурі на 20 хвилин. До утвореного згустка додавали 1 мл розчину кислої щавлевокислої сечовини. Пробірку легко струшували (приблизно 1 раз на секунду) і визначали час повного розчинення згустка фібрину. Так само визначали час розчинення фібринових згустків пулу плазми крові тварин контрольної групи. Активність фактора XIII в досліджуваній плазмі визначали за формулою: $AF_{XIII} = A/B \times 100\%$, де А - час лізису згустка досліджуваної плазми; В - середній час лізису згустка пулу плазми крові інтактних щурів.

Визначення Хагеман-залежного фібринолізу (ХЗФ) проводили за здатністю активованого каоліном фактора XII перетворювати плазміноген у плазмін.

У поліетиленову пробірку, що містить 0,25 мл плазми, додавали 4 мл робочого ацетатного буфера, одразу вносили 0,25 мл суспензії каоліну, перемішували і поміщали у водяний термостат при температурі 37 °С. Контактну активацію фактора XII з утворенням фактора XIIIа, що необхідно для перетворення плазміногену в плазмін, проводили протягом 45 хвилин при періодичному помішуванні вмісту дерев'яною паличкою. За цей час відбувається перетворення плазміногену в плазмін за допомогою фактора XIIIа та кофакторів “контактної” активації. Потім проби центрифугували протягом 10 хвилин при 2000 об/хв. Надосадову рідину зливали, пробірки перевертали на фільтрувальний папір для повного видалення рідини. Еуглобуліновий згусток суспензували в 0,25 мл боратного буферного розчину, додавали 0,25 мл 0,025 М розчину кальцію хлориду і пробірку з сумішшю одразу ж ставили у водяну баню при 37 °С. Інтервал від часу утворення згустка до його повного розчинення є часом лізису згустка, який виражали у хвилинах.

При визначенні потенційної активності плазміногену визначали час лізису еуглобулінового згустка плазми крові при додатковій стимуляції фібринолітичного процесу стрептокіназою.

До 4 мл охолодженого робочого ацетатного буферного розчину (рН 5,2), розлитого в пластикові пробірки Gilson, додавали 0,25 мл досліджуваної плазми. Суміш обережно змішували перевертанням пробірки, інкубували 10 хв при температурі 4 °С і центрифугували 10 хвилин при 2000 об/хв. Надосадову рідину зливали, пробірку перекидали на фільтрувальний папір і видаляли рідину, що залишилася в пробірці. Осад розчиняли в 0,25 мл робочого боратного буферного розчину (рН 7,6), додавали 0,1 мл робочого розчину стрептокінази, 0,25 мл робочого розчину тромбіну (10 NIH) і пробірку із сумішшю одразу ж

ставили у водяний термостат при 37 °С. Інтервал від часу утворення згустка до його повного розчинення є часом лізису згустка.

Водночас в аналогічних умовах досліджували лізис еуглобулінів із 20 змішаних зразків плазми крові інтактних тварин. Час лізису згустка дослідної плазми порівнювали з часом лізису згустка пулу контрольної плазми за формулою: $100 \times И/Н$, де И - час лізису еуглобулінового згустка досліджуваної плазми, Н - час лізису еуглобулінового згустка змішаних зразків плазми крові інтактних щурів.

Визначення розчинних фібрин-мономерних комплексів у плазмі крові проводили за аналізом їх рецепторної взаємодії зі спеціальним штамом золотистого стафілокока, яку враховували візуально за аглютинацією бактеріальних клітин.

Плазму отримували з цитратної крові. Кров центрифугували при 1500 об/хв протягом 7 хвилин, отримуючи в надосаді багату тромбоцитами плазму. До 0,1 мл плазми у скляній пробірці додавали 0,1 мл розчину тромбіну з активністю 10 НН. Пробірку струшували та інкубували у водяному термостаті при 37 °С протягом 7 хвилин.

Визначення інгібіторів плазміну проводили в 2 етапи. На першому етапі в пробірку вносили 0,18 мл розведеної плазми і 0,18 мл робочого розчину плазміну. Суміш витримували 1 годину при температурі 20 °С. На другому етапі визначали інгібіторну активність. У 2 пронумеровані пробірки 1(Е₁) і 2(Е₂) вносили по 10 мг азофібрину, робочий буферний розчин (в 1(Е₁) - 0,70 мл; в 2(Е₂) - 0,85 мл). У першу пробірку додавали суміш плазма крові-плазмін в об'ємі 0,3 мл, а в другу – робочий розчин плазміну - 0,15 мл. Пробірки витримували 1 год у водяному термостаті при температурі 37 °С. Після інкубації в кожен пробірку вносили по 3 мл дистильованої води і вміст кожної пробірки фільтрували через фільтрувальний пристрій (за допомогою шприца). До отриманих розчинів після фільтрації додавали по 0,02 мл 5н NaOH.

Оптичну густина розчинів фотометрували проти дистильованої води на фотометричному електроколориметрі “КФК-2” при довжині хвилі 440 нм (довжина оптичного шляху - 1 см).

Кількість антиплазмінів у плазмі вимірювали у відсотках гальмування активності плазміну й визначали за формулою:

$$АП = (E_1 - E_2) \times K,$$

де, АП- вміст антиплазмінів, в %;

E_1 і E_2 - поглинання в першій та другій пробірках;

K - розрахунковий коефіцієнт.

Для визначення активованого парціального тромбoplastинового часу фіксували час рекальцифікації безтромбоцитарної плазми після стандартизованої контактної (каоліном) та фосфоліпідної (кефаліном) активації згортання крові.

У пробірку вносили 0,1мл досліджуваної плазми та 0,1 мл каолін-кефалінової суміші (кефалін розчиняли в 1 мл 0,15 М розчині натрію хлориду, 0,1 мл отриманої суспензії розводили суспензією каоліну у співвідношенні 1:9), перемішували та поміщали пробірку у водяний термостат при 37 °С. Через 5 хвилин у пробірку додавали 0,1 мл попередньо прогрітого при 37 °С 0,025 М розчину кальцію хлориду, одночасно вмикали секундомір. Злегка струшували пробірку та відмічали час утворення згустка.

Дослідження часу рекальцифікації проводили на цитратній плазмі, отриманій після центрифугування крові протягом 5 хвилин при 1500 об/хв.

У пробірку, поміщену у водяну баню, вносили 0,2 мл буфера Міхаеліса з 0,025 М хлористим кальцієм. Через 1-2 хвилини додавали 0,2 мл плазми і одразу вмикали секундомір. Пробірку періодично струшували і відмічали час утворення ниток фібрину (згустка).

Для визначення протромбінового часу в ступці розтирали 10 мг тромбoplastину в 1 мл дистильованої води і центрифугували 20 хвилин при 2000 об/хв.

У термостат із температурою 37°C ставили 3 пробірки. У кожену пробірку вносили 0,1 мл буфера Міхаеліса з 0,025 М розчину кальцієм хлориду і 0,1мл суспензії тромбопластину. Через 30 с у першу пробірку додавали 0,1 мл досліджуваної плазми і одночасно вмикали секундомір. Пробірку струшували до відновлення згустка, відмічаючи час його утворення. Таку ж операцію здійснювали з другою та третьою пробірками. З отриманих даних розраховували середнє арифметичне, котре є протромбіновим часом досліджуваної плазми.

Для визначення тромбінового часу готували маточний розчин тромбіну з концентрацією 50 од. НІН/мл розчину, для чого до вмісту флакона “Тромбін людини” додавали 2 мл 0,15 М розчину натрію хлориду. З маточного розчину готували робочий розчин з активністю 10 од. НІН/мл розчину (тобто маточний розчин змішували з 0,15 М розчином натрію хлориду у співвідношенні 1:4). Тестували активність робочого розчину тромбіну по плазмі інтактних щурів. Робочий розчин тромбіну мав активність 15-18 с.

Плазму (0,2 мл) прогрівали протягом 1 хвилини у водяному термостаті при 37°C , після чого до неї додавали 0,2 мл робочого розчину тромбіну, одразу включали секундомір і відмічали час утворення згустка при періодичному струшуванні пробірки.

Фібриноген людини – ліофільно висушений порошок, отриманий з фракції 1 за Коном донорської плазми людини. Додані солі – натрій хлорид та тринатрійцитрат.

Оскільки навіть при нетривалому нагріванні розчину фібриногену (30 хв та більше) його властивість зсідатися може змінюватися, тому застосовували таку схему. До наважки фібриногену додавали необхідну кількість фізіологічного або буферного розчину і витримували 3-5 хвилин при температурі 37°C . Для розчинення фібриногену інтенсивно перемішували розчин, набираючи його декілька разів піпеткою або дозатором і видуваючи назад. Допускається незначна кількість

нерозчинного матеріалу в розчині, однак це не є протипоказанням до застосування. До початку використання розчин зберігають при кімнатній температурі. Безпосередньо перед використанням робочий розчин фібриногену прогрівали у водяній бані при температурі 37 °С протягом 1-2 хв, а потім застосовували для певних досліджень (наприклад, приготування фібринових пластин, визначення активності тромбіну, антитромбіну III). Для визначення активності тромбіну і антитромбіну використовували 0,1 та 0,2 %-й розчин, відповідно.

Результати досліджень опрацьовували методами варіаційного статистичного аналізу з визначенням критерію Стьюдента за програмою "Biostat" на РС PENTIUM II. Відмінності вважали достовірними при вірогідності нульової гіпотези не більше 5 % ($p \leq 0,05$).

РОЗДІЛ 3

ХАРАКТЕРИСТИКА ВПЛИВУ ЕНДОТОКСИНІВ ГРАМНЕГАТИВНОЇ І ГРАМПОЗИТИВНОЇ МІКРОФЛОРИ НА ВМІСТ ЦИТОКІНІВ, ПРОТЕОЛІЗ І ФІБРИНОЛІЗ У СКЛИСТОМУ ТІЛІ ОКА КРОЛІВ ІЗ ПРОНИКАЮЧИМ ПОРАНЕННЯМ СКЛЕРИ

3.1. Зміни вмісту цитокінів за локальної дії ендотоксинів грамнегативної і грампозитивної мікрофлори в склистому тілі кролів із проникаючою травмою склери

У склистому тілі визначали вміст інтерлейкіну-1 β , фактора некрозу пухлин α , трансформувального фактора росту β 1 і γ -інтерферону.

Результати дослідження наведені у таблиці 3.1.

При проникаючій травмі склери вміст інтерлейкіну-1 β (IL-1 β), фактора некрозу пухлин α (TNF- α), γ -інтерферону (γ -INF) і трансформувального фактора росту β 1 (TGF- β 1) достовірних змін не зазнавали.

За умов інтравітреального уведення ендотоксину грамнегативної мікрофлори проникаюча травма склери характеризувалася різким підвищенням в склистому тілі концентрації IL-1 β і вмісту TNF- α , які перевищували контрольні показники відповідно у 9,5 і 7,1 раза та були більшими за такі при неускладненій проникаючій травмі склери відповідно в 7,0 і 5,9 раза. Водночас кількість γ -INF у склистому тілі травмованого ока за цих умов не змінювалася, тоді як вміст TGF- β 1 суттєво зростав і переважав контроль і показники у тварин з не ускладненою травмою ока відповідно у 2,7 і 2,8 разів.

При проникаючій травмі склери та уведенні ендотоксину грампозитивної мікрофлори в склисте тіло вміст в останньому IL-1 β збільшувався відносно контролю на 79,8 %, не відрізнявся від такого у тварин із неускладненою травмою ока і був у 5,3 раза меншим, ніж у кролів, яким за умов поранення склери в склисте тіло вводили ендотоксин грамнегативної мікрофлори.

Таблиця 3.1

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

Показники, що вивчалися	Група тварин			
	Контроль n=10	Травма склери, n=7 <i>1 група</i>	Травма склери + ендотоксин ГНМФ, n=7 <i>2 група</i>	Травма склери + ендотоксин ГПМФ, n=7 <i>3 група</i>
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±30,84 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 фактор росту β1, нг/ г тканини	204±12,19	196±11,4	549±53,2 p<0,001 p ₁ <0,001	236±25,6 p ₂ <0,001

Примітки: достовірність змін відносно: p - контролю; p₁, p₂, p₃ - відповідних груп тварин; n – кількість спостережень

Рівень TNF-α під впливом ендотоксину грампозитивної мікрофлори підвищувався на 45,1 %, не відрізнявся від показників тварин з неускладненою травмою склери і був майже в 5 разів нижчим за такий у кролів, яким у склисте тіло вводили ендотоксин грамнегативної мікрофлори.

Після інтравітреального введення ендотоксину грампозитивної мікрофлори в склистому тілі травмованого ока значно збільшувалася кількість γ -INF: його рівень перевищував контроль у 3,7 раза та був відповідно в 3,4 і 3,9 раза більшим, ніж у тварин із неускладненою травмою склери й у кролів, яким вводили ендотоксин грамнегативної мікрофлори.

TGF- β 1, навпаки, відносно контролю не змінювався, не відрізнявся від показників у кролів із неускладненою травмою склери і був на 57,1 % меншим, ніж у тварин, що отримували інтравітреальну ін'єкцію ендотоксину грамнегативної мікрофлори.

Таким чином, зміни вмісту цитокінів у склистому тілі травмованого ока суттєво відрізняються: під впливом ендотоксину грамнегативної мікрофлори різко зростає вміст прозапальних IL-1 β та TNF- α , що за відсутності змін γ -INF супроводжується майже триразовим збільшенням імуносупресивного TGF- β 1, тоді як інтравітреальне введення ендотоксину грампозитивної мікрофлори призводить лише до помірного підвищення вмісту в склистому тілі IL-1 β та TNF- α , проте значно збільшує рівень γ -INF на тлі сталого вмісту TGF- β 1.

Для порівняльного аналізу впливу ліпополісахариду грамнегативної (ГНМФ) і ендотоксину грампозитивної мікрофлори (ГПМФ) на інтенсивність протеолітичного розпаду низько-, високомолекулярних білків і колагену в склистому тілі кролів з проникаючою травмою склери досліджували відповідно інтенсивність розпаду азоальбуміну, азоказеїну і азоколу. Результати дослідження наведені в таблиці 3.2.

У кролів із проникаючою травмою склери інтенсивність лізису низько- і високомолекулярних білків у склистому тілі відносно контролю не змінювалася, водночас колагенолітична активність зменшувалась у 2,6 раза.

Після введення в склисте тіло кролів із проникаючою травмою склери ендотоксину *Salmonella typhimurium* у порівнянні з показниками тварин із пораненням склери, яким ендотоксин не вводили, лізис азоальбуміну збільшувався на 41,7 %, лізис азоальбуміну – на 46,6 %, лізис азоколу – удвічі. Проте жоден із зазначених показників тканинного протеолізу не відрізнявся від контролю.

Таблиця 3.2

Вплив ендотоксинів грамнегативної і грампозитивної мікрофлори на інтенсивність протеолізу при проникаючій травмі склери (M±m)

Показники, що вивчались	Група тварин			
	Контроль n=10	Травма склери, n=7 <i>1 група</i>	Травма склери + ендотоксин ГНМФ, n=7 <i>2 група</i>	Травма склери + ендотоксин ГПМФ, n=7 <i>3 група</i>
Лізис низькомолекулярних білків, мкг азоальбуміну/ мл за год	129±10,2	103±5,92	146±13,3 p ₁ <0,02	295±27,2 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001
Лізис високомолекулярних білків, мкг азоказеїну /мл за год	124±11,6	98,0±10,2	143±15,7 p ₁ <0,05	297±30,6 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001
Лізис колагену, мкг азоколу /мл за год	3,26±0,26	1,27±0,14 p<0,001	2,51±0,21 p>0,05 p ₁ <0,001	8,17±0,57 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001

Примітки: достовірність змін відносно: p - контролю; p₁, p₂, p₃ - відповідних груп тварин; n - число спостережень

Найбільші зміни тканинної протеолітичної активності спостерігалися при інтравітреальному введенні ГПМФ: інтенсивність лізису низькомолекулярних білків перевищувала контрольний рівень у 2,3 раза, високомолекулярних білків – у 2,4 раза, колагену – у 2,5 раза.

Порівняльний аналіз показав, що при введенні в склисте тіло глюкозамінілмураміддипептиду лізис азоальбуміну був у 2,9 раза більшим, ніж при проникаючій травмі склери та вдвічі вищим, ніж у тварин з проникаючим пораненням склери, яким у склисте тіло вводили ендотоксин *Salmonella typhimurium*. Стосовно лізису азоказеїну та азоколу відповідне збільшення становило 3,0 і 2,1 раза та 6,4 і 3,3 раза.

Отже, проникаюча травма склери не змінює протеолітичного розпаду низько- і високомолекулярних білків, проте суттєво зменшує тканинну колагенолітичну активність склистого тіла. Після введення ендотоксину *Salmonella typhimurium* у склисте тіло кролів із проникаючим пораненням склери лізис азоальбуміну, азоказеїну і азоколу від контролю не відрізняється, тоді як дія глюкозамінілмураміддипептиду характеризується різким збільшенням інтенсивності лізису низько-, високомолекулярних білків та колагену.

Для порівняльного аналізу впливу ендотоксинів ГНМФ і ГПМФ на інтенсивність і структуру фібринолізу в склистому тілі кролів із проникаючою травмою склери досліджували лізис азофібрину. Результати дослідження наведені в таблиці 3.3.

У тварин із проникаючою травмою склери у склистому тілі сумарна фібринолітична активність достовірних змін не зазнавала, однак при цьому неферментативна фібринолітична активність зростала в 3,1 раза на тлі одночасного зниження інтенсивності ферментативного фібринолізу на 38,4 %. Тобто, при проникній травмі склери в склистому тілі змінювалася структура тканинного фібринолізу: частка низькоефективного неензиматичного лізису фібрину значно збільшувалася, тоді як ферментативна фібринолітична активність, навпаки, суттєво зменшувалася (рис. 3.1).

Таблиця 3.3

Вплив ендотоксинів грамнегативної і грампозитивної мікрофлори на інтенсивність фібринолізу при проникній травмі склери (M±m)

Показники, що вивчались	Групи тварин			
	Контроль n=10	Травма склери, n=7 <i>1 група</i>	Травма склери + ендотоксин ГНМФ, n=7 <i>2 група</i>	Травма склери + ендотоксин ГПМФ, n=7 <i>3 група</i>
Сумарна фібринолітична активність, мкг азофібрину / г білка	102±8,73	132±11,20	133±10,9 p<0,05	111±7,24
Неферментативна фібринолітична активність, мкг азофібрину / г білка	27,4±3,60	85,9±7,45 p<0,001	102±8,86 p<0,001	57,7±7,59 p<0,01 p ₁ <0,05 p ₂ <0,01
Ферментативна фібринолітична активність, мкг азофібрину / г білка	75,4±5,49	46,4±7,90 p<0,01	30,4±2,95 p<0,001	53,5±4,19 p<0,02 p ₂ <0,001

Примітки: достовірність змін відносно: p - контролю; p₁, p₂, p₃ - відповідних груп тварин; n - число спостережень

Уведення в склисте тіло кролів із проникаючою травмою склери ендотоксину *Salmonella typhimurium* достовірних змін сумарної фібринолітичної активності і структури тканинного фібринолізу в corpus

vitreum не спричиняло: інтенсивність неферментативного фібринолізу дещо підвищувалась і залишалася більшою за контроль у 3,7 раза, ферментативний фібриноліз, навпаки, знижувався, і був у 2,5 раза меншим за такий у контрольних тварин.

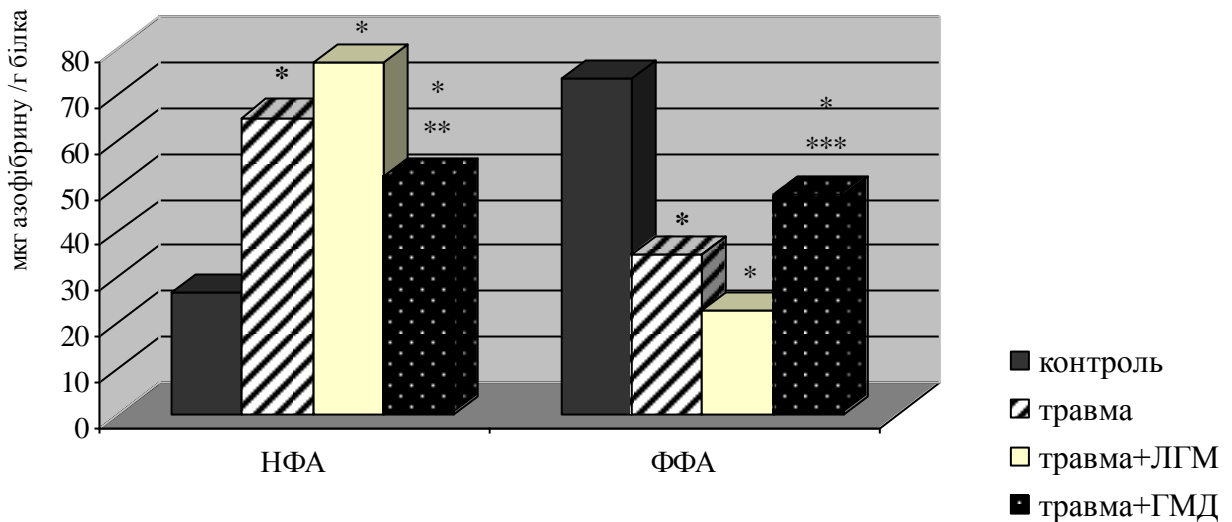


Рис. 3.1. Структура тканинного фібринолізу в склистому тілі кролів із проникною травмою ока під впливом ендотоксинів грамнегативної і грампозитивної мікрофлори (% від сумарної фібринолітичної активності)

Примітка: НФА – неферментативний фібриноліз, ФФА – ферментативний фібриноліз; достовірність змін відносно: * - контролю, ** - травми, *** - травми+ЛГД.

Інтравітреальне введення глюкозамінілмураміддипептиду не змінювало сумарної інтенсивності тканинного фібринолізу, проте неферментативна фібринолітична активність зменшувалася на 32,9 % і була на 43,8 % нижчою за таку в кролів, яким вводили ендотоксин *Salmonella typhimurium*, хоча і залишалася при цьому суттєво вищою за контрольні показники. Ферментативний фібриноліз під впливом глюкозамінілмураміддипептиду зростав і був на 75,8% більшим, ніж у тварин, котрим у склисте тіло вводили ендотоксин *Salmonella typhimurium*, досягаючи величин, лише на 29,1 % менших за контрольний рівень. Структура тканинного фібринолізу після

уведення в травмоване око глюкозоамінілмураміддипептиду наближалася до такої у тварин контрольної групи.

Отже, у кролів із проникаючою травмою склери у склистому тілі порушується структура тканинного фібринолізу: неферментативна фібринолітична активність втричі перевищує контрольні показники, а інтенсивність ферментативного фібринолізу знижується майже на 40 %. Через 24 год після введення в склисте тіло кролів із проникаючою травмою склери ендотоксину *Salmonella typhimurium* достовірних змін інтенсивності та структури тканинного фібринолізу в *corpus vitreum* не відбувалося.

Інтравітреальне введення глюкозоамінілмураміддипептиду призводило до зменшення неферментативної фібринолітичної активності на 33 % відносно контролю і на 44 % – відносно показників кролів, яким вводили ендотоксин ГНМФ. Ферментативний фібриноліз у тварин із проникаючою травмою склери, яким вводили ГПМФ, є на 76 % більший, ніж у кролів, котрим у склисте тіло вводили ендотоксин *Salmonella typhimurium*. Структура тканинного фібринолізу після введення в травмоване око глюкозоамінілмураміддипептиду наближається до контрольної.

3.2. Зміни протеолізу, фібринолізу і ліпопероксидації в склистому тілі кролів після системного введення ендотоксину грамнегативної мікрофлори (ГНМФ)

Через 24 год після внутрішньовенного введення ендотоксину грамнегативної мікрофлори в склистому тілі інтенсивність лізису низькомолекулярних білків зростала в 7,8 раза, високомолекулярних білків – у 8,3 раза, лізису колагену – у 3,7 раза відносно такої в контрольних тварин та відповідно у 7,1, 7,9 і 3,2 раза порівняно з показниками тварин контрольної групи, яким після проникаючої травми ока ендотоксин не вводили (табл. 3.4).

Сумарна фібринолітична активність достовірних змін не зазнавала.

Таблиця 3.4

Динаміка змін тканинного протеолізу, фібринолізу і ліпопероксидації в склистому тілі ока кролів після уведення ліпополісахариду грамнегативної мікрофлори ($M \pm m$)

Показники, що вивчалися	Групи тварин			
	Контрольні тварини n=11	Травма склери n=20	24 год після уведення ендотоксину ГНМФ n=11 <i>1 група</i>	72 год після уведення ендотоксину ГНМФ n=25 <i>2 група</i>
Лізис азоальбуміну, мкг / г тканини за год	11,9±1,12	13,1±1,30	93,2±3,74 p<0,001 p _k <0,001	127±5,52 p<0,001 p _k <0,001 p ₁ <0,001
Лізис азоказеїну, мкг / г тканини за год	119±7,80	125±5,92	995±40,8 p<0,001 p _k <0,001	1248±61,9 p<0,001 p _k <0,001 p ₁ <0,02
Лізис азоколу, мкг / г тканини за год	22,3±0,94	25,7±1,38	81,9±3,66 p<0,001 p _k <0,001	8,00±2,26 p<0,001 p _k <0,001 p ₁ <0,001
Сумарна фібринолітична активність, мкг азофібрину / г тканини за год	599±47,25	623±43,19	566±29,52	791±38,21 p<0,01 p _k <0,02 p ₁ <0,001

Продовження таблиці 3.4

Неферментативна фібринолітична активність, мкг азофібрину / г тканини за год	78,3±7,17	83,9±6,15	472±23,1 p<0,001 p _к <0,001	731±33,0 p<0,001 p _к <0,001 p ₁ <0,001
Ферментативна фібринолітична активність, мкг азофібрину / г тканини за год	520±46,7	539±38,7	93,7±5,26 p<0,001 p _к <0,001	59,1±4,16 p<0,001 p _к <0,001 p ₁ <0,001
Дієнові кон'югати, нмоль / г білка	0,080±0,007	0,077±0,005	0,472±0,029 p<0,001 p _к <0,001	0,809±0,035 p<0,001 p _к <0,001 p ₁ <0,001
Малоновий диальдегід, нмоль / г білка	0,099±0,006	0,100±0,008	0,635±0,024 p<0,001 p _к <0,001	0,965±0,042 p<0,001 p _к <0,001 p ₁ <0,001

Примітки: достовірність змін відносно: p – контрольних тварин; p_к – кролів із травмою склери; p₁ – першої дослідної групи; n – кількість тварин у групі

Спостерігалися різноспрямовані зміни неензиматичного й ензиматичного фібринолізу: якщо неферментативна фібринолітична активність зростала відносно такої в контрольних кролів і тварин групи з травмою склери відповідно у 6,0 і 5,6 рази, то ферментативна фібринолітична активність, навпаки, знижувалась у 5,6 і 5,8 рази.

Отже, у склистому тілі відбувається порушення структури локального фібринолізу (рис. 3.2): частка ферментативного лізису фібрину зменшувалась до 16,5 % (в контрольних тварин – до 86,9 %, у кролів групи з травмою склери – до 86,5 %), тоді як частка низькоефективного неензиматичного фібринолізу зростала до 83,5 % (в контрольних тварин – до 13,2 %, у кролів групи з травмою склери – до 13,5 %).

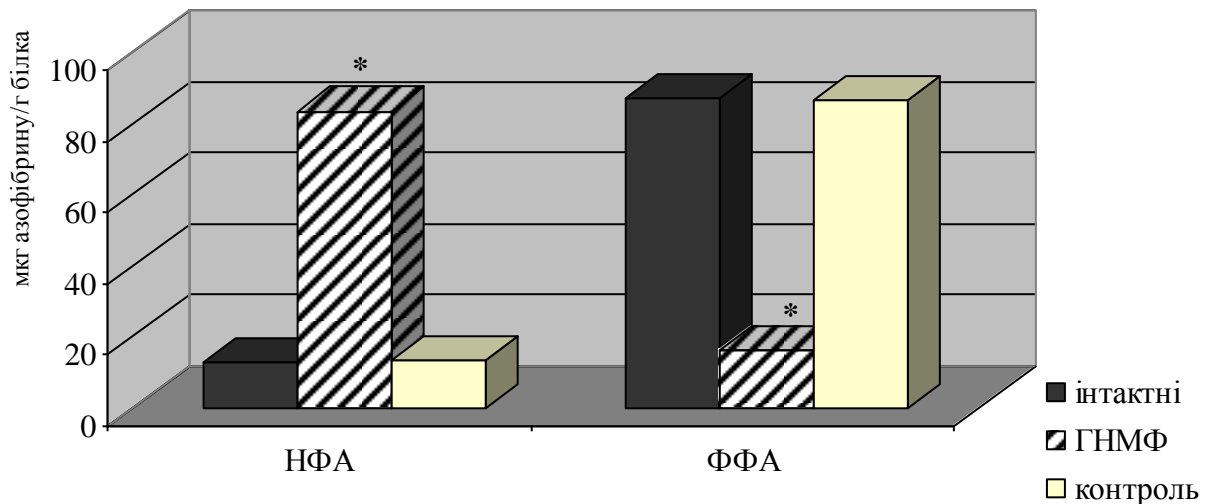


Рис. 3.2. Зміни структури сумарної фібринолітичної активності у склистому тілі через 24 год після внутрішньовенного уведення ГНМФ (у % від загальної інтенсивності фібринолізу)

Примітки: НФА – неферментативний фібриноліз, ФФА – ферментативний фібриноліз; ГНМФ – ендотоксин грамнегативної мікрофлори; достовірність змін відносно: * - контролю.

Вміст дієнових кон'югатів у склистому тілі в 5,9 разів перевищував відповідний показник в контрольних кролів та у 6,1 рази – у кролів з травмою склери. Подібних змін зазнавав вміст у склистому тілі МДА, який виявився вищим, ніж в контрольних і в кролів із травмою склери відповідно у 6,4 і 6,3 раза.

Через 72 год після системного уведення ГНМФ інтенсивність лізису низькомолекулярних білків у склистому тілі перевищувала показники в контрольних тварин і в кролів із травмою склери. Відповідних змін зазнавав протеолітичний розпад високомолекулярних білків. Лізис азоказеїну був у

10,4 і 10,0 раза більшим, ніж в контрольних і в кролів із травмою склери відповідно. Інтенсивність лізису азоколу була у 2,8 і 3,2 раза меншою ніж відповідно в контрольних і в кролів із травмою склери.

Через 72 год після внутрішньовенного уведення ГНМФ у склистому тілі помірно підвищувалася сумарна фібринолітична активність, яка зростала відносно показників контрольних тварин на 32,0 % та на 26,9 % перевищувала сумарний фібриноліз в кролів із травмою склери. Водночас різко посилювався дисбаланс між ензиматичним і неензиматичним лізисом фібрину: неферментативна фібринолітична активність перевищувала показники контрольних і в кролів із травмою склери відповідно у 9,3 і 8,7 раза, а ферментативна фібринолітична активність, навпаки, була меншою у 8,8 і 9,1 раза відповідно. Такі зміни призводили до того, що частка неферментативного фібринолізу досягала 92,5 %, тоді як ензиматичного лізису фібрину зменшувалася до 7,5 % (рис. 3.3).

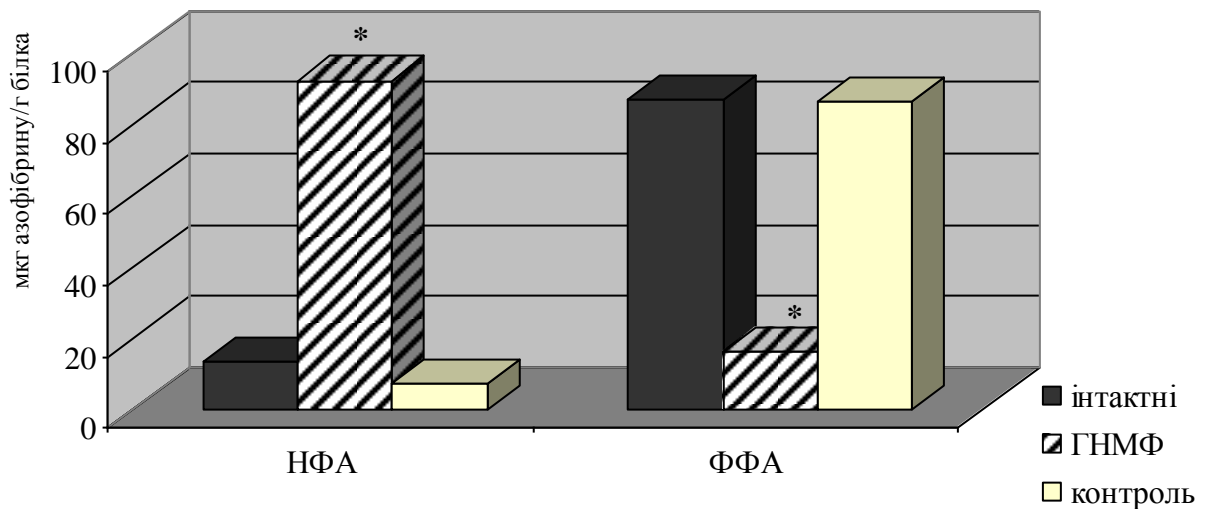


Рис. 3.3. Зміни структури сумарної фібринолітичної активності у склистому тілі через 72 год після внутрішньовенного уведення ГНМФ (у % від загальної інтенсивності фібринолізу)

Примітки: НФА – неферментативний фібриноліз, ФФА – ферментативний фібриноліз; ГНМФ – ендотоксин грамнегативної мікрофлори; достовірність змін відносно: * - контролю.

Одночасно з інтенсифікацією протеолізу в склистому тілі значно підсилювалося пероксидне окиснення ліпідів, про що свідчить той факт, що рівень дієнових кон'югатів перевищував аналогічний показник в контрольних кролів у 10,1 раза та показник у тварин із травмою ока – в 10,5 раза. Тканинний вміст малонового диальдегіду також був значно вищим як в контрольних кролів, так і в тій групі тварин, котрі зазнавали травми ока без додаткового впливу ендотоксину. В обох випадках це перевищення було майже десятикратним.

Динаміка змін вмісту цитокінів у склистому тілі кролів, які отримували ендотоксин грамнегативної мікрофлори, наведена у таблиці 3.5.

Так, через 24 год від початку експерименту вміст у склистому тілі інтерлейкіну-2 перевищував такий в контрольних і в кролів із травмою склери відповідно в 5,5 і 4,9 раза, інтерлейкіну-12 – у 2,8 і 2,9 раза, інтерферону- γ – у 4,4 і 3,8 раза, фактора некрозу пухлин α – у 4,3 і 3,8 раза.

Водночас показники локального рівня інтерлейкіну-4, інтерлейкіну-6, інтерлейкіну-10 і трансформувального фактора росту $\beta 1$ від контрольних величин не відрізнялись.

Через 72 год вміст у склистому тілі інтерлейкіну-2, інтерлейкіну-12, інтерферону- γ і фактора некрозу пухлин α виявився значно більшим за показники контрольних тварин і кролів із травмою склери: відповідно у 8,4 і 7,5; 4,5 і 4,8; 10,1 і 8,7 та 7,6 і 6,9 раза.

Достовірних змін вмісту інтерлейкіну-4, інтерлейкіну-6, інтерлейкіну-10 і трансформувального фактора росту $\beta 1$ щодо контролю не спостерігалось.

Отже, аналіз отриманих результатів свідчить, що, по-перше, не всі досліджені цитокіни реагували на дане втручання однозначно, по-друге, їх реакція в різні терміни спостереження суттєво відрізнялася як кількісно, так і якісно.

Таблиця 3.5

**Динаміка змін вмісту цитокінів у склистому тілі ока кролів
після уведення ліпополісахариду грамнегативної мікрофлори ($M \pm m$)**

Показники, що вивчалися	Контрольні тварини n=11	Травма ока n=15	24 год після уведення ГНМФ n=11, 1 група	72 год після уведення ГНМФ n=20 2 група
Інтерлейкін-2, нг /мг білка	0,938±0,151	1,04±0,198	5,14±1,077 p<0,001 p _к <0,001	7,87±1,579 p<0,01 p _к <0,001
Інтерлейкін-12, нг /мг білка	1,26±0,209	1,19±0,184	3,49±0,896 p<0,05 p _к <0,01	5,73±1,045 p<0,01 p _к <0,001
Інтерферон-γ, нг /мг білка	0,549±0,092	0,637±0,107	2,41±0,788 p<0,05 p _к <0,02	5,52±0,974 p<0,001 p _к <0,001 p ₁ <0,05
Фактор некрозу пухлин α, нг /мг білка	0,824±0,147	0,915±0,153	3,50±0,710 p<0,01 p _к <0,001	6,30±1,25 p<0,01 p _к <0,001
Інтерлейкін-4, нг /мг білка	1,36±0,215	1,47±0,221	2,11±0,506	1,68±0,425
Інтерлейкін-6, нг /мг білка	0,795±0,139	0,851±0,142	1,33±0,430	0,967±0,334
Інтерлейкін-10, нг /мг білка	1,43±0,234	1,59±0,347	1,91±0,420	1,71±0,430
Трансформувальний фактор росту β1, мкг / мг білка	1,22±0,219	1,12±0,206	1,73±0,352	1,618±0,349

Примітки: достовірність змін відносно: p – контрольних тварин; p_к – кролів із травмою склери; p₁ –першої дослідної групи; n – кількість тварин у групі

3.3. Вплив системного уведення глюкозоамінілмураміддипептиду (ГПМФ) на інтенсивність протеолізу, фібринолізу і ліпопероксидації та вміст цитокінів у склистому тілі ока кролів

Результати дослідження впливу системного уведення глюкозоамінілмураміддипептиду на динаміку змін протеолізу, фібринолізу і пероксидного окиснення ліпідів у склистому тілі наведені у табл. 3.6.

Через 24 год у склистому тілі значно зростала інтенсивність протеолітичної деструкції низько-, високомолекулярних білків і колагену: лізис азоальбуміну перевищував відповідні показники контрольних тварин і кролів із травмою склери відповідно у 5,2 і 4,7 рази, лізис азоказеїну – у 4,8 і 4,6 рази, лізис азоколу – у 2,3 і 2,0 рази.

Сумарна фібринолітична активність не відрізнялася від показників контрольних кролів, проте була на 15,1 % меншою ніж у кролів із травмою склери. Неферментативний фібриноліз зростав відповідно в 3,7 і 3,5 рази, а ферментативний, навпаки, зменшувався у 2,4 і 2,5 рази, що призводило до порушення структури загального фібринолізу (рис. 3.4). Уміст у склистому тілі дієнових кон'югатів та малонового діальдегіду збільшувався відносно контрольних показників відповідно у 3,6 і 3,7 та у 4,4 і 4,3 рази.

Через 72 год в склистому тілі кролів після системного уведення ГПМФ лізис азоальбуміну був на 52,7 і 38,9 % більшим за показники контрольних тварин і кролів із травмою склери, лізис азоказеїну – на 31,8 і 25,9 %, тоді як колагенолітична активність відповідала контрольним величинам, так само, як і сумарна інтенсивність тканинного фібринолізу. Показники неферментативної і ферментативної фібринолітичної активності не відрізнялися від таких у тварин контрольних груп. Вміст дієнових кон'югатів у склистому тілі відповідав такому в контрольних тварин і на 18,2% переважав величини в кролів з травмою склери. Тканинний вміст малонового альдегіду не відрізнявся від контрольних величин.

Таблиця 3.6

**Динаміка змін протеолізу, фібринолізу і ліпопероксидації в склистому тілі
ока після системного уведення глюкозоамінілмураміддипептиду ($M \pm m$)**

Показники, що вивчалися	Контрольні тварини n=11	Травма ока n=20	Термін після уведення ГІМФ	
			24 год, n=15 <i>1 група</i>	72 год, n=30 <i>2 група</i>
Лізис білка, мкг / г за год:				
азоальбуміну	11,9±1,12	13,1±1,30	61,7±3,49 p<0,001 p _к <0,001	18,2±0,92 p<0,001 p _к <0,01 p ₁ <0,001
азоказеїну	119±7,80	125±5,92	575±26,13 p<0,001 p _к <0,001	158±7,26 p<0,01 p _к <0,01 p ₁ <0,001
азоколу	22,4±0,94	25,7±1,38	51,9±3,26 p<0,001 p _к <0,001	25,0±1,02 p ₁ <0,001
Фібринолітична активність, мкг азофібрину / г білка за год:				
сумарна	599±47,2	623±43,2	508±19,7 p>0,06 p _к <0,05	568±35,4
неферментативна	78,3±7,17	83,9±6,15	292±12,85 p<0,001 p _к <0,001	91,7±4,04 p ₁ <0,001
ферментативна	520±46,7	539±38,7	216±7,45 p<0,001 p _к <0,001	477±31,9 p ₁ <0,001
Дієнові кон'югати, нмоль / г білка	0,080±0,007	0,077±0,005	0,285±0,013 p<0,001 p _к <0,001	0,091±0,004 p _к <0,05 p ₁ <0,001
Малоновий диальдегід, нмоль / г білка	0,099±0,006	0,100±0,008	0,427±0,019 p<0,001 p _к <0,001	0,102±0,005 p ₁ <0,001

Примітки: достовірність змін відносно: p – контрольних тварин; p_к – кролів із травмою склери; p₁ – тварин першої дослідної групи; n – кількість тварин

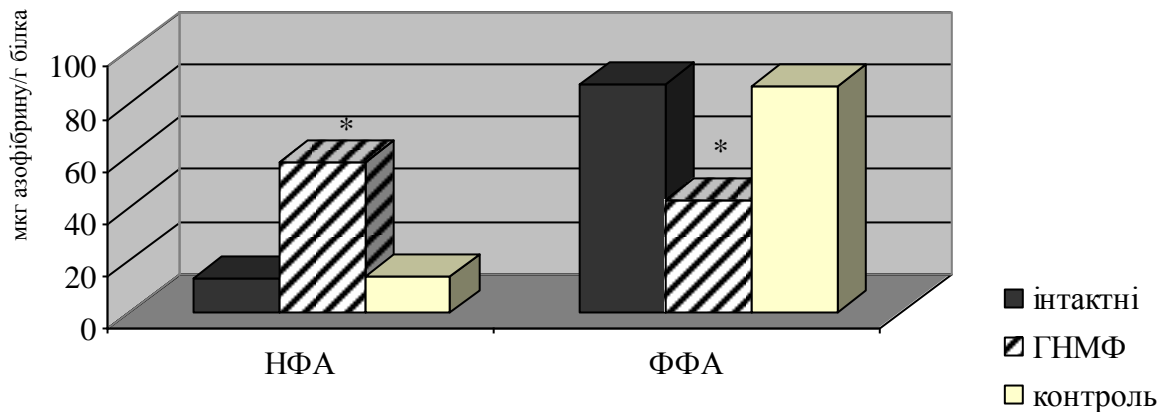


Рис. 3.4. Структура фібринолітичної активності в склистому тілі через 24 год після системного уведення ендотоксину граммпозитивної мікрофлори (у % від загальної інтенсивності фібринолізу)

Примітки: НФА – неферментативний фібриноліз, ФФА – ферментативний фібриноліз; ГНМФ – ендотоксин грамнегативної мікрофлори; достовірність змін відносно: * - контролю.

Через 72 год після уведення ГПМФ у склистому тілі практично відновлювалася нормальна структура загального фібринолізу (рис. 3.5).

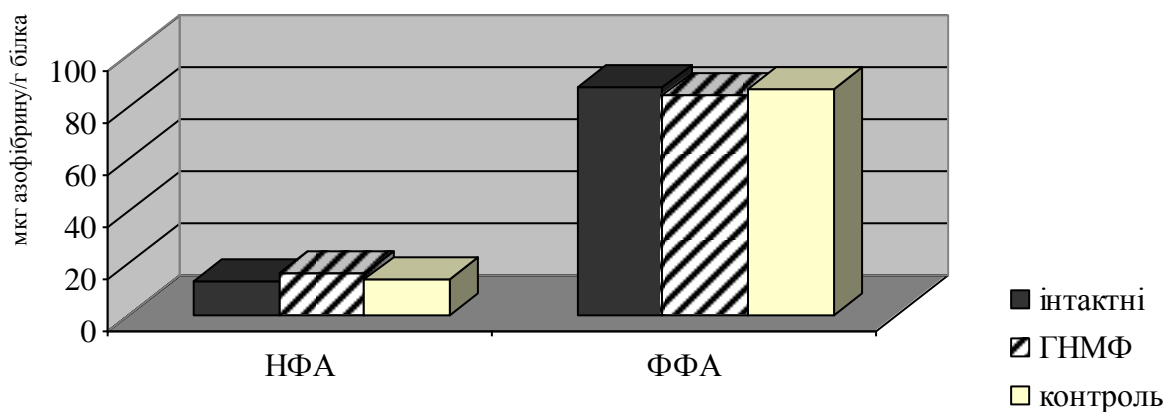


Рис. 3.5. Структура сумарної фібринолітичної активності в склистому тілі ока кролів через 72 год після системного уведення ГПМФ (у % від загальної інтенсивності фібринолізу)

Примітки: НФА – неферментативний фібриноліз, ФФА – ферментативний фібриноліз; ГНМФ – ендотоксин грамнегативної мікрофлори; достовірність змін відносно: * - контролю.

Результати дослідження впливу системного уведення ГПМФ на вміст цитокінів у склистому тілі ока кролів наведені у таблицях 3.7-3.8.

Таблиця 3.7

**Динаміка вмісту цитокінів у склистому тілі ока кролів після системного
уведення глюкозамінілмураміддипептиду ($M \pm m$)**

Показники, що вивчалися	Контрольні тварини n=11	Травма ока, n=20	Термін після введення ГПМФ	
			24 год, n=15 <i>1 група</i>	72 год, n=30 <i>2 група</i>
Інтерлейкін-2, нг / мг білка	0,938±0,151	1,04±0,198	3,22±0,516 p<0,001 p _к <0,001	1,24±0,201 p ₁ <0,001
Інтерлейкін-12, нг / мг білка	1,26±0,209	1,19±0,184	2,38±0,410 p<0,001 p _к <0,01	1,38±0,326
Інтерлейкін-4, нг / мг білка	1,36±0,215	1,47±0,221	2,41±0,413 p<0,05 p _к <0,05	5,83±1,149 p<0,01 p _к <0,01 p ₁ <0,05
Інтерлейкін-6, нг / мг білка	0,795±0,139	0,851±0,142	1,59±0,392	4,72±0,705 p<0,001 p _к <0,001 p ₁ <0,01
Інтерлейкін-10, нг / мг білка	1,43±0,234	1,59±0,347	2,12±0,496	6,68±1,371 p<0,01 p _к <0,01 p ₁ <0,05
Фактор некрозу пухлин α, нг / мг білка	0,824±0,147	0,915±0,153	1,36±0,205 p<0,05	0,873±0,243
Інтерферон-γ, нг / мг білка	0,549±0,092	0,637±0,107	1,74±0,347 p<0,01 p _к <0,01	0,796±0,154 p ₁ <0,01
Трансформу- вальний фактор росту β1, мкг / мг білка	1,22±0,219	1,12±0,206	1,87±0,335	5,19±0,995 p<0,01 p _к <0,01 p ₁ <0,05

Примітки: достовірність змін відносно: p – контрольних тварин; p_к – кролів із травмою склери; p₁ – першої дослідної групи; n – кількість тварин

3.4. Порівняльний аналіз ефектів системного уведення ліпополісахариду грамнегативної мікрофлори та глюкозоамінілмураміддипептиду на показники протеолізу, фібринолізу, ліпопероксидації та вмісту цитокінів у склистому тілі ока кролів

Результати порівняльного аналізу змін протеолізу, фібринолізу і ліпопероксидації у склистому тілі ока кролів, яким системно вводили ГНМФ або ГПМФ, наведені у таблиці 3.8. Аналізуючи динаміку змін інтенсивності протеолізу в склистому тілі, варто звернути увагу на наступне: якщо через 24 год лізис азоальбуміну та азоказеїну у кролів, яким вводили ГПМФ, був меншим, ніж у тварин, що отримували ГНМФ, відповідно на 33,8 і 44,0 %, то через 72 год інтенсивність протеолітичного розпаду низько- і високомолекулярних білків у другій дослідній групі виявилася нижчою у 4,3 і 7,9 раза.

Лізис азоколу мав іншу динаміку: через 24 год дослідження цей показник був на 36,7 % меншим у тварин, яким вводили ГПМФ, проте через 72 год колагенолітична активність у склистому тілі в 10,6 раза перевищувала таку у тварин, яким вводили ГНМФ (див. табл. 3.8).

Сумарний фібриноліз виявився меншим у кролів, які отримували ГПМФ, наприкінці експерименту – через 72 год на 28,1% (див. табл. 3.8).

Упродовж усього періоду спостереження неферментативна фібринолітична активність у склистому тілі була значно менша у кролів, яким системно вводили ГПМФ: через 24 год – на 38,2 %, через 72 год – у 8 разів. Навпаки, інтенсивність ферментативного фібринолізу у тварин другої дослідної групи зростала – відповідно у 2,3 і 8,1 раза.

Інтенсивність пероксидного окиснення ліпідів виявилася значно меншою в кролів, які отримували ГПМФ: вміст дієнових кон'югатів у склистому тілі тварин другої дослідної групи через 24 год був нижчий за такий у кролів, яким вводили ГНМФ, на 39,6 %, через 72 год – у 8,9 разів, а рівень малонового діальдегіду менший відповідно до термінів спостереження на 32,8 % та в 9,5 раза.

Таблиця 3.8

Порівняльний аналіз динаміки показників протеолізу, фібринолізу і ліпопероксидації в склистому тілі ока кролів після системного уведення ендотоксинів грамнегативної та грампозитивної мікрофлори ($M \pm m$)

Показники, що вивчалися	Характер впливу	Термін дослідження	
		24 год	72 год
Лізис азоальбуміну, мкг / г білка / год	ГНМФ	93,2±3,74 n=11	127±5,52 n=25
	ГПМФ	61,7±3,49 n=15 p<0,001	18,2±0,92 n=30 p<0,001
Лізис азоказеїну, мкг / г білка / год	ГНМФ	995±40,87 n=11	1248±61,98 n=25
	ГПМФ	575±26,13 n=15 p<0,001	158±7,26 n=30 p<0,001
Лізис азоколу, мкг / г білка / год	ГНМФ	81,9±3,66 n=11	8,00±2,26 n=25
	ГПМФ	51,9±3,26 n=15 p<0,001	25,0±1,02 n=30 p<0,001
Фібринолітична активність, мкг азофібрину / г білка / год:			
сумарна	ГНМФ	566±29,5 n=11	791±38,2 n=25
	ГПМФ	508±19,7 n=15	568±35,4 n=30 p<0,001
неферментативна	ГНМФ	472±23,1 n=11	731±33,0 n=25
	ГПМФ	292±12,8 n=15 p<0,001	91,7±4,04 n=30 p<0,001
ферментативна	ГНМФ	93,7±5,26 n=11	59,1±4,16 n=25
	ГПМФ	216±7,45 n=15 p<0,001	477±31,9 n=30 p<0,001
Дієнові кон'югати, нмоль / г білка	ГНМФ	0,472±0,029 n=11	0,809±0,035 n=25
	ГПМФ	0,285±0,013 n=15 p<0,001	0,091±0,004 n=30 p<0,001
Малоновий диальдегід, нмоль / г білка	ГНМФ	0,635±0,024 n=11	0,965±0,042 n=25
	ГПМФ	0,427±0,019 n=15 p<0,001	0,102±0,005 n=30 p<0,001

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

Порівняльний аналіз динаміки вмісту цитокінів у склистому тілі ока кролів, яким системно вводили ГНМФ або ГПМФ, наведений у таблиці 3.9.

Через 24 год вміст інтерлейкіну-2 у склистому тілі ока кролів досліджуваних груп достовірно не відрізнявся, проте через 72 год дослідження зазначений показник виявився у 6,4 раза меншим у тварин, яким внутрішньовенно вводили ГПМФ. Подібні результати отримані при порівняльному аналізі змін у склистому тілі вмісту інтерлейкіну-12 та рівня інтерферону- γ , який через 72 год був нижчим у тварин другої дослідної групи відповідно у 4,1 і 6,9 раза. Рівень TNF- α у склистому тілі ока через 24 год спостереження був у 2,6 раза менший у кролів, які отримували ГПМФ. Через 72 год вміст TNF- α у склистому тілі ока кролів, які отримували ГПМФ, був нижчим, ніж у тварин першої дослідної групи, у 7,3 раза.

Вміст у склистому тілі ока кролів інтерлейкіну-4 на початку експерименту в досліджуваних групах не відрізнявся, однак через 72 год спостереження рівень цього цитокіну у тварин другої дослідної групи перевищував такий у кролів, яким вводили ГНМФ, у 3,5 раза. Вміст інтерлейкіну-6 у склистому тілі ока тварин досліджуваних груп через 24 год дослідження був практично однаковим, проте через 72 год зріс у 4,9 раза у кролів, яким вводили ГПМФ. Уміст інтерлейкіну-10 у склистому тілі не відрізнявся через 24 год спостереження, через 72 год виявився в 3,9 раза більшим у тварин, яким вводили ГПМФ. Цілком аналогічна динаміка міжгрупових розбіжностей спостерігалася при аналізі концентрації трансформувального фактора росту β_1 , який через 72 год був у 3,2 раза більшим у тварин другої дослідної групи.

Таким чином, порівняльний аналіз свідчить, що в кролів, яким системно вводили ГПМФ, інтенсивність протеолітичного розпаду низько- і високомолекулярних білків, ліпопероксидації та неферментативна фібринолітична активність у склистому тілі є значно меншою, ніж у тварин, які отримували ГНМФ. Навпаки, колагенолітична активність і ферментативний фібриноліз є суттєво вищими в кролів першої дослідної групи. За внутрішньовенного введення ГНМФ, вміст у склистому тілі таких цитокінів, як інтерлейкін-2, інтерлейкін-12, інтерферон- γ та фактор некрозу пухлин α , є набагато більшим, ніж за введення ГПМФ.

Таблиця 3.9

**Порівняльний аналіз змін вмісту цитокінів у склистому тілі ока
кролів після 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	ГНМФ	5,14±1,08 n=11	7,87±1,57 n=20
	ГПМФ	3,21±0,516 n=11	1,24±0,201 n=20 p<0,001
Інтерлейкін-12, нг / мг білка	ГНМФ	3,49±0,896 n=11	5,73±1,045 n=20
	ГПМФ	2,38±0,410 n=11	1,38±0,326 n=20 p<0,001
Інтерферон-γ, нг / мг білка	ГНМФ	2,42±0,788 n=11	5,52±0,974 n=20
	ГПМФ	1,74±0,347 n=11	0,796±0,154 n=20 p<0,001
Фактор некрозу пухлин α, нг / мг білка	ГНМФ	3,50±0,710 n=11	6,30±1,25 n=20
	ГПМФ	1,36±0,205 n=11 p<0,01	0,873±0,243 n=20 p<0,001
Інтерлейкін-4, нг / мг білка	ГНМФ	2,12±0,506 n=11	1,68±0,425 n=20
	ГПМФ	2,41±0,413 n=11	5,83±1,149 n=20 p<0,01
Інтерлейкін-6, нг / мг білка	ГНМФ	1,33±0,430 n=11	0,967±0,334 n=20
	ГПМФ	1,59±0,392 n=11	4,72±0,705 n=20 p<0,001
Інтерлейкін-10, нг / мг білка	ГНМФ	1,91±0,420 n=11	1,71±0,430 n=20
	ГПМФ	2,12±0,496 n=11	6,68±1,371 n=20 p<0,001
Трансформувальний фактор росту β1, мкг / мг білка	ГНМФ	1,73±0,352 n=11	1,61±0,349 n=20
	ГПМФ	1,87±0,335 n=11	5,19±0,995 n=20 p<0,01

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

З іншого боку, у кролів другої дослідної групи в склистому тілі виявляється значно вищий вміст інтерлейкіну-4, інтерлейкіну-6, інтерлейкіну-10 і трансформувального фактора росту $\beta 1$. Звертає на себе увагу, що межі розбіжностей досліджуваних показників у тварин дослідної і контрольної груп розширюються зі збільшенням терміну дослідження.

Висновки до третього розділу:

1. У склистому тілі кролів із проникаючою травмою склери під впливом ендотоксину грамнегативної мікрофлори різко зростає вміст IL-1 β та TNF- α , що за відсутності змін з боку γ -INF супроводжується майже триразовим збільшенням вмісту TGF- $\beta 1$.

2. Інтравітреальне уведення ендотоксину грампозитивної мікрофлори при проникаючій травмі склери призводить до помірного підвищення вмісту в склистому тілі IL-1 β і TNF- α та значно збільшує рівень γ -INF на тлі сталого вмісту TGF- $\beta 1$.

3. У кролів із проникаючою травмою склери через 24 год після поранення протеолітичний розпад низько- і високомолекулярних білків у склистому тілі залишається сталим, а інтенсивність колагенолізу знижується. Поранення склери на тлі інтравітреального уведення ендотоксинів грамнегативної та грампозитивної мікрофлори призводить до значного зростання інтенсивності лізису низько-, високомолекулярних білків та колагену.

4. Інтравітреальне уведення глюкозоамінілмураміддипептиду призводить до зменшення неферментативної фібринолітичної активності, а уведення ліпополісахариду грамнегативної мікрофлори – до її зростання.

5. Після системного уведення ліпополісахариду грамнегативної мікрофлори через 24 год та 72 год у склистому тілі кролів значно зростає лізис низько- і високомолекулярних білків. Колагенолітична активність у склистому тілі через 24 год після уведення ендотоксину зростає, однак через 72 год – зменшується.

6. Сумарна фібринолітична активність у склистому тілі через 24 год після уведення ендотоксину грамнегативної мікрофлори відповідає контрольним показникам, через 72 год – збільшується. Неферментативна фібринолітична активність впродовж всього періоду спостереження перевищує контрольні величини, а ферментативна значно зменшується в усі терміни спостереження:

7. Упродовж всього експерименту в склистому тілі різко зростає інтенсивність пероксидного окиснення ліпідів, про що свідчить підвищення вмісту дієнових кон'югатів і малонового альдегіду.

10. Динаміка змін тканинного вмісту інтерлейкіну-2, інтерлейкіну-12, інтерферону- γ та фактора некрозу пухлин α у склистому тілі характеризуються різким підвищенням через 24 год та значним збільшенням через 72 год спостереження. Вміст у склистому тілі інтерлейкіну-4, інтерлейкіну-6, інтерлейкіну-10 і трансформувального фактора росту β 1 достовірних змін не зазнає.

11. Системне уведення ендотоксину грампозитивної мікрофлори спричиняє зростання у склистому тілі через 24 год інтенсивності протеолітичної деструкції низько-, високомолекулярних білків і колагену. Неферментативна фібринолітична активність суттєво підвищується, ферментативний фібриноліз зменшується. Уміст дієнових кон'югатів, малонового альдегіду, інтерлейкіну-2, інтерлейкіну-4, інтерлейкіну-12, інтерферону- γ , фактора некрозу пухлин α достовірно зростає.

12. Через 72 год після уведення ендотоксину грампозитивної мікрофлори в склистому тілі зростає лізис азоальбуміну та азоказеїну, вміст дієнових кон'югатів, трансформувального фактора росту β 1, інтерлейкіну-4, інтерлейкіну-6, інтерлейкіну-10.

Матеріали цього розділу оприлюднено в роботах:

[90] 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. 6, № 1. – С. 80-83.

[49] Івасюк Л.В. Вплив ендотоксинів грамнегативної і грампозитивної мікрофлори на інтенсивність фібринолізу у склистому тілі ока кролів з проникним пораненням склери / Л.В Івасюк, Я.І. Пенішкевич // Клінічна та експериментальна патологія. – 2008. –№3. – С. 56-60.

[50] Івасюк Л.В. Вплив ендотоксинів грамнегативної і грампозитивної мікрофлори на інтенсивність протеолізу в склистому тілі ока кроликів з проникним пораненням склери / Л.В.Івасюк, Я.І.Пенішкевич // Буковинський медичний вісник. – 2009. – Т. 13, № 2. – С. 69.-72.

РОЗДІЛ 4
ХАРАКТЕРИСТИКА РЕГУЛЯЦІЇ АГРЕГАТНОГО СТАНУ
КРОВІ, ПЛАЗМОВОГО І ТКАНИННОГО ФІБРИНОЛІЗУ
У ЩУРІВ, ЯКІ ЗАЗНАВАЛИ СИСТЕМНОЇ ДІЇ
ГЛЮКОЗОАМІНІЛМУРАМІЛДИПЕПТИДУ

Для визначення змін системи регуляції агрегатного стану крові використані дві контрольні групи щурів. Перша група – інтактні тварини, друга – щури, які отримували еквівалентний об'єм розчинника ГМД. Результати дослідження коагуляційного потенціалу крові наведені у таблиці 4.1.

Жоден із досліджуваних показників у двох контрольних групах щурів достовірно між собою не відрізнявся, тому опис змін у тексті наведений щодо показників дослідних щурів і тварин другої контрольної групи.

Через 24 год після уведення ГМД час рекальцифікації плазми крові скорочувався на 34,2%, активований парціальний тромбoplastиновий час – на 27,6 %, протромбіновий час – на 29,7 %, тромбіновий час – на 40,8 %, що свідчить про хронометричну гіперкоагуляцію з активацією процесів зовнішнього і внутрішнього механізмів утворення протромбінази, про що свідчить скорочення часу появи фібринового згустка як після додавання тканинного тромбoplastину, так і після рекальцифікації плазми крові. Крім того, активацію внутрішнього механізму згортання крові підтверджує зменшення активованого часткового тромбoplastинового часу. Кінцеві етапи коагуляції також активовані – тромбіновий час скорочений майже вдвічі, що вказує на значну інтенсифікацію фібриногенезу.

На тлі цього у тварин, яким вводили ГМД, відмічалось зниження активності антитромбіну III на 25,1 %, що є свідченням пригнічення всієї протизгортальної активності крові, оскільки остання на 95 % презентована антитромбіном III. Крім того, кофактор II гепарину синтезується й переходить в активний стан строго паралельно активації антитромбіну III.

Таблиця 4.1

**Характеристика коагуляційного потенціалу крові через 24 год після
уведення глюкозамінілмураміддипептиду (M±m)**

Показники, що досліджувались	Інтактні тварини, n=15	Уведення розчинника, n=12	Уведення ГМД, n=15
Час рекальцифікації, с	73,6±3,24	77,7±3,62	51,1±2,58 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001
Активованій частковий тромбoplastиновий час, с	40,1±2,51	40,1±3,24	29,0±1,48 p ₁ <0,001 p ₂ <0,01
Протромбіновий час, с	23,0±1,44	22,3±1,64	15,6±0,77 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001
Тромбіновий час, с	13,3±0,65	13,6±0,70	8,08±0,58 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001
Активність антитромбіну III, %	94,6±3,13	97,4±3,12	72,4±3,87 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001
Відсоток адгезивних тромбоцитів, %	40,5±2,08	40,1±2,80	56,2±2,65 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001
Індекс спонтанної агрегації тромбоцитів, %	1,42±0,13	1,27±0,13	6,10±0,63 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001
Концентрація в крові фібриногену, г/л	3,85±0,15	3,82±0,06	4,98±0,18 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001

Примітки: достовірність змін відносно показників у тварин: p₁ – інтактних; p₂ – після введення розчинника; n - кількість спостережень

Підвищення прокоагуляційного потенціалу плазмових факторів згортання крові супроводжувалось активацією тромбоцитарно-судинного гемостазу, що характеризувалося збільшенням адгезивності тромбоцитів на 16,2 % при зростанні індексу їх спонтанної агрегації майже у 5 разів. Загальну картину підвищеної готовності крові до тромбоутворення доповнювало підвищення плазмової концентрації фібриногену на 30 %.

Це свідчить, що через 24 год після уведення ГМД розвивається як хронометрична, так і структурна (за функціональною активністю тромбоцитів) гіперкоагуляція. Підвищення коагуляційного потенціалу крові відбувається на тлі зниження її протизгортальної активності, збільшення функціональної активності тромбоцитів та концентрації в крові фібриногену, що створює реальну загрозу як для макро-, так і для мікротромбоутворення.

У тварин, яким вводили ГМД, спостерігалось (табл. 4.2) підвищення СФФ плазми крові на 50,2 %, що було пов'язано як з активацією неферментативного фібринолізу на 41,7 %, так і з підвищенням інтенсивності ензиматичного лізису фібрину на 49,1 %.

Відповідно до збільшення плазмового фібринолізу зростала активність антиплазмінів за рахунок їх швидкодіючої фракції, активність повільнодіючих антиплазмінів достовірно від контрольних показників не відрізнялась. Як результат збільшення прокоагуляційного потенціалу крові та активації систем плазмового фібринолізу підвищувалася концентрація в крові розчинних комплексів фібрин-мономера.

Таким чином, через 24 год після уведення ГМД активація систем плазмового фібринолізу супроводжується підвищенням активності антиплазмінів при появі в крові розчинних комплексів мономерного фібрину.

Характерним є те, що при цьому змін у структурі сумарної фібринолітичної активності не відмічалось (рис. 4.1): відсоток співвідношення неферментативного і ферментативного фібринолізу відповідав контролю. Крім того, при сталій потенційній активності плазміногену спостерігалась активація Хагеман-залежного фібринолізу.

Таблиця 4.2

**Характеристика фібринолітичного потенціалу крові через 24 год
після уведення глюкозоамінілмураміддипептиду (M±m)**

Показники, що досліджувались	Група тварин		
	Інтактні, n=15	Уведення розчинника, n=12	Уведення ГМД, n=15
Сумарна фібринолітична активність плазми, мкмоль азофібрину/мл за 1 год	6,38±0,34	6,95±0,42	10,4±0,30 p<0,001
Неферментативна фібринолітична активність плазми, мкмоль азофібрину/мл за 1 год	0,62±0,06	0,60±0,06	0,85±0,05 p<0,01
Ферментативна фібринолітична активність плазми, мкмоль азофібрину/мл за 1 год	5,77±0,34	6,43±0,42	9,59±0,29 p<0,001
Хагеман-залежний фібриноліз, хв	13,9±0,70	13,8±0,86	7,59±0,42 p<0,001
Потенційна активність плазміногену, хв	15,4±0,85	15,2±0,80	15,3±0,60
Загальна активність антиплазмінів, %	84,9±2,88	84,6±2,61	135±5,07 p<0,001
Активність швидкодіючих антиплазмінів, %	80,5±2,57	81,0±2,44	97,3±2,18 p<0,001
Активність повільнодіючих антиплазмінів, %	78,7±2,73	74,8±2,62	80,9±2,02
Концентрація розчинних комплексів фібрин-мономеру у плазмі крові, мкг/л	не визначається	не визначається	3,91±0,43

Примітки: p – достовірність змін відносно показників у тварин контрольних груп; n – кількість спостережень

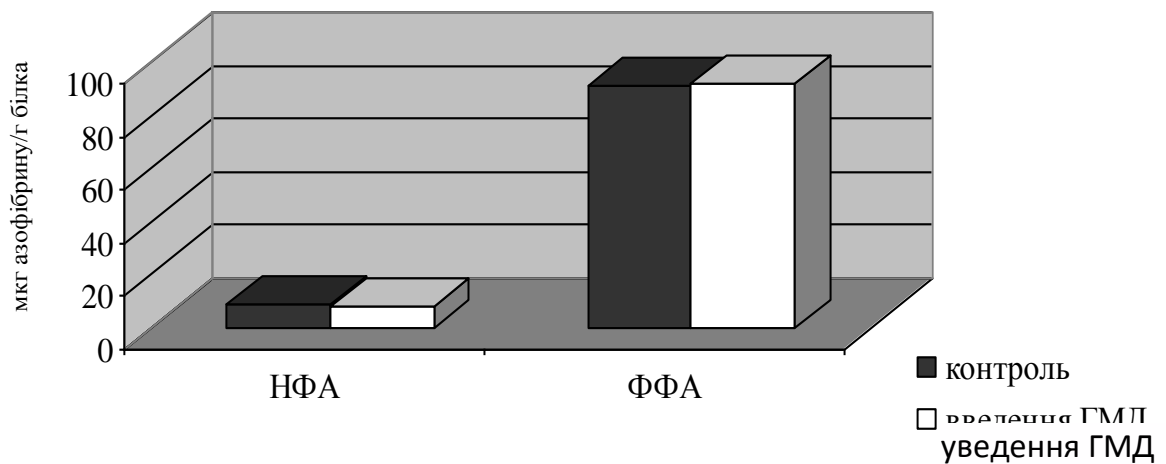


Рис. 4.1. Структура сумарної фібринолітичної активності плазми крові через 24 год після введення глюкозоамінілмураміддипептиду (у % від сумарної інтенсивності фібринолізу)

Зміни тканинного фібринолізу в цей період експерименту характеризувалися (табл. 4.3) підвищенням сумарної фібринолітичної активності тканини селезінки на 21,0 %. При цьому збільшення неферментативного фібринолізу складало 34,5 %, а ферментативної фібринолітичної активності – 20,7 % від контрольного рівня. Структура сумарного тканинного фібринолізу в селезінці практично не змінювалась (рис. 4.2).

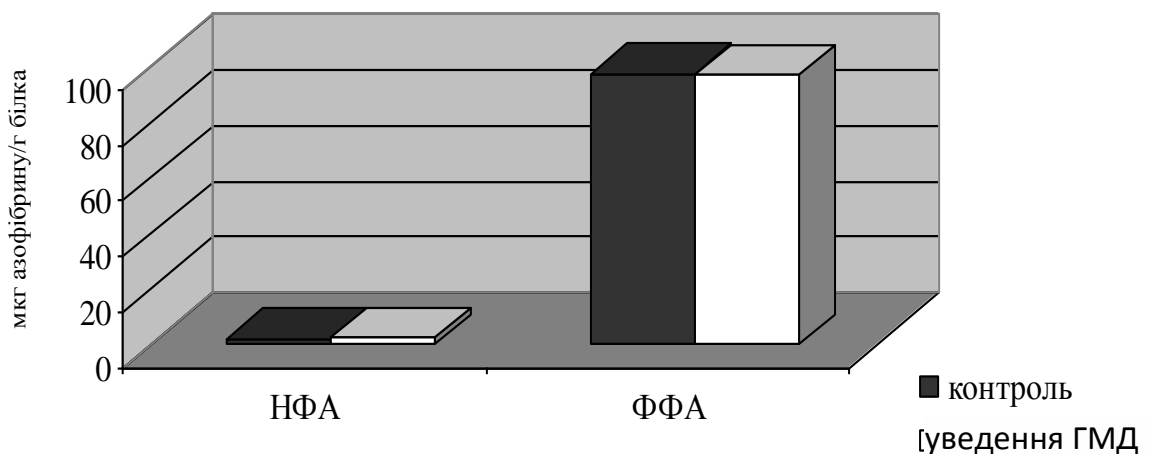


Рис. 4.2. Структура сумарної фібринолітичної активності в тканині селезінки через 24 год після введення глюкозоамінілмураміддипептиду (в % від сумарної інтенсивності фібринолізу)

Таблиця 4.3

**Характеристика тканинної фібринолітичної активності через
24 год після уведення глюкозамінілмураміддипептиду (M±m)**

Показники, що досліджувались	Група тварин		
	Інтактні, n=15	Уведення розчинника n=12	Уведення ГМД, n=15
Фібриноліз у тканині селезінки (мкг азофібрину/ 1 г за 1 год)			
- сумарний	59,4±2,42	64,3±2,09	77,8±2,08 p<0,001
- неферментативний	1,25±0,14	1,39±0,13	1,87±0,11 p<0,01
- ферментативний	58,16±2,50	62,93±2,12	75,98±2,12 p<0,001
Фібриноліз у тканині міокарду (мкг зофібрину/1 г за 1 год)			
- сумарний	10,74±0,60	10,30±0,58	15,42±0,64 p<0,001
- неферментативний	4,96±0,26	4,63±0,25	6,17±0,34 p<0,01
- ферментативний	5,51±0,25	5,67±0,35	9,25±0,35 p<0,001
Фібриноліз у тканині легень (мкг азофібрину/1 г за 1 год)			
- сумарний	11,73±0,20	11,67±0,31	18,83±0,53 p<0,001
- неферментативний	5,55±0,15	5,72±0,27	6,41±0,18 p ₁ <0,01
- ферментативний	6,18±0,17	5,95±0,13	12,41±0,47 p<0,001

Примітки: p – достовірність змін відносно показників у тварин контрольних груп; n – кількість спостережень

Загальна фібринолітична активність у тканині серця в щурів, яким вводили ГМД, підвищувалась (див. табл. 4.3) на 49,7 % при збільшенні інтенсивності ензиматичного та неензиматичного лізису фібрину на 33,3 та 63,3 %, відповідно. Отже, у тканині серця в дещо більшій мірі підвищувалась активність ферментативного фібринолізу, що підтверджується змінами структури СФА (рис. 4.3).

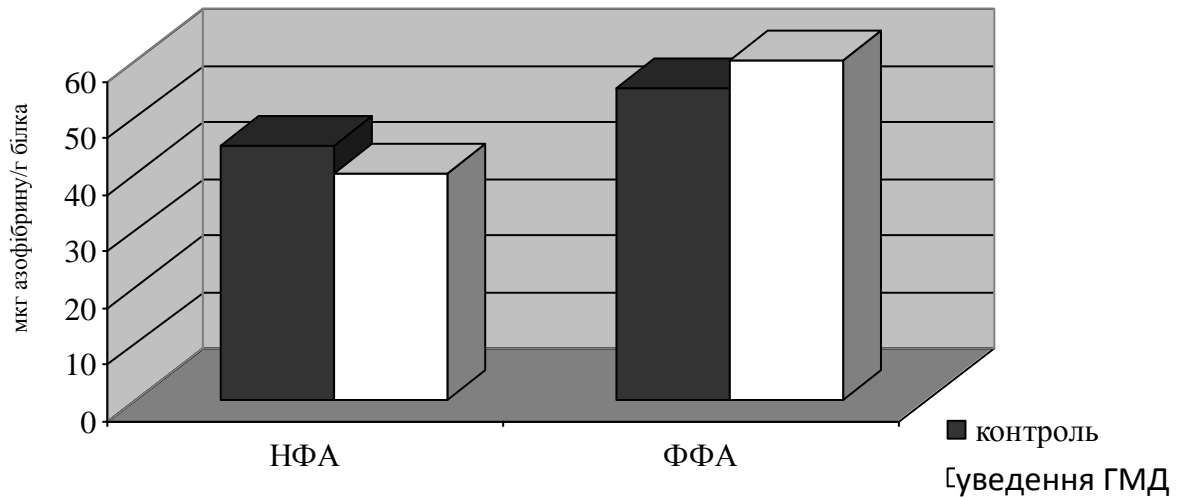


Рис. 4.3. Структура фібринолітичної активності в тканині серця через 24 год після уведення глюкозамінілмураміддипептиду (в % від сумарної інтенсивності фібринолізу)

Сумарний фібриноліз у легенях через 24 год після уведення ГМД зростав (див. табл. 4.3) на 61,4 %. Ферментативна фібринолітична активність зростала у 2,1 раза, а неферментативний лізис фібрину підвищувався тільки на 12,1 %, що спричинило перебудову структури сумарної фібринолітичної активності з переважанням вискоєфективного ферментативного фібринолізу (рис. 4.4).

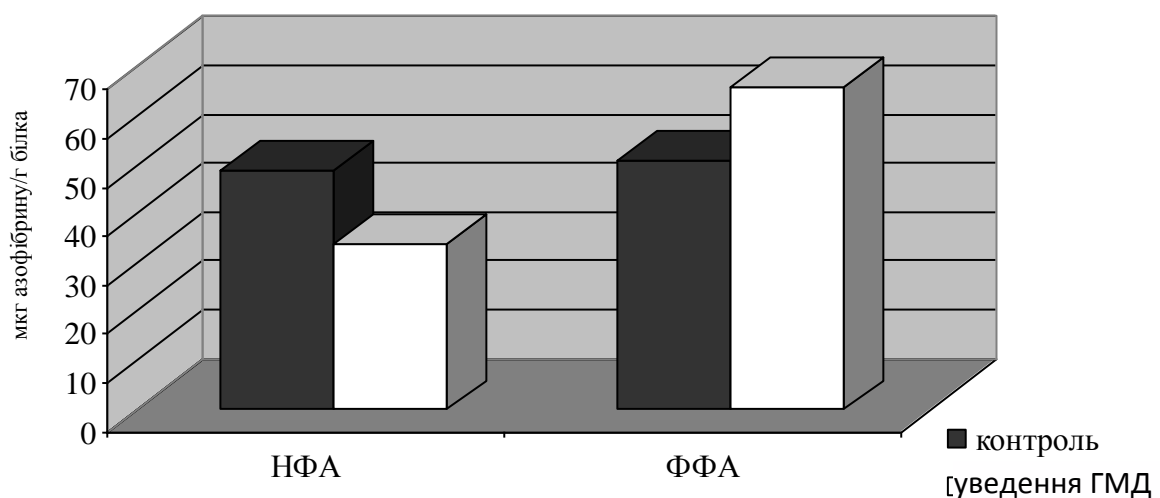


Рис. 4.4. Структура фібринолітичної активності в тканині легень через 24 год після уведення глюкозамінілмураміддипептиду (у % від сумарної інтенсивності фібринолізу)

Сумарна фібринолітична активність у печінці зростала на 67,3 % стосовно контролю (табл. 4.4).

Таблиця 4.4

Характеристика тканинної фібринолітичної активності через 24 год після уведення глюкозоамінілмураміддипептиду ($M \pm m$)

Показники, що досліджувались	Група тварин		
	Інтактні тварини n=15	Уведення розчинника група, n=12	Уведення ГМД n=15
Фібриноліз у тканині печінки (мкг азофібрину/1 г за 1 год)			
- сумарний	15,6±0,46	15,8±0,69	26,4±0,91 p<0,001
- неферментативний	6,83±0,27	7,42±0,34	9,16±0,47 p<0,001
- ферментативний	8,79±0,23	8,34±0,37	17,2±0,53 p<0,001
Фібриноліз у кортикальній тканині нирок (мкг азофібрину/1 г за 1 год)			
- сумарний	10,7±0,27	10,7±0,38	19,8±0,61 p<0,001
-неферментативний	4,66±0,17	4,77±0,21	5,69±0,13 p<0,01
- ферментативний	6,02±0,17	5,95±0,20	14,1±0,57 p<0,001

Примітки: p – достовірність змін відносно показників у тварин контрольних груп; n – кількість спостережень

Збільшення інтенсивності неензиматичного лізису фібрину в тканині печінки складало 23,5 %, а ферментативний фібриноліз був у 2,1 раза більшим за контрольні величини, що призвело до змін структури сумарної інтенсивності лізису фібрину з переважанням частки ферментативного фібринолізу (рис. 4.5).

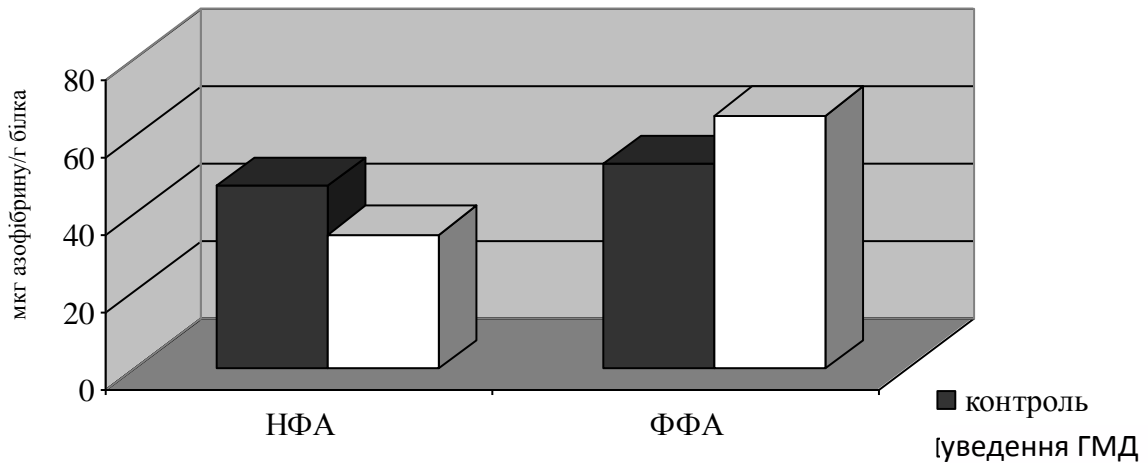


Рис. 4.5. Структура фібринолітичної активності в тканині печінки через 24 год після уведення глюкозамінілмураміддипептиду (у % від сумарної інтенсивності фібринолізу)

Найбільше сумарна фібринолітична активність у тварин, яким вводили ГМД, зростала в кортикальній тканині нирок – на 84,8 % від контрольного рівня. При цьому підвищення інтенсивності неферментативного фібринолізу складало 19,3 %, тоді як ензиматичного лізису фібрину – збільшувалась у 2,4 раза. У результаті частка ферментативної фібринолітичної активності в структурі сумарного фібринолізу в кортикальній тканині нирок була більшою на 70 % (рис. 4.6).

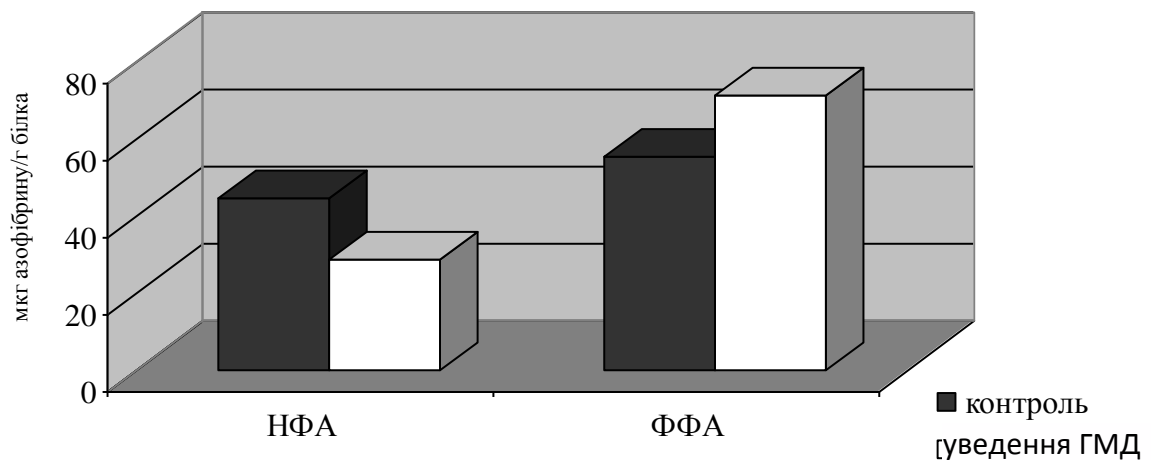


Рис. 4.6. Структура фібринолітичної активності в кортикальній тканині нирок через 24 год після уведення глюкозамінілмураміддипептиду (у % від сумарної інтенсивності фібринолізу)

Таким чином, через 24 год після уведення ГМД у тканинах селезінки, серця, легень, печінки і нирок зміни фібринолізу характеризуються підвищенням сумарної фібринолітичної активності за рахунок інтенсивності як ферментативного, так і неферментативного фібринолізу. У тканині легень, печінки і нирок переважає високоефективний ензиматичний лізис фібрину.

У табл. 4.5 представлені зміни коагуляційного потенціалу крові через 72 год після уведення ГМД.

Таблиця 4.5

Характеристика коагуляційного потенціалу крові через 72 год після уведення глюкозамінураміддипептиду ($M \pm m$)

Показники, що досліджувались	Група тварин		
	Інтактні, n=15	Уведення розчинника, n=12	Уведення ГМД, n=12
Час рекальцифікації, с	73,6±3,24	77,7±3,62	93,5±2,95 p<0,001
Активованій частковий тромбoplastиновий час, с	40,1±2,51	40,1±3,24	47,4±2,55
Протромбіновий час, с	23,0±1,44	22,3±1,64	29,2±1,70 p<0,01
Тромбіновий час, с	13,3±0,65	13,6±0,70	17,5±1,26 p ₁ <0,01
Активність антитромбіну III, %	94,6±3,13	97,4±3,12	60,4±2,13 p<0,001
Відсоток адгезивних тромбоцитів, %	40,5±2,08	40,1±2,80	80,4±2,13 p<0,001
Індекс спонтанної агрегації тромбоцитів, %	1,42±0,13	1,27±0,13	13,8±0,80 p<0,001
Концентрація в крові фібриногену, г/л	3,85±0,15	3,82±0,06	3,67±0,08

Примітки: p – достовірність змін відносно показників у тварин контрольних груп; n – кількість спостережень

Вони характеризувалися подовженням часу рекальцифікації плазми крові на 20,4 %, однак активований частковий тромбопластиновий час, котрий точніше віддзеркалює стан внутрішнього механізму утворення протромбіназного комплексу, достовірно від контрольних показників не відрізнявся.

Протромбіновий час у щурів, яким вводили ГМД, на 31,3 % перевищував контрольні величини, тоді як час утворення фібринового згустка після додавання в плазму тромбіну зростав на 28,6 %.

Отже, через 72 год після уведення ГМД спостерігається хронометрична гіпокоагуляція, більш виражена з боку зовнішнього механізму згортання крові, що поєднується з чітким уповільненням процесів фібриногенезу.

Активність антитромбіну III у даний період досліджу зменшувалася на 37 %, що супроводжувалося різким підвищенням функціональної активності тромбоцитів: відсоток адгезивних тромбоцитів зростав вдвічі, а індекс їх спонтанної агрегації збільшувався майже в 11 разів. Достовірних змін концентрації фібриногену в плазмі крові через 72 год після уведення ГМД не було.

Таким чином, у щурів, яким вводили ГМД, через 72 год відбувається явне гальмування процесів утворення протромбіназного комплексу за зовнішнім механізмом згортання крові, що супроводжується уповільненням кінцевих етапів коагуляційного гемостазу. При цьому зниження протизгортального потенціалу крові поєднується з різкою активацією тромбоцитарної ланки первинного гемостазу, що навіть за відсутності змін з боку фібриногену крові створює високий ризик внутрішньосудинної гемокоагуляції.

Через 72 год після уведення ГМД зміни в системі плазмового фібринолізу характеризувалися зниженням сумарної фібринолітичної активності на 49,8 %, причому неферментативний фібриноліз зростав на 43,3 %, тоді як ферментативна фібринолітична активність, навпаки, зменшувалася на 59,1 % (табл. 4.6).

Таблиця 4.6

**Характеристика фібринолітичного потенціалу крові через 72 год
після уведення глюкозоамінілмураміддипептиду (M±m)**

Показники, що досліджувались	Група тварин		
	Інтактні, n=15	Уведення розчинника n=12	Уведення ГМД, n=12
Фібринолітична активність плазми, мкмоль азофібрину/мл за 1 год			
Сумарна	6,38±0,34	6,95±0,42	3,49±0,22 p<0,001
Неферментативна	0,62±0,06	0,60±0,06	0,86±0,03 p<0,01
Ферментативна	5,77±0,34	6,43±0,42	2,63±0,22 p ₁ <0,001
Хагеман-залежний фібриноліз, хв.	13,9±0,70	13,7±0,86	26,7±1,99 p<0,001
Потенціальна активність плазміногену, хв	15,4±0,85	15,2±0,80	25,4±2,40 p<0,001
Загальна активність антиплазмінів, %	84,88±2,88	84,6±2,61	150±3,67 p<0,001
Активність швидкодіючих антиплазмінів, %	80,5±2,57	81,0±2,44	121±5,33 p<0,001
Активність повільнодіючих антиплазмінів, %	78,7±2,73	74,8±2,62	143±4,13 p<0,001
Концентрація розчинних комплексів фібрин-мономера у плазмі крові, мкг/л	не визначається	не визначається	9,97±0,67

Примітки: p – достовірність змін відносно показників у тварин контрольних груп; n – кількість спостережень

Тобто, у структурі сумарного плазмового фібринолізу значно підвищувалася частка низькоефективного неензиматичного лізису фібрину (рис. 4.7).

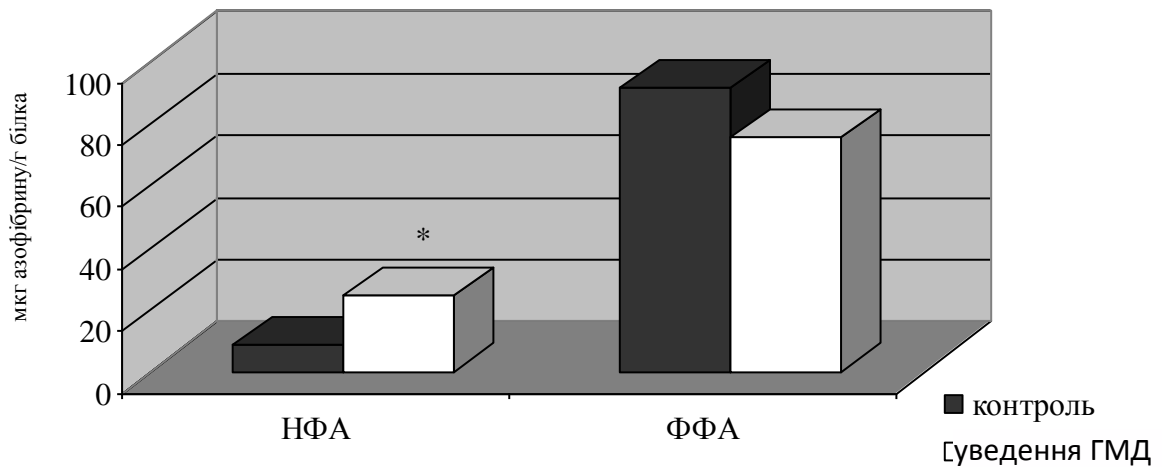


Рис. 4.7. Структура фібринолітичної активності плазми крові через 72 год після уведення глюкозамінілмураміддипептиду (ГМД) (у % від сумарної інтенсивності фібринолізу)

Примітка: * – вірогідність змін відносно контролю.

Інтенсивність Хагеман-залежного фібринолізу також різко (в 1,9 раза) знижувалась. Крім того, у тварин, яким вводили ГМД, відмічалось зменшення потенційної активності плазміногену на 67,0 %. Пригнічення фібринолітичної активності плазми крові відбувалося на тлі неадекватного підвищення активності антиплазмінів, причому, як швидкодіючої (на 40,5 %), так і повільнодіючої (на 68,8 %) їх фракцій. У цей період експерименту в крові тварин виявлялися високі концентрації розчинних комплексів фібрин-мономера.

Таким чином, через 72 год після уведення ГМД глибока депресія плазмового ферментативного фібринолізу, зниження інтенсивності Хагеман-залежного фібринолізу та значне зменшення потенційної активності плазміногену поєднується з неадекватною активацією анти плазмінів і накопиченням в крові розчинних комплексів фібрин-мономера.

Зміни тканинного фібринолізу в даний період спостереження представлені в табл. 4.7.

Таблиця 4.7

**Характеристика тканинної фібринолітичної активності через 72 год
після уведення глюкозоамінілмураміддипептиду (M±m)**

Показники, що досліджувались	Група тварин		
	Інтактні, n=15	Уведення розчинника, n=12	Уведення ГМД, n=12
Фібриноліз у тканині селезінки (мкг азофібрину/ 1 г за 1 год)			
- сумарний	59,4±2,42	64,3±2,09	33,4±2,22 p<0,001
- неферментативний	1,25±0,14	1,39±0,13	1,96±0,09 p<0,001
- ферментативний	58,2±2,50	62,9±2,12	31,5±2,19 p<0,001
Фібриноліз у тканині серця (мкг азофібрину/1 г за 1 год)			
- сумарний	10,7±0,60	10,3±0,58	10,4±0,57
- неферментативний	4,96±0,26	4,63±0,25	6,09±0,40 p<0,05
- ферментативний	5,51±0,25	5,67±0,35	4,30±0,41 p<0,02
Фібриноліз у тканині легень (мкг азофібрину/1 г за 1 год)			
- сумарний	11,7±0,20	11,7±0,31	11,2±0,61
- неферментативний	5,55±0,15	5,72±0,27	7,95±0,74 p<0,01
- ферментативний	6,18±0,17	5,95±0,13	3,28±0,18 p<0,001

Примітки p – достовірність змін відносно показників у тварин контрольних груп; n – кількість спостережень

Вони характеризувалися зниженням сумарної фібринолітичної активності селезінки на 48,0 %, неферментативний фібриноліз зростав на 41,0 %, ензиматичний лізис фібрину зменшувався майже вдвічі. Значного порушення структури сумарної фібринолітичної активності в селезінці не було (рис. 4.8).

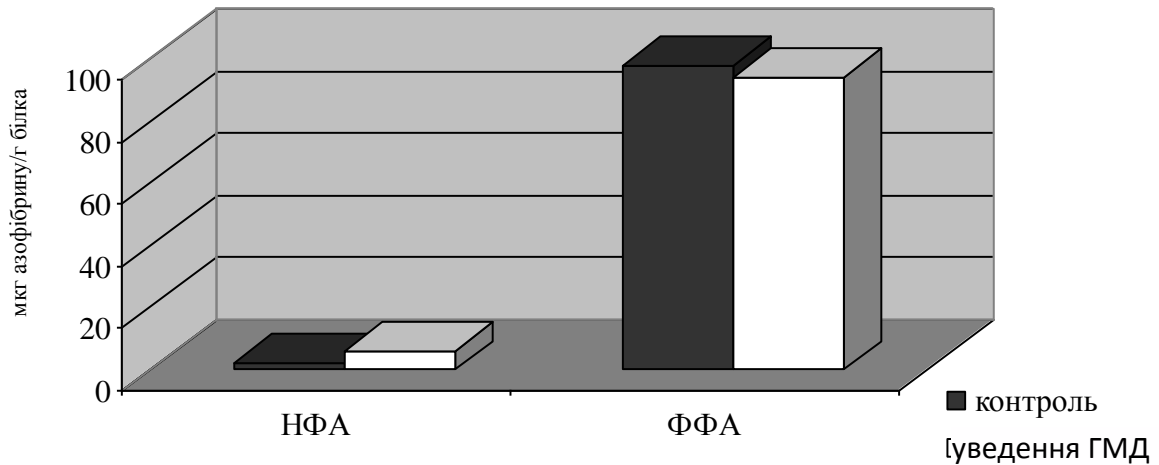


Рис. 4.8. Структура фібринолітичної активності в тканині селезінки через 72 год після уведення глюкозоамінілмураміддипептиду (у % від сумарної інтенсивності фібринолізу)

Сумарна фібринолітична активність тканини міокарда в щурів, яким уводили ГМД, відповідала контрольним показникам, однак при цьому спостерігалось підвищення неферментативної фібринолітичної активності на 31,5 % на тлі зменшення інтенсивності ферментативного фібринолізу на 24,2 %. У результаті відбувалося грубе порушення структури сумарного фібринолізу: частка низькоефективного неензиматичного лізису фібрину перевищувала ферментативну фібринолітичну активність на 17,2 % (рис. 4.9).

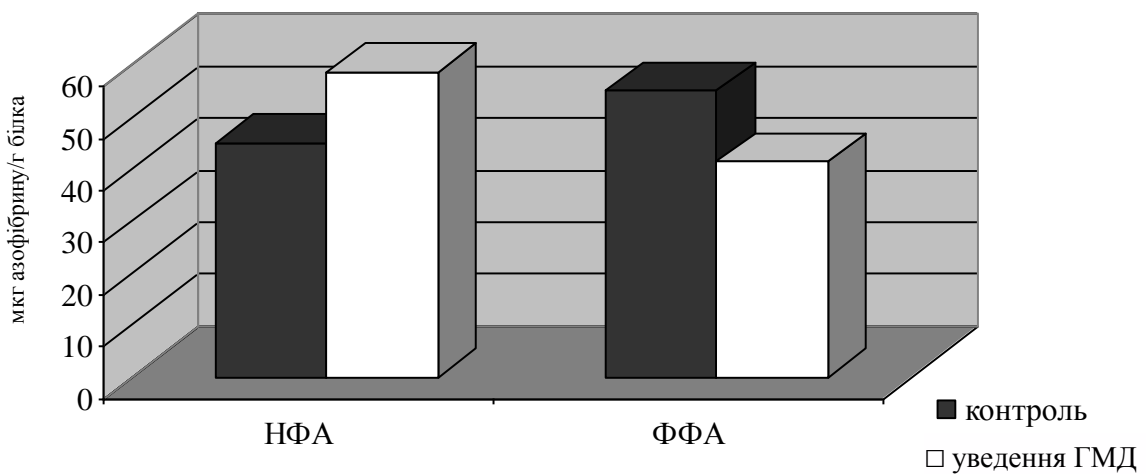


Рис. 4.9. Структура фібринолітичної активності в тканині серця через 72 год після уведення глюкозоамінілмураміддипептиду (у % від сумарної інтенсивності фібринолізу)

Подібні зміни тканинного фібринолізу спостерігалися й у легенях: при відповідності сумарної фібринолітичної активності контрольним величинам неензиматичний лізис фібрину перевищував контроль на 39,0 %, а інтенсивність ферментативного, навпаки, була на 44,9 % нижчою за контроль. У структурі сумарної фібринолітичної активності міокарда переважав неферментативний фібриноліз (рис. 4.10).

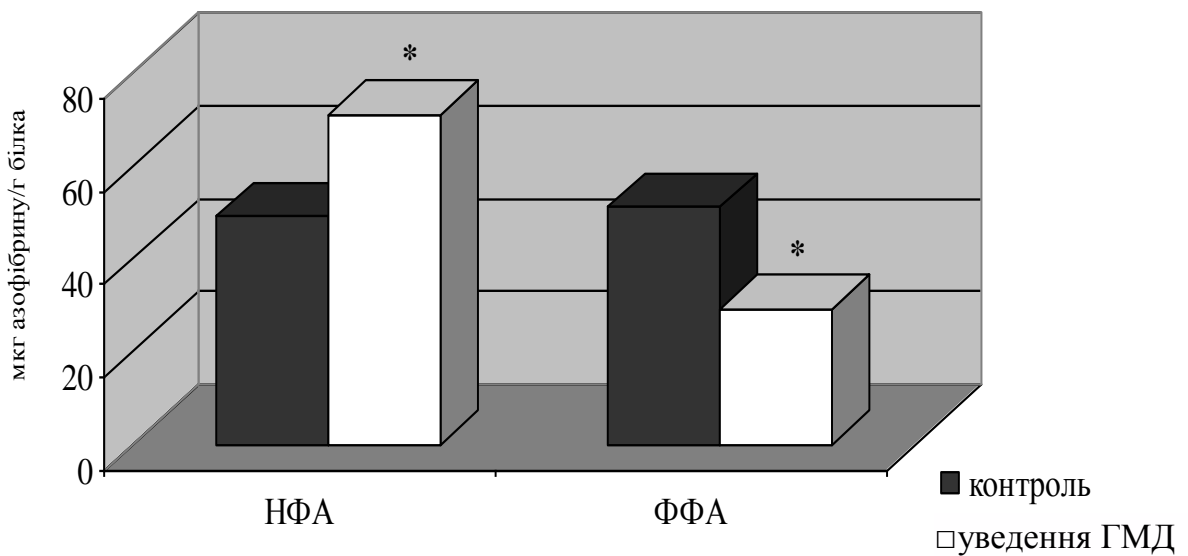


Рис. 4.10. Структура фібринолітичної активності в тканині легень через 72 год після уведення глюкозамінілмураміддипептиду (у % від сумарної інтенсивності фібринолізу)

Примітка: * – вірогідні зміни відносно контролю

Сумарна фібринолітична активність тканини печінки також не відрізнялася від контрольних показників при різноспрямованих зсувах активності неферментативного і ферментативного фібринолізу: якщо перший зростав на 41,8 %, то другий параметр, навпаки, знижувався на 30,3 % (табл. 4.8). У результаті частка неферментативного лізису фібрину в структурі загальної фібринолітичної активності печінки майже вдвічі перевищувала частку ферментативного фібринолізу (рис. 4.11).

Таблиця 4.8

**Характеристика тканинної фібринолітичної активності через 72 год
після уведення глюкозоамінілмураміддипептиду (M±m)**

Показники, що досліджувались	Група тварин		
	Інтактні, n=15	Уведення розчинника, n =12	Уведення ГМД, n=12
Фібриноліз у тканині печінки (мкг азофібрину/1 г за 1 год):			
- сумарний	15,6±0,46	15,7±0,69	16,3±0,85
- неферментативний	6,83±0,27	7,42±0,34	10,52±0,90 p<0,001
- ферментативний	8,79±0,23	8,34±0,37	5,81±0,54 p<0,001
Фібриноліз у кортикальній тканині нирок (мкг азофібрину/1 г за 1 год):			
- сумарний	10,68±0,27	10,7±0,38	6,56±0,28 p<0,001
- неферментативний	4,66±0,17	4,77±0,21	4,27±0,18
- ферментативний	6,02±0,17	5,95±0,20	2,29±0,22 p<0,001

Примітки: p – достовірність змін відносно показників у тварин контрольних груп; n - кількість спостережень

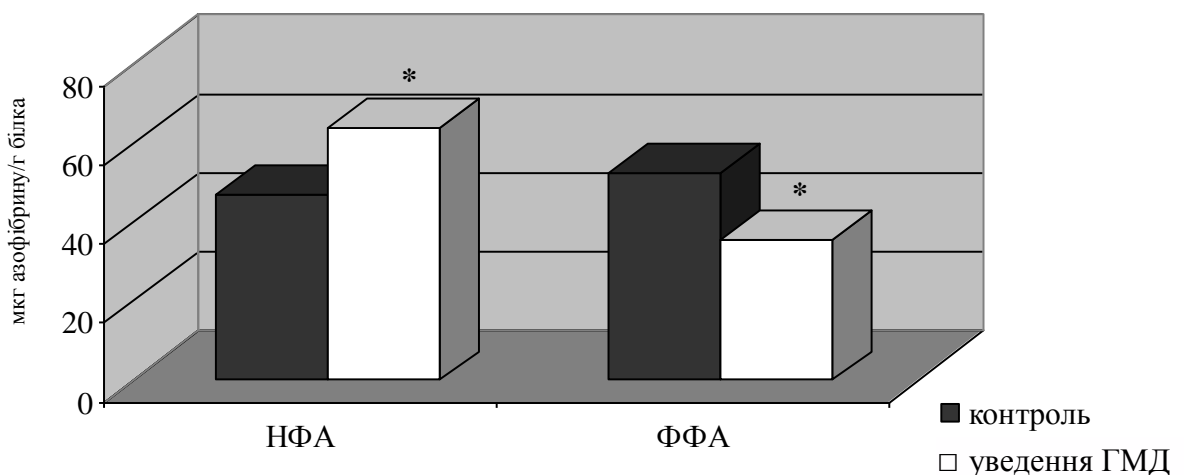


Рис. 4.11. Структура фібринолітичної активності в тканині печінки через 72 год після уведення глюкозоамінілмураміддипептиду (у % від сумарної інтенсивності фібринолізу)

Примітка: * – вірогідні зміни відносно контролю

У структурі загального фібринолізу в кортикальній тканині нирок різко збільшувалась частка неферментативної фібринолітичної активності (рис. 4.12).

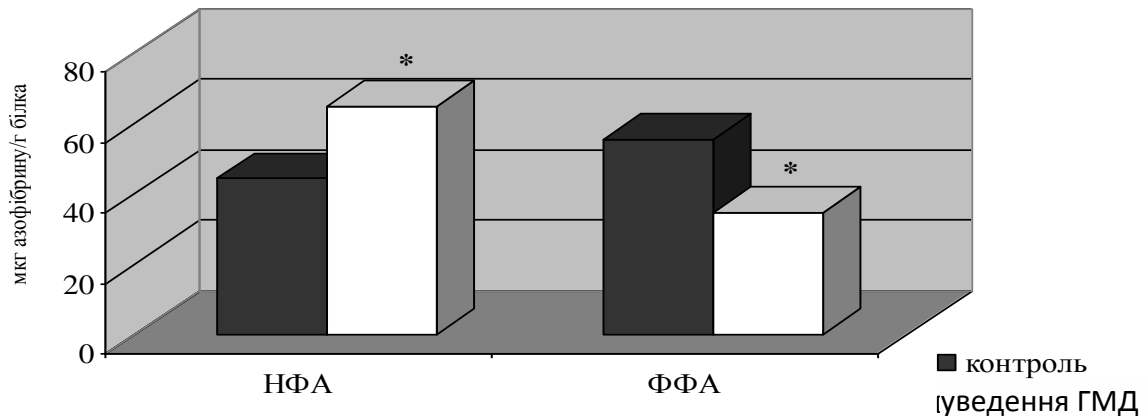


Рис. 4.12. Структура фібринолітичної активності в кортикальній тканині нирок через 72 год після уведення глюкозоамінілмураміддипептиду (у % від сумарної інтенсивності фібринолізу)

Примітка: * – вірогідні зміни відносно контролю

Таким чином, через 72 год після уведення ГМД зміни тканинного фібринолізу в експериментальних тварин характеризуються підвищенням неферментативної та зниженням ферментативної фібринолітичної активності в тканинах селезінки, серця, легень, печінки і нирок. Якщо в тканинах серця, легень і печінки сумарна фібринолітична активність не змінювалася, то в тканині селезінки і кортикальному шарі нирок відбувалося зниження загальної інтенсивності тканинного фібринолізу.

Порівняльний аналіз показав, що зміни в системі регуляції агрегатного стану крові через 24 та 72 год після уведення ГМД суттєво відрізнялись. Характеристика коагуляційного потенціалу крові у динаміці після уведення ГМД наведена в таблиці 4.9.

Через 72 год час рекальцифікації плазми крові був на 83,0 % вищий, ніж через 24 год після уведення тваринам ГМД. Активованій парціальний тромбoplastиновий час подовжувався на 63,2 %, протромбіновий час – на 86,9 %, тоді як час утворення фібринового згустка під впливом тромбіну зростав у 2,2 рази.

Таблиця 4.9

**Динаміка змін коагуляційного потенціалу крові після уведення
глюкозоамінілмураміддипептиду (M±m)**

Показники, що досліджувались	Група тварин		
	Контроль, n=12	Уведення ГМД, 24 год, n=15	Уведення ГМД, 72 год, n=12
Час рекальцифікації, с	77,66±3,62	51,08±2,58 p ₁ <0,001	93,47±2,95 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001
Активованій частковий тромбопластиновий час, с	40,12±3,24	29,04±1,48 p ₁ <0,001	47,38±2,55 p ₂ <0,001
Протромбіновий час, с	22,27±1,64	15,65±0,77 p ₁ <0,001	29,25±1,70 p ₁ <0,01 p ₂ <0,001
Тромбіновий час, с	13,65±0,70	8,08±0,58 p ₁ <0,001	17,55±1,26 p ₁ <0,01 p ₂ <0,001
Активність антитромбіну III, %	97,44±3,12	72,37±3,87 p ₁ <0,001	60,40±2,13 p ₁ <0,001 p ₂ <0,05
Відсоток адгезивних тромбоцитів, %	40,07±2,80	56,23±2,65 p ₁ <0,001	80,40±2,13 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001
Індекс спонтанної агрегації тромбоцитів, %	1,27±0,13	6,10±0,63 p ₁ <0,001	13,88±0,80 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001
Концентрація в крові фібриногену, г/л	3,82±0,06	4,98±0,18 p ₁ <0,001	3,67±0,08 p ₂ <0,001

Примітки: ступінь достовірності різниць показників порівняно з:

p₁ – контролем; p₂ – параметрами через 24 год після уведення ГМД; n – кількість спостережень

Через 72 год після уведення ГМД активність антитромбіну III досягала мінімальних величин і була на 12,0% меншою, ніж через добу після уведення ГМД. Показники відсотка адгезивних тромбоцитів та індексу спонтанної агрегації тромбоцитів були значно більшими через 72 год після уведення ГМД (в 1,4 та 2,3 рази, відповідно). Концентрація в крові фібриногену, навпаки, була на 26,3% меншою, ніж через 24 год після уведення ГМД.

Таким чином, спрямування змін у системі коагуляційного і тромбоцитарно-судинного гемостазу вказує на те, що зі збільшенням терміну після уведення ГМД хронометрична гіперкоагуляція змінюється хронометричною гіпокоагуляцією, тоді як функціональна активність тромбоцитів прогресивно зростає. Поєднання зазначених змін із перманентним зниженням активності антитромбіну III і концентрації в плазмі крові фібриногену дозволяє дійти попереднього висновку, що у тварин, яким вводили ГМД, при збільшенні тривалості дослідів розвивається внутрішнь-судинна гемокоагуляція.

Сумарна фібринолітична активність плазми крові через 72 год після уведення ГМД виявилася у 3 рази меншою, ніж на першу добу спостереження, причому виключно за рахунок пригнічення ферментативного фібринолізу, оскільки неферментативна фібринолітична активність практично не змінювалась (табл. 4.10).

На третю добу експерименту значно меншою (у 3,5 рази) була інтенсивність Хагеман-залежного фібринолізу.

Отже, сукупність таких ознак, як різке пригнічення ферментативного фібринолізу в плазмі крові, значне зниження Хагеман-залежного лізису фібрину, зменшення потенційної активності плазміногену та підвищення вмісту в крові розчинних комплексів фібрин-мономеру слугує додатковим підтвердженням попереднього висновку про розвиток через 72 год після уведення тваринам ГМД дисемінованого внутрішньосудинного згортання крові.

За цих умов на 66,3% знижувалася й потенційна активність плазміногену.

Таблиця 4.10

**Динаміка фібринолітичного потенціалу крові після уведення
глюкозоамінілмураміддипептиду ($M \pm m$)**

Показники, що досліджувались	Контрольна група, n=12	24 год після уведення ГМД, n=15	72 год після уведення ГМД, n=12
Фібринолітична активність плазми, мкмоль азофібрину/мл за 1 год			
- сумарна	6,38±0,34	10,4±0,30 $p_1 < 0,001$	3,49±0,22 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
- неферментативна	0,62±0,06	0,85±0,05 $p_1 < 0,01$	0,86±0,03 $p_1 < 0,01$
- ферментативна	5,77±0,34	9,59±0,29 $p_1 < 0,001$	2,63±0,22 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
Хагеман-залежний фібриноліз, хв	13,9±0,70	7,59±0,42 $p_1 < 0,001$	26,4±1,99 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
Потенційна активність плазміногену, хв	15,4±0,85	15,3±0,60 $p_1 > 0,9$	25,4±2,40 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
Загальна активність антиплазмінів, %	84,9±2,88	135±5,07 $p_1 < 0,001$	150±3,67 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,05$
Активність швидко-діючих антиплазмінів, %	80,5±2,57	97,3±2,18 $p_1 < 0,001$	121±5,33 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
Активність повільно-діючих антиплазмінів, %	78,7±2,73	80,9±2,02	143,6±4,13 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
Концентрація розчинних комплексів фібрин-мономеру у плазмі крові, мкг/л	не визначається	3,91±0,43	9,97±0,67 $p_2 < 0,001$

Примітки: достовірність різниць показників порівняно з: p_1 – контролем; p_2 – параметрами через 24 год після уведення ГМД; n – кількість спостережень

Разом із тим, показники загальної активності антиплазмінів, активності їх швидко- і повільнодіючих фракцій через 72 год після уведення глюкозоамінілмураміддипептиду, навпаки, були суттєво більшими – на 15,9, 24,2 та 62,6 %, відповідно.

Через 72 год після уведення глюкозоамінілмураміддипептиду концентрація в крові розчинних комплексів фібрин-мономеру порівняно з 24-годинним періодом була в 2,5 раза вищою.

В умовах генералізованої внутрішньосудинної гемокоагуляції особливого значення набуває стан тканинного ферментативного фібринолізу. Саме його достатньо висока інтенсивність здатна забезпечити прохідність мікроциркуляторного русла життєво важливих органів. Тому для комплексної оцінки наслідків системного уведення ендотоксину грампозитивної мікрофлори важливими є відповідні параметри не лише плазми крові, але й показники стану внутрішніх органів. Результати визначення фібринолітичної активності в тканинах селезінки, серця, легень, печінки і нирок представлені в таблицях 4.11-4.12.

Наведені дані свідчать, що існує виражена динаміка показників фібринолітичної активності внутрішніх органів. Через 72 год після уведення глюкозоамінілмураміддипептиду тканинна сумарна фібринолітична активність порівняно з 24-годинним терміном спостереження знизилася в 2,33; 1,49; 1,68; 1,62; 3,02 раза в тканинах селезінки, серця, легень, печінки та нирок відповідно. Активність неферментативного фібринолізу змінилася лише в легенях, де вона зросла в 1,25 раза та в кортикальній тканині нирок, де відбулося зиження в 1,31 раза. Отже, сумарна фібринолітична активність зазнала змін в основному за рахунок ферментативної складової. Ферментативна фібринолітична активність виявилася меншою, ніж на початку спостереження: в селезінці – в 2,4 раза, в серці – в 2,2 раза, в легенях – в 3,8 раза, у печінці – в 3,0 раза, в кортикальному шарі нирок – в 6,2 раза.

Таблиця 4.11

**Динаміка змін тканинної фібринолітичної активності після уведення
глюкозоамінілмураміддипептиду (M±m)**

Показники, що досліджувались	Контроль, n=12	24 год після уведення ГМД, n=15	72 год після уведення ГМД, n=12
Фібриноліз у тканині селезінки (мкг азофібрину/ 1 г за 1 год):			
- сумарний	64,32±2,09	77,84±2,08 p ₁ >0,001	33,44±2,22 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001
- неферментативний	1,39±0,13	1,87±0,11 p ₁ <0,01	1,96±0,09 p ₁ <0,001
- ферментативний	62,93±2,12	75,98±2,12 p ₁ <0,001	31,48±2,19 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001
Фібриноліз у тканині серця (мкг азофібрину/1 г за 1 год):			
- сумарний	10,30±0,58	15,42±0,64 p ₁ <0,001	10,39±0,57 p ₂ <0,001
- неферментативний	4,63±0,25	6,17±0,34 p ₁ <0,01	6,09±0,40 p ₁ <0,05
- ферментативний	5,67±0,35	9,25±0,35 p ₁ <0,001	4,30±0,41 p ₁ <0,02 p ₂ <0,001
Фібриноліз у тканині легень (мкг азофібрину/1 г за 1 год):			
- сумарний	11,67±0,31	18,83±0,53 p ₁ <0,001	11,23±0,61 p ₂ <0,001
- неферментативний	5,72±0,27	6,41±0,18 p ₁ <0,01	7,95±0,74 p ₁ <0,01 p ₂ <0,05
- ферментативний	5,95±0,13	12,41±0,47 p ₁ <0,001	3,28±0,18 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001

продовження табл. 4.11

Фібриноліз у тканині печінки (мкг азофібрину/1 г за 1 год):			
- сумарний	15,76±0,69	26,37±0,91 p ₁ <0,001	16,33±0,85 p ₂ <0,001
- неферментативний	7,42±0,34	9,16±0,47 p ₁ <0,001	10,52±0,90 p ₁ <0,001
- ферментативний	8,34±0,37	17,21±0,53 p ₁ <0,001	5,81±0,54 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001
Фібриноліз у кортикальній тканині нирок (мкг азофібрину/1 г за 1 год):			
- сумарний	10,72±0,38	19,81±0,61 p ₁ <0,001	6,56±0,28 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001
- неферментативний	4,77±0,21	5,69±0,13 p ₁ <0,01	4,27±0,18 p ₂ <0,001
- ферментативний	5,95±0,20	14,12±0,57 p ₁ <0,001	2,29±0,22 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001

Примітки: p₁ – ступінь достовірності різниць показників у порівнянні з контролем; p₂ – ступінь достовірності різниць показників відносно таких через 24 год після уведення ГМД; n – кількість спостережень

Таким чином, розвиток внутрішньосудинної гемокоагуляції через 72 год після уведення ГМД поєднується з глибоким пригніченням ензиматичного лізису фібрину в тканинах селезінки, серця, легень, печінки і нирок.

Результати даного розділу роботи дозволяють дійти наступних висновків:

1. Через 24 год після уведення ГМД відбувається хронометрична гіперкоагуляція з активацією зовнішнього і внутрішнього механізмів утворення протромбінази та значне скорочення тривалості фібриногенез, пригнічення протизгортальної активності крові, збільшення функціональної активності тромбоцитів, концентрації в крові фібриногену, активація систем плазмового

фібринолізу, підвищення активності антиплазмінів та поява в крові розчинних комплексів мономерного фібрину, підвищення сумарної фібринолітичної активності у тканинах селезінки, серця, легень, печінки і нирок за рахунок збільшення інтенсивності як ферментативного, так і неферментативного фібринолізу.

2. Через 72 год після уведення ГМД спостерігається хронометрична гіпокоагуляція переважно зовнішнього механізму згортання крові, уповільнення фібриногенезу, активація тромбоцитарної ланки первинного гемостазу, депресія плазмового ферментативного фібринолізу, зниження інтенсивності Хагеман-залежного фібринолізу, зменшення потенційної активності плазміногену на тлі неадекватної активації антиплазмінів і накопичення в крові розчинних комплексів фібрин-мономеру, підвищення неферментативної і зниження ферментативної фібринолітичної активності в тканинах селезінки, серця, легень, печінки і нирок, що дозволяє дійти висновку про розвиток у цей термін дисемінованого внутрішньосудинного згортання крові.

Отримані результати, наведені в цьому розділі, оприлюднено в роботі:

[49] Івасюк Л.В. Вплив ендотоксинів грамнегативної і грампозитивної мікрофлори на інтенсивність фібринолізу у склоподібному тілі ока кроликів з проникним пораненням склери / Л.В.Івасюк, Я.І.Пенішкевич // Клінічна та експериментальна патологія – 2008. – Т. 7, № 3. – С. 56-59.

РОЗДІЛ 5

ВПЛИВ ВНУТРІШНЬООЧНОГО ТА ВНУТРІШНЬОВЕННОГО
УВЕДЕННЯ ЕНДОТОКСИНУ ГРАМНЕГАТИВНОЇ МІКРОФЛОРИ НА
МЕХАНІЗМИ НЕСПЕЦИФІЧНОЇ РЕАКТИВНОСТІ, ТКАНИННИЙ
ПРОТЕОЛІЗ І ФІБРИНОЛІЗ ТА ЛІПОПЕРОКСИДАЦІЮ В ЩУРІВ

На першому етапі дослідження визначено зміни вмісту в крові цитокінів, функціональної активності нейтрофілів і моноцитів, а також плазмового фібринолізу і протеолізу за умов надходження ліпополісахариду грамнегативної мікрофлори у системний кровообіг або в склисте тіло. Такий методичний підхід зумовлений необхідністю вирішення питання про те, як змінюється прозапальна відповідь організму в разі “обминання” ендотоксином печінкового цитохром P₄₅₀-монооксигеназного бар’єра та клітин Купфера, тобто за умов його безпосереднього (у нативному стані) впливу на тканини ока.

Окремим завданням було дослідження при цьому змін ліпопероксидації, фібринолізу і протеолізу в тканинах внутрішніх органів: серці, легенях, печінці, нирках і селезінці. Логіка вибору органів полягала в тому, що перші чотири з них є мішенями впливу ендотоксину за септичних станів, причому серце і легені не мають спеціалізованих фіксованих макрофагів, тоді як у печінці і нирках останні представлені відповідно клітинами Купфера і мезангіоцитами, а селезінка – орган, який безпосередньо бере участь в імунній відповіді.

Контролем до внутрішньоочного та внутрішньовенного уведення ендотоксину були серії з уведенням розчинника у відповідний спосіб. Оскільки достовірних відмінностей досліджуваних параметрів при внутрішньоочному та внутрішньовенному уведенні розчинника не спостерігалось, надалі при проведенні порівнянь використана одна контрольна група.

Встановлено (рис. 5.1), що внутрішньоочне уведення ендотоксину достовірних змін сироваткової концентрації ІЛ-1 β не викликало (40,14 \pm 4,07 пг/мл; p>0,05; n=22), тоді як рівень TNF- α зростав відносно контролю майже в 3 рази (52,71 \pm 5,39 пг/мл; p<0,001; n=22). За системного

уведення ендотоксину збільшувався вміст обох прозапальних цитокінів: ІЛ-1 β – до 152,43 \pm 16,26 пг/мл ($p < 0,001$; $n=22$), TNF- α – до 66,14 \pm 2,87 пг/мл ($p < 0,001$; $n=22$).

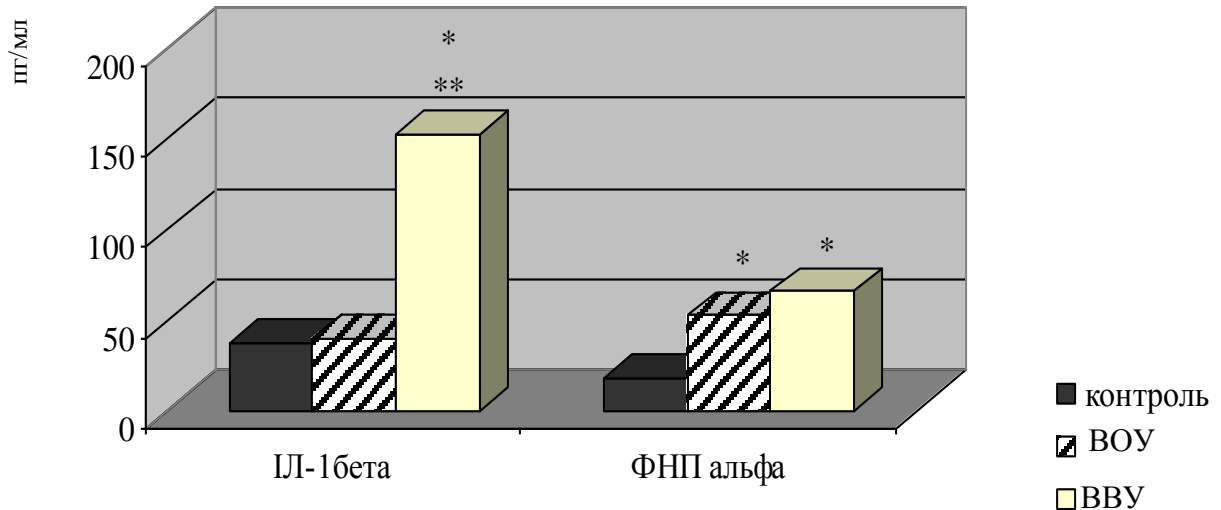


Рис. 5.1. Вплив внутрішньоочного та внутрішньовенного уведення ендотоксину на вміст у крові прозапальних цитокінів (пг/мл)

Примітка: BOU – внутрішньоочне уведення, BBU – внутрішньовенне уведення; вірогідність змін відносно: * – контролю, ** – внутрішньоочного уведення

Зауважимо, що при цьому виявлялася достовірна міжгрупова різниця – в разі внутрішньовенного уведення ендотоксину сироватковий рівень ІЛ-1 β був у 3,8 разів вищим ($p < 0,001$; $n=11$), а TNF- α – на 25,5 % більшим ($p < 0,05$; $n=22$), ніж за уведення ліпополісахариду грамнегативної мікрофлори в склисте тіло.

Можливий вплив післятравматичного запалення (венесекція) та тіопенталового наркозу на рівень у крові ІЛ-1 β та TNF- α в разі уведення ендотоксину в яремну вену був виключений у серії контрольних дослідів: у щурів, яким за подібних умов експерименту внутрішньовенно вводили 0,9 % розчин натрію хлориду, вміст у крові ІЛ-1 β та TNF- α достовірних змін не зазнавав і складав відповідно 41,65 \pm 3,67 та 20,44 \pm 3,12 пг/мл ($n=15$).

Отже, системна ендотоксинемія призводить до значного підвищення

вмісту в крові обох прозапальних цитокінів, тоді як надходження в організм ендотоксину грамнегативної мікрофлори через бар'єрну систему ока викликає збільшення тільки TNF- α і не впливає на сироваткову концентрацію ІЛ-1 β .

За внутрішньоочного уведення ендотоксину додавання виділених нейтрофілів у систему люменофору не призводило до підвищення інтенсивності хемілюмінесценції (ХМЛ) (у контролі – $4,56 \pm 0,56$, у досліді – $4,91 \pm 0,72$ мВт/хв; $p > 0,05$; $n = 22$), тоді як нейтрофіли щурів, яким ендотоксин вводили внутрішньовенно, збільшували ХМЛ у 4,3 раза – до $19,61 \pm 1,45$ мВт/хв ($p < 0,001$; $n = 22$) за зовнішнього контролю у $5,43 \pm 0,96$ мВт/хв ($n = 15$) (рис. 5.2).

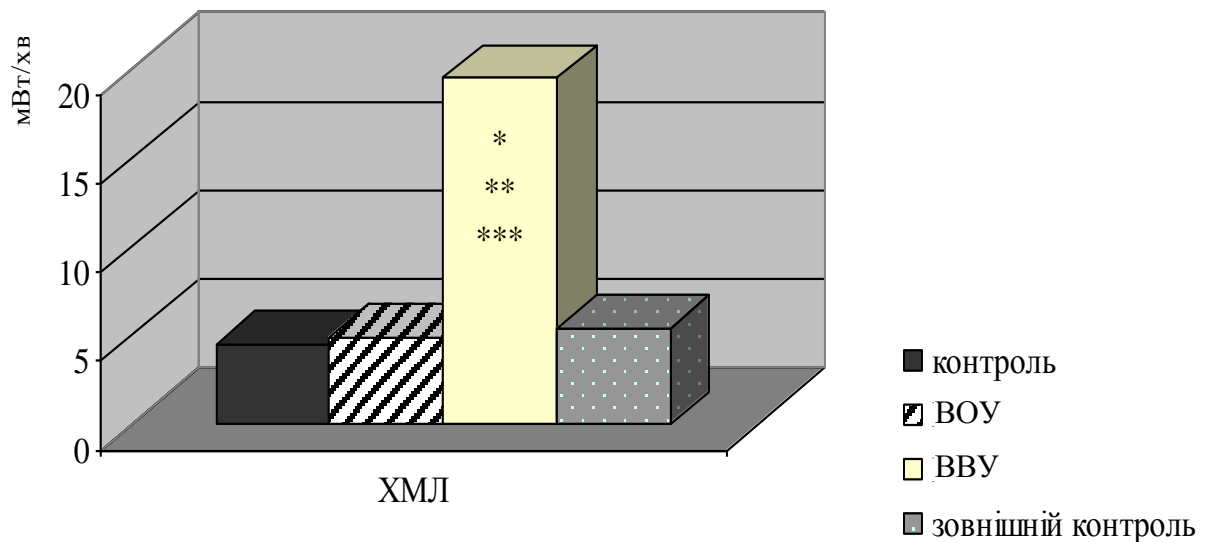


Рис. 5.2. Інтенсивність індукованої нейтрофілами хемілюмінесценції за внутрішньоочного та внутрішньовенного уведення ендотоксину (мВт/хв)

Примітка: БОУ – внутрішньоочне уведення, ВВУ – внутрішньовенне уведення; вірогідність змін відносно: * – контролю, ** – внутрішньоочного уведення, *** – зовнішнього контролю

Моноцити контрольних тварин викликали ХМЛ, яка дорівнювала $3,36 \pm 0,45$ мВт/хв ($n = 11$), щурів групи зовнішнього контролю – $4,09 \pm 0,85$ мВт/хв ($n = 15$). Моноцити щурів, яким ендотоксин вводили в склисте тіло, підвищували інтенсивність ХМЛ у системі люменофору до $8,75 \pm 1,12$ мВт/хв ($p < 0,001$; $n = 22$), а мононуклеарні клітини крові щурів, яким ліпополісахарид грамнегативної мікрофлори вводили внутрішньовенно – до $9,68 \pm 1,35$ мВт/хв ($p < 0,001$; $n = 22$).

Достовірної міжгрупової різниці у цьому випадку не спостерігалось (рис. 5.3).

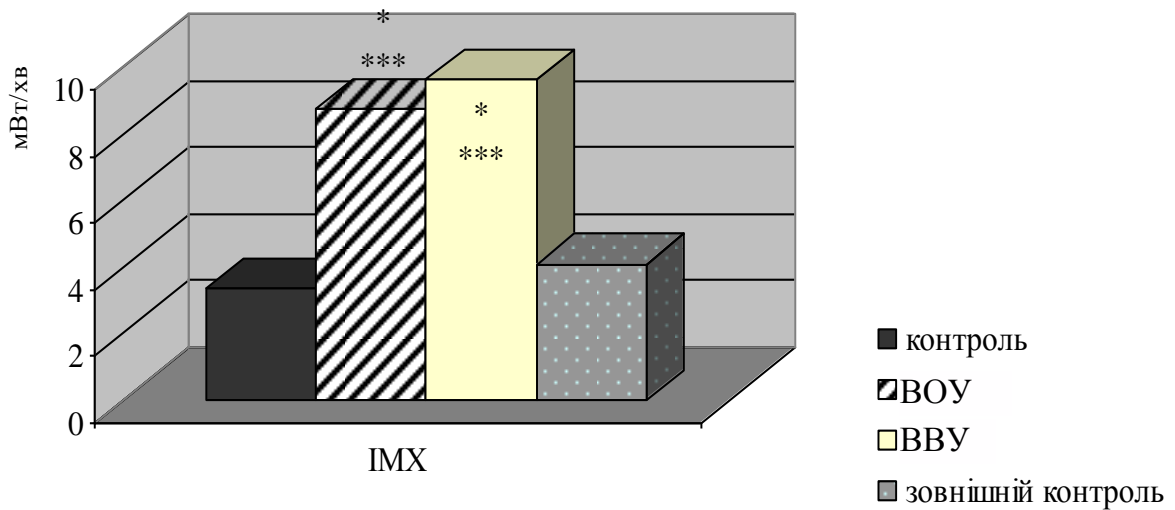


Рис. 5.3. Інтенсивність індукованої моноцитами хемілюмінесценції (IMX) за внутрішньоочного та внутрішньовенного уведення ендотоксину (мВт/хв)

Примітка: BOU – внутрішньоочне уведення, BBU – внутрішньовенне уведення; вірогідність змін відносно: * – контролю, *** – зовнішнього контролю

Отже, після внутрішньовенного уведення ендотоксину активується генерація активних форм кисню як у нейтрофілах, так і в моноцитах, а в разі уведення в склисте тіло підвищення інтенсивності процесів утворення кисневих радикалів відбувається тільки в мононуклеарних клітинах крові.

Зауважимо, що функціональна активність фагоцитів зростала в обох випадках: фагоцитарне число в контролі становило $43,52 \pm 3,71$ % ($n=11$), а після внутрішньоочного та внутрішньовенного уведення ендотоксину зростало відповідно до $64,22 \pm 4,28$ ($p < 0,001$; $n=22$) та $69,50 \pm 5,03$ % ($p < 0,001$; $n=22$) проти $47,45 \pm 3,96$ % у тварин групи зовнішнього контролю ($n=15$) (рис. 5.4, 5.5).

Фагоцитарний індекс у контролі складав $3,22 \pm 0,31$ ($n=11$), за умов уведення ендотоксину в склисте тіло – $6,78 \pm 0,35$ ($p < 0,001$; $n=22$), за умов уведення ендотоксину в яремну вену – $7,12 \pm 0,42$ ($p < 0,001$; $n=22$) та $3,56 \pm 0,29$ – у зовнішній контрольній групі щурів ($n=15$).

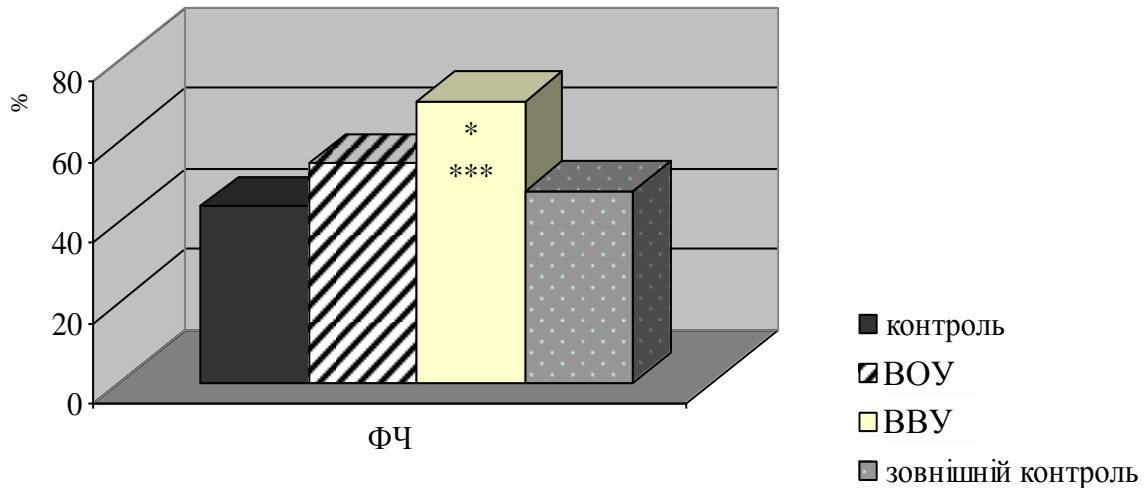


Рис. 5.4. Зміни фагоцитарного числа (ФЧ) за внутрішньоочного та внутрішньовенного уведення ендотоксину (%)

Примітка: BOY – внутрішньоочне уведення, BBY – внутрішньовенне уведення; вірогідність змін відносно: *– контролю, ***– зовнішнього контролю

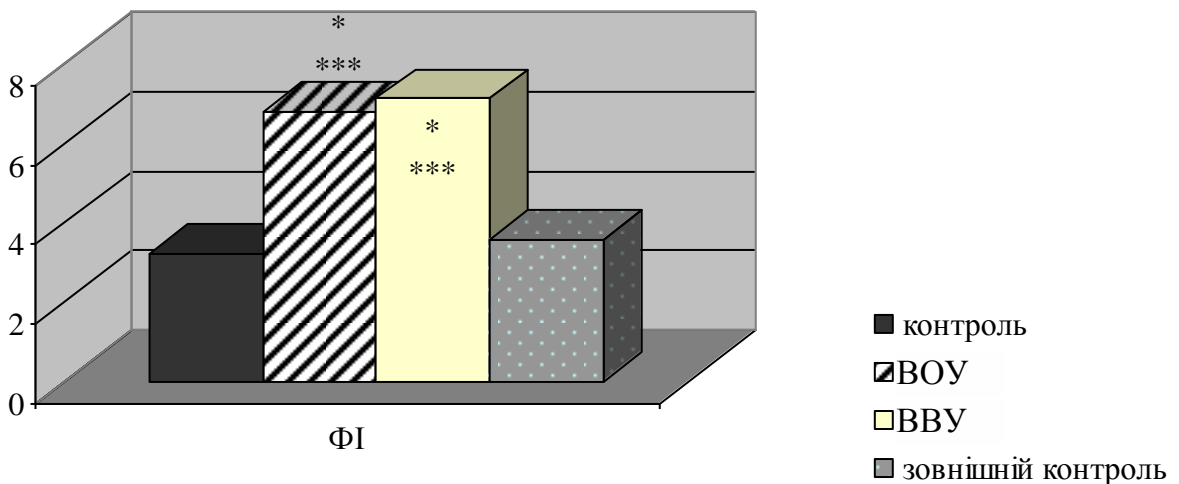


Рис. 5.5. Зміни фагоцитарного індексу (ФІ) за внутрішньоочного та внутрішньовенного уведення ендотоксину

Примітка: BOY – внутрішньоочне уведення, BBY – внутрішньовенне уведення; вірогідність змін відносно: *– контролю, ***– зовнішнього контролю

Таким чином, за внутрішньоочного і внутрішньовенного уведення ліполісахариду грамнегативної мікрофлори функціональна активність моноцитів-макрофагів зростає практично в однаковій мірі.

Активация клітин системи неспецифічного захисту організму супроводжувалася змінами плазмового фібринолізу і протеолізу (табл. 5.1). Після уведення ендотоксину в склисте тіло сумарна фібринолітична активність плазми крові зростала в 2,8 раза внаслідок підвищення інтенсивності як неферментативного, так і ферментативного фібринолізу. Лізис низькомолекулярних білків достовірних змін не зазнавав, казеїнолітична активність плазми крові зменшувалася на 17,8 %, а лізис колагену зростав у 5,5 раза.

За умов внутрішньовенного уведення ендотоксину сумарний фібриноліз плазми крові зростав більш ніж у 4 рази за рахунок переважного збільшення неферментативної фібринолітичної активності.

Інтенсивність протеолітичної деструкції низькомолекулярних білків зростала на 61,7 %, лізису високомолекулярних білків – на 56,5 %, тоді як колагенолітична активність плазми крові перевищувала контрольний рівень в 1,7 раза.

Варто звернути увагу на різницю показників плазмового фібринолізу і протеолізу за умов внутрішньоочною та внутрішньовенного уведення ендотоксину: в останньому випадку сумарна фібринолітична активність крові була більшою на 44,0 %, а неферментативний фібриноліз – на 110 %, тоді як інтенсивність ензиматичного лізису фібрину була меншою на 20,7 %. Лізис низько- і високомолекулярних білків був відповідно вищим в 1,5 та 1,9 раза, колагенолітична активність плазми крові – нижчою в 3,2 раза.

Отже, за умов уведення ендотоксину грамнегативної мікрофлори в системний кровообіг (внутрішньовенно) та в порожнину ока (склисте тіло) зміни плазмової фібринолітичної і протеолітичної активності якісно однорідні, тобто, мають однакову спрямованість, однак суттєво відрізняються за інтенсивністю.

Таблиця 5.1

Стан плазмового фібринолізу і протеолізу за внутрішньоочного та системного уведення ендотоксину грамнегативної мікрофлори ($M \pm m$)

Показники, що вивчалися	Контроль, n=15	Уведення розчинника, n=15	Внутрішньоочне уведення ендотоксину, n=10	Внутрішньовенне уведення ендотоксину, n=10
Фібриноліз, мкг азофібрину/мл за год:				
- сумарний	0,59±0,03	0,58±0,04	1,66±0,07 $p_k < 0,001$	2,39±0,10 $p_k < 0,001$ $p_p < 0,001$ $p_1 < 0,001$
- неферментативний	0,31±0,02	0,29±0,02	0,84±0,04 $p_k < 0,001$	1,74±0,08 $p_k < 0,001$ $p_p < 0,001$ $p_1 < 0,001$
- ферментативний	0,28±0,02	0,29±0,02	0,82±0,04 $p_k < 0,001$	0,65±0,03 $p_k < 0,001$ $p_p < 0,001$ $p_1 < 0,001$
Лізис білків:				
низькомолекулярних, мкг азоальбуміну/г тканини за год	3,58±0,23	3,60±0,26	3,86±0,26	5,79±0,30 $p_k < 0,001$ $p_p < 0,001$ $p_1 < 0,001$
високомолекулярних, мкг азоказеїну/г тканини за год	2,53±0,06	2,48±0,07	2,08±0,12 $p_k < 0,001$	3,96±0,08 $p_k < 0,001$ $p_p < 0,001$ $p_1 < 0,01$
колагену, мкг азоколу/г тканини за год	0,28±0,03	0,29±0,02	1,55±0,08 $p_k < 0,001$	0,48±0,02 $p_k < 0,001$ $p_p < 0,001$ $p_1 < 0,001$

Примітки: достовірність змін відносно: p_k – контролю; p_p – уведення розчинника; p_1 – внутрішньоочного уведення ендотоксину

Реакція фібрино- та протеолітичних систем на внутрішньоочне уведення ендотоксину в міокарді та легенях щурів представлена в таблицях 5.2-5.3.

За цих умов у міокарді спостерігалось зменшення сумарної фібринолітичної активності на 23,8 %, що зумовлено пригніченням як ферментативного, так і неферментативного фібринолізу.

Інтенсивність лізису низько- і високомолекулярних білків знижувалась відповідно на 34,7 % та у 2,2 раза, колагенолітична активність плазми крові зменшувалась на 21,2 %.

За умов внутрішньовенного уведення ендотоксину зміни тканинної фібринолітичної активності в серці були більш складними. Сумарна фібринолітична активність зростала на 42,3 %, причому винятково за рахунок неензиматичного лізису фібрину, який підвищувався у 2,3 раза. Водночас спостерігалось майже дворазове зменшення інтенсивності ферментативного фібринолізу.

Лізис низько- та високомолекулярних білків зростав відповідно на 21,3 та 17,6 %, тоді як колагеназна активність крові зменшувалась на 23,1 %.

Порівняльний аналіз показав, що за внутрішньовенного уведення щурам ліпополісахариду грамнегативної мікрофлори сумарна фібринолітична активність у міокарді в 1,9 раза перевищувала таку в щурів, яким ендотоксин вводили в склисте тіло, інтенсивність неферментативного лізису фібрину – майже у 3 рази, протеолітичний розпад низько- та високомолекулярних білків – у 1,9 та 2,6 раза, відповідно. При цьому достовірної міжгрупової різниці колагенолітичної активності крові не виявлено.

Таблиця 5.2

**Стан тканинного фібринолізу і протеолізу в серці щурів
за внутрішньоочного та системного уведення ендотоксину грамнегативної
мікрофлори ($M \pm m$)**

Показники, що вивчалися	Контроль, n=15	Уведення розчинника, n=15	Внутрішньо-очне уведення ендотоксину, n=10	Внутрішньо-венне уведення ендотоксину, n=10
Фібриноліз, мкг азофібрину/г тканини за год:				
- сумарний	10,4±0,49	10,3±0,69	8,00±0,40 $p_k < 0,01$	14,8±0,38 $p_k < 0,001$ $p_p < 0,001$ $p_1 < 0,001$
- неферментативний	5,12±0,25	5,36±0,41	4,00±0,20 $p_k < 0,01$	11,94±0,35 $p_k < 0,001$ $p_p < 0,001$ $p_1 < 0,001$
- ферментативний	5,28±0,26	4,91±0,28	4,00±0,21 $p_k < 0,01$	2,86±0,25 $p_k < 0,001$ $p_p < 0,001$ $p_1 < 0,01$
Лізис білків:				
низькомолекулярних, мкг азоальбуміну/г тканини за 1 год	16,6±0,56	17,0±0,93	10,9±0,46 $p_k < 0,001$	20,2±0,81 $p_k < 0,001$ $p_p < 0,02$ $p_1 < 0,001$
високомолекулярних, мкг азоказеїну/г тканини за год	18,4±0,37	18,8±1,66	8,40±0,56 $p_k < 0,001$	21,6±1,20 $p_k < 0,01$ $p_1 < 0,001$
колагену, мкг азоколу/г тканини за год	9,84±0,47	10,1±0,57	7,75±0,39 $p_k < 0,01$	7,57±0,21 $p_k < 0,01$ $p_p < 0,01$

Примітки: достовірність змін відносно: p_k – контролю; p_p – уведення розчинника; p_1 – внутрішньоочного уведення; n – кількість спостережень

Таблиця 5.3

Стан тканинного фібринолізу і протеолізу в легенях за системного та внутрішньоочного уведення ендотоксину грамнегативної мікрофлори (M±m)

Показники, що вивчалися	Контроль n=15	Уведення розчинника, n=15	Внутрішньоочне уведення ендотоксину, n=10	Внутрішньовенне уведення ендотоксину, n=10
Фібриноліз, мкг азофібрину/г тканини за 1 год:				
- сумарний	11,7±0,25	11,6±0,75	18,7±0,69 p _к <0,001	23,4±0,81 p _к <0,001 p _р <0,001 p _і <0,001
- неферментативний	5,87±0,17	5,96±0,44	9,90±0,38 p _к <0,001	18,9±0,77 p _к <0,001 p _р <0,001 p _і <0,001
- ферментативний	5,88±0,17	5,62±0,31	8,81±0,47 p _к <0,001	4,43±0,51 p _к <0,01 p _р <0,01 p _і <0,001
Лізис білків:				
низькомолекулярних, мкг азоальбуміну/г тканини за год	16,4±0,86	17,1±0,99	18,1±1,38	24,2±0,94 p _к <0,001 p _р <0,05 p _і <0,01
високомолекулярних, мкг азоказеїну/г тканини за год	19,8±0,35	20,3±1,24	23,9±2,23 p _к <0,05	31,2±0,56 p _к <0,001 p _р <0,001 p _і <0,01
колагену, мкг азоколу/г тканини за год	8,23±0,28	9,00±0,32	18,3±0,88 p _к <0,001	6,92±0,34 p _к <0,01 p _р <0,001 p _і <0,001

Примітки: достовірність змін відносно відносно: p_к – контролю; p_р – уведення розчинника; p_і – внутрішньоочного уведення; n – кількість спостережень

Сумарна фібринолітична активність зростала в 1,6 раза, що зумовлено збільшенням неензиматичного лізису фібрину на 68,7 % та ферментативного фібринолізу – на 49,8 %. Інтенсивність протеолітичного розпаду низькомолекулярних білків достовірних змін не зазнавала, тоді як лізис високомолекулярних протеїнів підвищувався на 21,1 %, а колагеназна активність легеневої тканини – в 2,2 раза.

Після уведення ендотоксину в яремну вену збільшення сумарної фібринолітичної активності відбувалося внаслідок інтенсифікації неферментативного фібринолізу, який перевищував контрольні показники в 3,2 раза. Водночас спостерігалось зменшення ензиматичної деградації фібрину на 24,7 %. Інтенсивність протеолізу низько- та високомолекулярних білків зростала відповідно на 47,4 та 57,3 %, що супроводжувалося пригніченням колагеназної активності легеневої тканини на 18,9 %. Більш високі показники неферментативного фібринолізу, лізису азоальбуміну й азоказеїну мали місце в разі внутрішньовенного уведення ендотоксину (на 91,8; 33,9 та 30,0 %, відповідно).

Інтенсивність ферментативного фібринолізу і колагенолітична активність легеневої тканини, навпаки, були значно меншими – відповідно у 2,0 та 2,7 раза, ніж у тварин, яким ендотоксин вводили в склисте тіло, що відображає особливості реагування даних показників за різних умов інфікування грам негативною мікрофлорою.

Ці відмінності знайшли підтвердження й при дослідженні даних параметрів печінкової тканини. За умов внутрішньоочного уведення ліпополісахариду грамнегативної мікрофлори спостерігалася суттєва активація сумарної фібринолітичної активності в печінці (табл. 5.4). Вона відбувалася переважно внаслідок інтенсифікації неензиматичного лізису фібрину, який зростав у 2,5 раза, хоча ферментативна фібринолітична активність також достовірно зростала в 1,53 раза.

Лізис низько- та високомолекулярних білків відповідав контролю, а колагенолітична активність печінкової тканини зростала на 41,9 %.

Таблиця 5.4

Стан тканинного фібринолізу і протеолізу в печінці за внутрішньоочного та внутрішньовенного уведення шурам ендотоксину грамнегативної мікрофлори ($M \pm m$)

Показники, що вивчалися	Контроль, n=15	Уведення розчинника n=15	Внутрішньоочне уведення ендотоксину, n=10	Внутрішньовенне уведення ендотоксину, n=10
Фібриноліз, мкг азофібрину/г тканини за 1 год				
сумарний	15,7±0,46	15,7±0,67	32,6±2,48 $p_k < 0,001$	16,5±0,71 $p_1 < 0,001$
неферментативний	7,25±0,28	7,12±0,31	17,7±1,16 $p_k < 0,001$	9,16±0,33 $p_k < 0,001$ $p_p < 0,001$ $p_1 < 0,001$
ферментативний	8,49±0,21	8,57±0,36	14,8±1,42 $p_k < 0,001$	7,39±0,40 $p_k < 0,01$ $p_p < 0,05$ $p_1 < 0,001$
Лізис білків:				
низькомолекулярних, мкг азоальбуміну/г тканини за год	24,2±0,61	25,1±0,81	25,62±2,40	22,2±1,61
високомолекулярних, мкг азоказеїну/г тканини за год	24,8±0,50	23,9±1,15	26,8±1,72	22,8±1,06
колагену, мкг азоколу/г тканини за год	14,0±0,63	14,3±0,65	19,9±0,91 $p_k < 0,001$	16,7±0,71 $p_k < 0,01$ $p_p < 0,01$ $p_1 < 0,01$

Примітки: достовірність змін відносно: p_k – контролю; p_p – уведення розчинника; p_1 – внутрішньоочного уведення; n – кількість спостережень

За умов внутрішньовенного уведення ендотоксину неферментативна фібринолітична активність у печінці достовірно підвищувалася на 26,3 %, а оскільки інтенсивність ферментативного фібринолізу зменшувалася, то сумарного – достовірних змін не зазнавала.

Не виявлено також достовірних змін лізису низько- та високомолекулярних білків. Підвищення інтенсивності тканинного колагенолізу становило 19,4 %.

Порівняльний аналіз показав, що при уведенні ендотоксину грамнегативної мікрофлори в яремну вену інтенсивність неферментативного і ферментативного фібринолізу в печінці була майже у 2 рази, а колагенолітична активність на 15,8 % меншою за відповідні показники щурів, яким ендотоксин вводили в склисте тіло.

Таким чином, можна дійти висновку, що реакція печінки на системне уведення ендотоксину грамнегативної мікрофлори менш вагома, ніж на внутрішньоочне.

Зміни протеолізу і фібринолізу в селезінці представлено в табл. 5.5.

Неферментативна фібринолітична активність підвищувалася на 27,7 %, ферментативна – на 11,0 %, проте інтенсивність лізису азоальбуміну, азоказеїну та азоколу відповідала контролю.

Водночас, при внутрішньовенному уведенні ліпополісахариду грамнегативної мікрофлори сумарна фібринолітична активність у тканині селезінки зростала в 2,3 рази, що зумовлено інтенсифікацією як ферментативного, так й неферментативного фібринолізу.

Інтенсивність протеолітичної деструкції низькомолекулярних білків збільшувалась на 67,5 %, високомолекулярних – на 33,0 %, колагенолітична активність у тканині селезінки зростала на 30,0 %.

Аналіз розбіжностей у досліджуваних групах тварин показав, що всі показники тканинного протеолізу і фібринолізу в селезінці були суттєво вищими в разі уведення ліпополісахариду грамнегативної мікрофлори внутрішньовенно.

Таблиця 5.5

**Стан тканинного фібринолізу і протеолізу в селезінці за
внутрішньоочного та системного уведення щурам ендотоксину
грамнегативної мікрофлори ($M \pm m$)**

Показники, що вивчалися	Контроль, n=15	Уведення розчинника n=15	Внутрішньоочне уведення ендотоксину, n=10	Внутрішньо-венне уведення ендотоксину, n=10
Фібриноліз, мкг азофібрину/г тканини за год:				
сумарний	7,69±0,27	7,69±0,61	9,15±0,40 $p_k < 0,01$	21,0±0,90 $p_k < 0,001$ $p_p < 0,001$ $p_1 < 0,001$
неферментативний	3,68±0,27	3,71±0,26	4,70±0,19 $p_k < 0,01$	11,1±0,58 $p_k < 0,001$ $p_p < 0,001$ $p_1 < 0,001$
ферментативний	4,01±0,07	4,15±0,35	4,45±0,22 $p_k < 0,05$	9,88±0,36 $p_k < 0,001$ $p_p < 0,001$ $p_1 < 0,001$
Лізис білків:				
низькомолекулярних, мкг азоальбуміну/г тканини за год	18,9±1,03	19,0±1,11	19,4±0,95	31,7±1,73 $p_k < 0,001$ $p_p < 0,001$ $p_1 < 0,001$
високомолекулярних, мкг азоказеїну/г тканини за год	11,4±0,93	12,0±0,88	13,8±1,02	15,2±0,53 $p_k < 0,01$ $p_p < 0,01$
колагену, мкг азоколу/г тканини за год	8,17±0,36	8,20±0,34	8,87±0,43	10,6±0,26 $p_k < 0,001$ $p_p < 0,001$ $p_1 < 0,01$

Примітки: достовірність змін відносно: p_k – контролю; p_p – уведення розчинника; p_1 – внутрішньоочного уведення; n – кількість спостережень

Показники фібрино- та протеолітичної активності в нирках за різних умов уведення ендотоксинів представлені в табл. 5.6.

Таблиця 5.6

Стан тканинного фібринолізу і протеолізу в нирках за внутрішньоочного та внутрішньовенного уведення шурам ендотоксину грамнегативної мікрофлори ($M \pm m$)

Показники, що вивчалися	Контроль, n=15	Уведення розчинника, n=15	Внутрішньоочне уведення ендотоксину, n=10	Внутрішньовенне уведення ендотоксину, n=10
Фібриноліз, мкг азофібрину/г тканини за 1 год:				
Сумарний	10,6±0,26	10,6±0,40	6,59±0,71 $p_k < 0,001$	5,45±0,16 $p_k < 0,001$ $p_p < 0,001$
Неферментативний	4,93±0,18	5,00±0,22	3,41±0,38 $p_k < 0,001$	3,09±0,13 $p_k < 0,001$ $p_p < 0,001$
Ферментативний	5,72±0,17	5,64±0,18	3,18±0,38 $p_k < 0,001$	2,36±0,10 $p_k < 0,001$ $p_p < 0,001$ $p_1 < 0,05$
Лізис білків:				
низькомолекулярних, мкг азоальбуміну/г тканини за год	20,35±0,40	21,12±0,89	7,51±0,57 $p_k < 0,001$	5,22±0,43 $p_k < 0,001$ $p_p < 0,001$ $p_1 < 0,005$
високомолекулярних, мкг азоказеїну/г тканини за год	22,2±0,72	23,6±0,90	7,91±0,65 $p_k < 0,001$	4,41±0,29 $p_k < 0,001$ $p_p < 0,001$ $p_1 < 0,001$
колагену, мкг азоколу/г тканини за год	8,21±0,26	8,13±0,42	9,08±0,66	8,72±0,22

Примітки: достовірність змін відносно: p_k – контролю; p_p – уведення розчинника; p_1 – внутрішньоочного уведення; n – кількість спостережень

У нирках за внутрішньоочного уведення ендотоксину відбувалося дворазове зниження сумарної фібринолітичної активності внаслідок пригнічення неферментативного і ферментативного фібринолізу на 30,8 та 44,6 % відповідно.

Інтенсивність лізису низькомолекулярних протеїнів зменшувалась у 2,7 раза, високомолекулярних білків – у 2,8 раза за відсутності в нирках достовірних змін колагенолітичної активності.

Подібна реакція тканинного фібринолізу і протеолізу спостерігалась і в разі внутрішньовенного уведення ліпополісахариду грамнегативної мікрофлори, із тією різницею, що ферментативний фібриноліз та лізис низько- і високомолекулярних білків зазнавали більш глибоких змін і були нижчими за такі у тварин першої групи на 26,8, 30,5 та 44,3 %, відповідно.

Таким чином, інтенсивність, а в деяких випадках і спрямованість змін тканинного фібринолізу і протеолізу під впливом ліпополісахариду грамнегативної мікрофлори виявляють чітку залежність від шляхів надходження ендотоксину в організм – системно або локально, у склисте тіло ока.

Для аналізу змін інтенсивності пероксидного окиснення ліпідів у тканинах внутрішніх органів визначали вміст малонового діальдегіду.

У серці контрольних щурів (рис. 5.6) рівень останнього становив $0,303 \pm 0,012$ нмоль/г білка ($n=11$).

За умов внутрішньоочного уведення ендотоксину цей показник практично не змінювався ($0,296 \pm 0,017$ нмоль/г білка; $p > 0,05$; $n=22$), але збільшувався на 26,1% за уведення ендотоксину в системний кровотік ($0,382 \pm 0,021$ нмоль/г білка; $p < 0,01$; $n=22$), складаючи в щурів групи зовнішнього контролю $0,311 \pm 0,015$ нмоль/г білка ($n=15$).

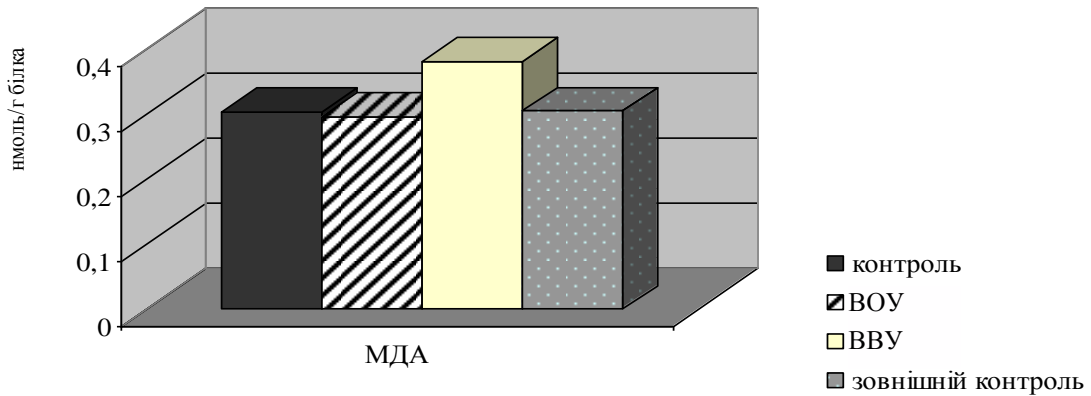


Рис. 5.6. Зміни вмісту малонового діальдегіду (МДА) в тканині серця за внутрішньоочного та внутрішньовенного уведення ендотоксину (нмоль/г білка)

Примітка: BOУ – внутрішньоочне уведення, ВВУ – внутрішньовенне уведення

У легенях тварин контрольної групи рівень малонового діальдегіду (рис. 5.7) дорівнював $0,416 \pm 0,021$ нмоль/г білка ($n=11$), не зазнавав змін після уведення ліпополісахариду грамнегативної мікрофлори в склисте тіло ($0,395 \pm 0,019$ нмоль/г білка; $p > 0,05$; $n=22$) і зростав на 88,5% за внутрішньовенного уведення ендотоксину ($0,784 \pm 0,043$ нмоль/г білка; $p < 0,001$; $n=22$). У групі зовнішнього контролю вміст малонового діальдегіду в легенях складав $0,434 \pm 0,025$ нмоль/г білка ($n=15$).

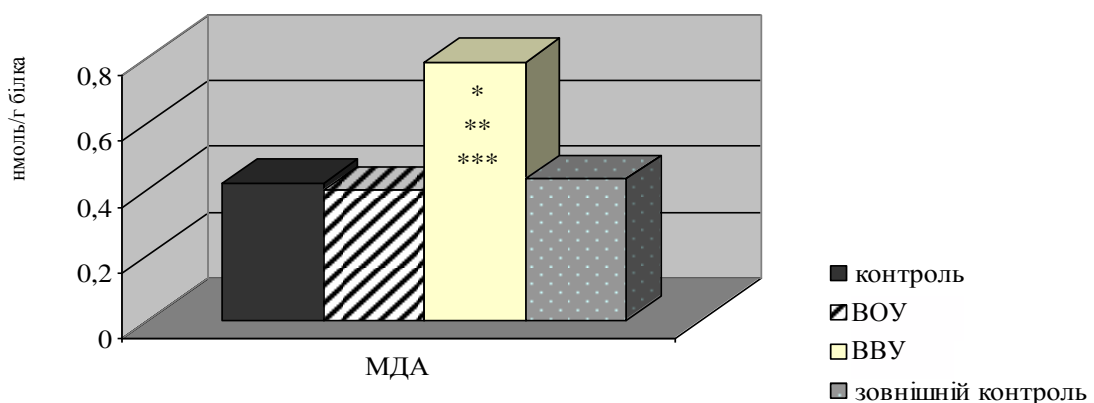


Рис. 5.7. Зміни вмісту малонового діальдегіду в легенях за внутрішньоочного та внутрішньовенного уведення ендотоксину (нмоль/г білка)

Примітка: BOУ – внутрішньоочне уведення, ВВУ – внутрішньовенне уведення; вірогідність змін відносно: * – контролю, ** – внутрішньоочного уведення, *** – зовнішнього контролю

У печінці вміст малонового диальдегіду (рис. 5.8) за внутрішньоочного уведення ендотоксину складав $0,216 \pm 0,014$ нмоль/г білка, що на 74,2 % вище ($p < 0,001$; $n=22$), ніж у контролі ($0,124 \pm 0,013$ нмоль/г білка; $n=11$). При уведенні ендотоксину в яремну вену достовірних змін вмісту малонового альдегіду в печінці не спостерігалось ($0,145 \pm 0,015$ нмоль/г білка; $n=11$), так само, як і в щурів зовнішньої контрольної групи ($0,133 \pm 0,011$ нмоль/г білка; $n=15$).

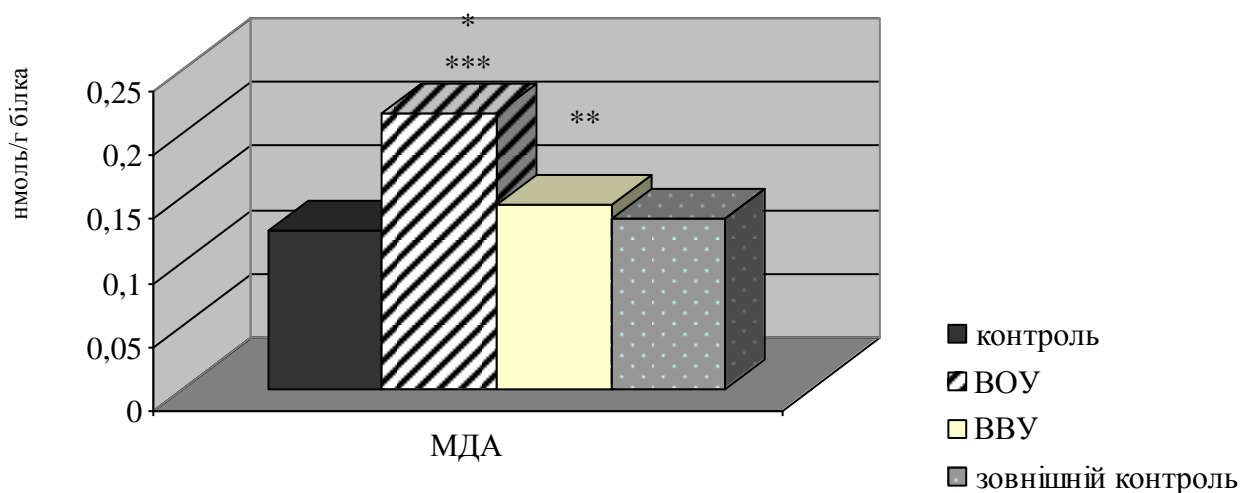


Рис. 5.8. Зміни вмісту малонового диальдегіду в тканинах печінки за внутрішньоочного та внутрішньовенного уведення ендотоксину (нмоль/г білка)

Примітка: VOY – внутрішньоочне уведення, VBY – внутрішньовенне уведення; вірогідність змін відносно: * – контролю, ** – внутрішньоочного уведення, *** – зовнішнього контролю

У селезінці щурів контрольної групи вміст малонового диальдегіду (рис. 5.9) становив $0,217 \pm 0,019$ нмоль/г білка ($n=11$).

Цей показник не змінювався після внутрішньоочного уведення ендотоксину ($0,226 \pm 0,020$ нмоль/г білка; $n=11$), але значно – у 3,2 раза – зростав після уведення ліпополісахариду грамнегативної мікрофлори в системний кровотік ($0,698 \pm 0,043$ нмоль/г білка; $p < 0,001$; $n=22$) за відсутності достовірних змін у тварин групи зовнішнього контролю ($0,232 \pm 0,014$ нмоль/г білка; $n=15$).

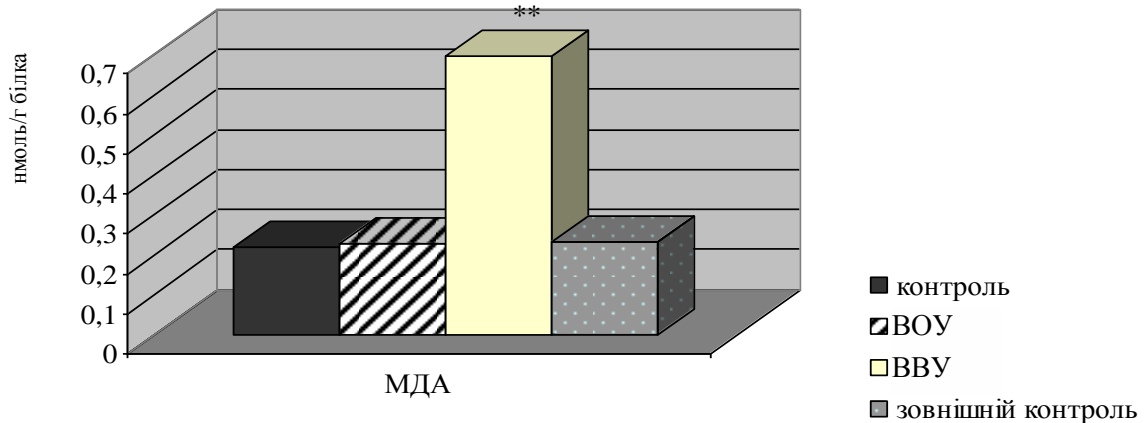


Рис. 5.9. Зміни вмісту малонового діальдегіду в тканинах селезінки за внутрішньоочного та внутрішньовенного уведення ендотоксину (нмоль/г білка)
Примітка: VOY – внутрішньоочне уведення, VBY – внутрішньовенне уведення; вірогідність змін відносно: ** – внутрішньоочного уведення

У нирках після внутрішньоочного уведення ендотоксину (рис. 5.10) рівень малонового діальдегіду залишався сталим ($0,116 \pm 0,009$ проти $0,109 \pm 0,008$ нмоль/г білка в контролі; $p > 0,05$; $n = 22$), а за уведення ендотоксину в яремну вену зростав на 37,6 % ($0,150 \pm 0,007$ нмоль/г білка; $p < 0,001$; $n = 22$) при відсутності змін у щурів зовнішньої контрольної групи ($0,111 \pm 0,009$ нмоль/г білка; $n = 15$).

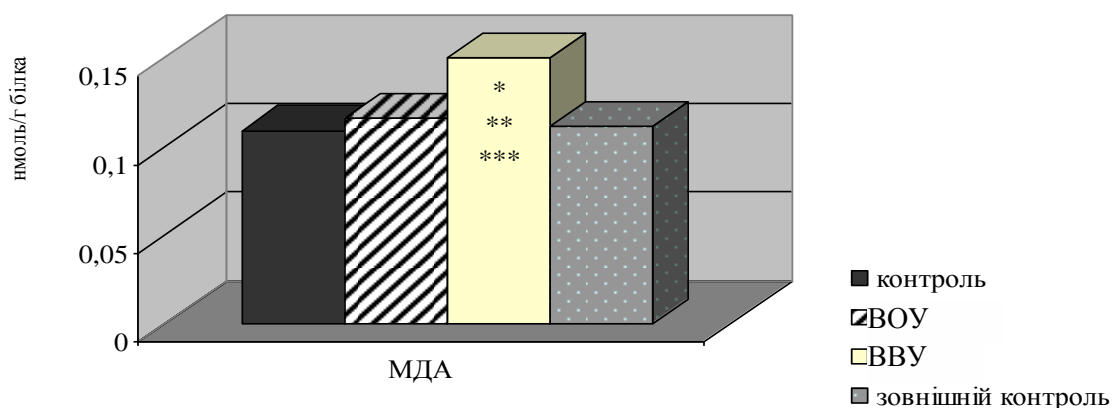


Рис. 5.10. Зміни вмісту малонового діальдегіду в кірковому шарі нирок за внутрішньоочного та внутрішньовенного уведення ендотоксину (нмоль/г білка)

Примітка: VOY – внутрішньоочне уведення, VBY – внутрішньовенне уведення; вірогідність змін відносно: * – контролю, ** – внутрішньоочного уведення, *** – зовнішнього контролю

Таким чином, за внутрішньоочного уведення ендотоксину інтенсивність ліпопероксидації зростає тільки в печінці, а в разі уведення ліпополісахариду грамнегативної мікрофлори в системний кровообіг процеси пероксидного окиснення ліпідів активуються в тканинах серця, легень, селезінки та нирок.

За результатами даного розділу можна дійти наступних проміжних висновків:

1. Системна ендотоксинемія призводить до значного підвищення вмісту в крові прозапальних цитокінів, а уведення ліпополісахариду грамнегативної мікрофлори в склисте тіло спричиняє збільшення тільки TNF- α і не впливає на сироваткову концентрацію IL-1 β .

2. Після внутрішньовенного уведення ендотоксину відбувається активація систем генерації активних форм кисню як у нейтрофілах, так і в моноцитах, а в разі уведення ліпополісахариду в склисте тіло посилення процесів утворення кисневих радикалів спостерігається тільки в мононуклеарних фагоцитах крові, тоді як функціональна активність моноцитів-макрофагів зростає в обох випадках.

3. За уведення ліпополісахариду грамнегативної мікрофлори в склисте тіло та в яремну вену зміни плазмового фібринолізу і протеолізу мають однакову спрямованість (зростають) і відрізняються лише за інтенсивністю.

4. За внутрішньоочного уведення ендотоксину в печінці значно зростають усі показники тканинного протеолізу і фібринолізу, тоді як за внутрішньовенного останні залишаються без змін. У легнях знижується неферментативний фібриноліз у разі уведення ендотоксину в склисте тіло та підвищується – за внутрішньовенного його уведення. Крім того, у першому випадку зростає інтенсивність ферментативного фібринолізу і колагенолізу, а в другому – відбувається їх суттєве пригнічення.

Матеріали цього розділу опубліковано в роботі:

[49] Івасюк Л.В. Вплив ендотоксинів грамнегативної і грампозитивної мікрофлори на інтенсивність фібринолізу у склистому тілі ока кролів з проникним пораненням склери / Л.В Івасюк, Я.І. Пенішкевич // Клінічна та експериментальна патологія. – 2008. –№3. – С. 56-60.

[50] Івасюк Л.В. Вплив ендотоксинів грамнегативної і грампозитивної мікрофлори на інтенсивність протеолізу в склистому тілі ока кроликів з проникним пораненням склери / Л.В.Івасюк, Я.І.Пенішкевич // Буковинський медичний вісник. – 2009. – Т. 13, № 2. – С. 69.-72.

РОЗДІЛ 6

ВПЛИВ ІНДОМЕТАЦИНУ НА СИСТЕМУ АГРЕГАТНОГО СТАНУ
КРОВІ, ПЛАЗМОВИЙ І ТКАНИННИЙ ФІБРИНОЛІЗ У ЩУРІВ,
ЯКІ ЗАЗНАВАЛИ СИСТЕМНОЇ ДІЇ
ГЛЮКОЗОАМІНІЛМУРАМІЛДИПЕПТИДУ

Застосування індометацину суттєво впливало на систему регуляції агрегатного стану крові. У тварин, яким вводили ГМД та індометацин у дозі 0,5 мг на кг маси тіла, через 24 год від початку експерименту час рекальцифікації збільшувався на 42,0 %, активований парціальний тромбoplastиновий час зростав на 33,4 %, у результаті чого обидва показники не відрізнялися від контрольних величин (табл. 6.1). Протромбіновий час подовжувався на 17,3 %, однак контрольних величин не досягав, залишаючись меншим на 17,6 %. Не спостерігалось достовірних змін тромбінового часу, який менший за контрольні показники на 35,2 %. Водночас активність антитромбіну III зростала на 20,0 % і від контрольних величин не відрізнялася. Крім того, відсоток адгезивних тромбоцитів знижувався на 10,9 %, однак індекс спонтанної агрегації тромбоцитів, хоча й зменшувався майже втричі, проте залишався більшим, ніж у тварин контрольної групи. Зниження концентрації фібриногену в крові на 15,1 % також не призводило до нормалізації цього показника – рівень фібриногену крові перевищував контроль на 10,7 %.

Таким чином, через 24 год після уведення ГМД індометацин у дозі 0,5 мг на кг маси тіла сприяє нормалізації інтенсивності утворення протромбіназного комплексу за внутрішнім механізмом згортання крові, проте мало впливає на інтенсивність тромбіногенезу за зовнішнім шляхом утворення протромбіназного комплексу. Збереження високої швидкості фібриногенезу при підвищенні активності антитромбіну III свідчить про наявність в організмі піддослідних тварин постійного прокоагуляційного сигналу, що підтверджується збереженням підвищеної агрегаційної здатності тромбоцитів при нормалізації їх адгезивних властивостей.

Таблиця 6.1

**Коагуляційний потенціал крові через 24 год після уведення
глюкозоамінілмурамілдіпептиду та індометацину (0,5 мг/кг) на (M±m)**

Показники, що досліджувались	Контроль, n=12	Уведення ГМД, n=15	Уведення ГМД + індометацин, n=17
Час рекальцифікації, с	77,6±3,62	51,1±2,58	72,5±3,16 p ₂ <0,001
Активованій частковий тромбо-пластиновий час, с	40,1±3,24	29,0±1,48	38,7±2,05 p ₂ <0,001
Протромбіновий час, с	22,3±1,64	15,6±0,77	18,3±1,05 p ₁ <0,05 p ₂ =0,05
Тромбіновий час, с	13,6±0,70	8,08±0,58	8,84±0,33 p ₁ <0,001
Активність анти- тромбіну III, %	97,4±3,12	72,4±3,87	92,4±2,58 p ₂ <0,001
Відсоток адгезивних тромбоцитів, %	40,1±2,80	56,2±2,65	45,4±2,10 p ₂ <0,05
Індекс спонтанної агрегації тромбоцитів, %	1,27±0,13	6,10±0,63	2,30±0,13 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001
Концентрація в крові фібриногену, г/л	3,82±0,06	4,98±0,18	4,23±0,11 p ₁ <0,05 p ₂ <0,001

Примітки: достовірність змін порівняно з: p₁ – контролем; p₂ – параметрами через 24 год після уведення ГМД; n – кількість спостережень

Незважаючи на це, у цілому гемостатичні ефекти індометацину можна розцінювати як гіпокоагуляційні, особливо якщо врахувати зниження у тварин, яким вводили ГМД, концентрації фібриногену в крові.

Зміни фібринолітичної системи плазми крові в щурів, які отримували ГМД та індометацин, представлені у табл. 6.2. Вони характеризувалися зниженням сумарної, неферментативної і ферментативної фібринолітичної активності відповідно на 44,8; 99,7 і 44,1 %, в результаті чого всі зазначені параметри плазмовео фібринолізу зменшувались і відносно контрольних показників – на 17,1; 28,3 і 17,1 %, відповідно.

Структура сумарної фібринолітичної активності при цьому не порушувалася (рис. 6.1). Інтенсивність Хагеман-залежного фібринолізу під впливом індометацину також знижувалася (на 45,6 %), однак залишалася більш високою (на 19,7 %), ніж у тварин контрольної групи. Єдиним показником, який не змінювався і відповідав контрольним величинам, виявилася потенційна активність плазміногену.

Загальна активність антиплазмінів зменшувалася на 13,3 % за рахунок зниження активності їх повільнодіючої фракції до контрольних величин, тоді як активність швидкодіючих антиплазмінів, навпаки, зростала на 22,3 %. Концентрація у плазмі крові розчинних комплексів фібрин-мономера зменшувалась на 43,5 %.

Таким чином, через 24 год після уведення ГМД індометацин зменшує фібринолітичну активність плазми крові, особливо неферментативний фібриноліз. У даному випадку цей ефект може бути опосередкований швидкодіючими антиплазмінами, рівень яких підвищується, ймовірно, у відповідь на достатньо високу інтенсивність Хагеман-залежного фібринолізу. Такі досить складні й суперечливі зміни у фібринолітичній системі плазми крові підтверджують припущення, що в організмі тварин, які отримували ГМД та індометацин, зберігається досить високий прокоагуляційний сигнал, який опосередкований зовнішнім механізмом згортання крові.

Таблиця 6.2

**Фібринолітичний потенціал крові через 24 год після уведення
глюкозамінілмураміддипептиду та індометацину (0,5 мг/ кг) (M±m)**

Показники, що досліджувались	Контроль, n=12	Уведення ГМД, n=15	Уведення ГМД + індометацин, n=17
Фібринолітична активність плазми, мкмоль азофібрину/мл за 1 год:			
- сумарна	6,95±0,42	10,4±0,30	5,76±0,22 p ₁ <0,05 p ₂ <0,001
- неферментативна	0,60±0,06	0,85±0,05	0,43±0,03 p ₁ <0,05 p ₂ <0,001
- ферментативна	6,43±0,42	9,59±0,29	5,33±0,23 p ₁ <0,05 p ₂ <0,001
Хагеман-залежний фібриноліз, хв	13,7±0,86	7,59±0,42	11,0±0,47 p ₁ <0,05 p ₂ <0,001
Потенційна активність плазміногену, хв	15,2±0,80	15,3±0,60	14,4±0,40 p ₁ >0,05 p ₂ >0,05
Загальна активність антиплазмінів, %	84,6±2,61	135±5,07	121±2,72 p ₁ <0,001 p ₂ <0,05
Активність швидкодіючих антиплазмінів, %	81,0±2,44	97,3±2,18	119±2,74 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001
Активність повільнодіючих антиплазмінів, %	74,8±2,62	80,9±2,02	100±4,06 p ₁ <0,001 p ₂ <0,01
Концентрація розчинних комплексів фібрин-мономера, мкг/л	не визначається	3,91±0,43	2,21±0,09 p ₂ <0,001

Примітки: достовірність змін порівняно з: p₁ – контролем; p₂ – параметрами через 24 год після уведення ГМД; n – кількість спостережень

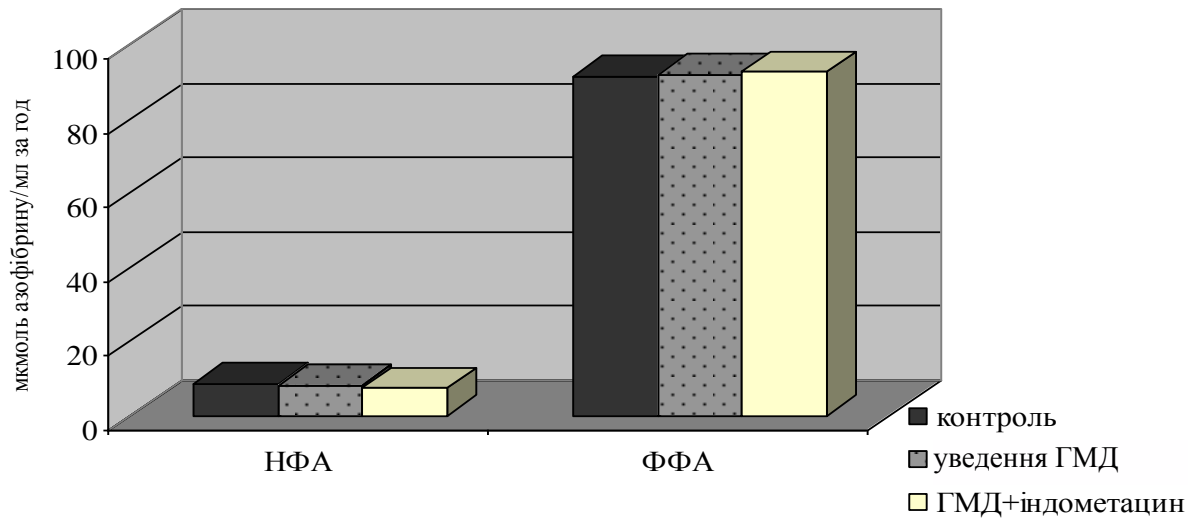


Рис. 6.1. Вплив індометацину (0,5 мг/кг) на структуру фібринолітичної активності плазми крові через 24 год після введення глюкозамінілмураміддипептиду (у % від сумарної інтенсивності фібринолізу)

Виражений вплив індометацин мав на стан тканинного фібринолізу (табл. 6.3). У селезінці підвищення сумарної фібринолітичної активності складало 16,1 %. При цьому інтенсивність неензиматичного лізису фібрину суттєво зменшувалася, тоді як ферментативний фібриноліз зростав на 17,9 %. У результаті структура сумарного фібринолізу в тканині селезінки практично нормалізувалась (рис. 6.2).

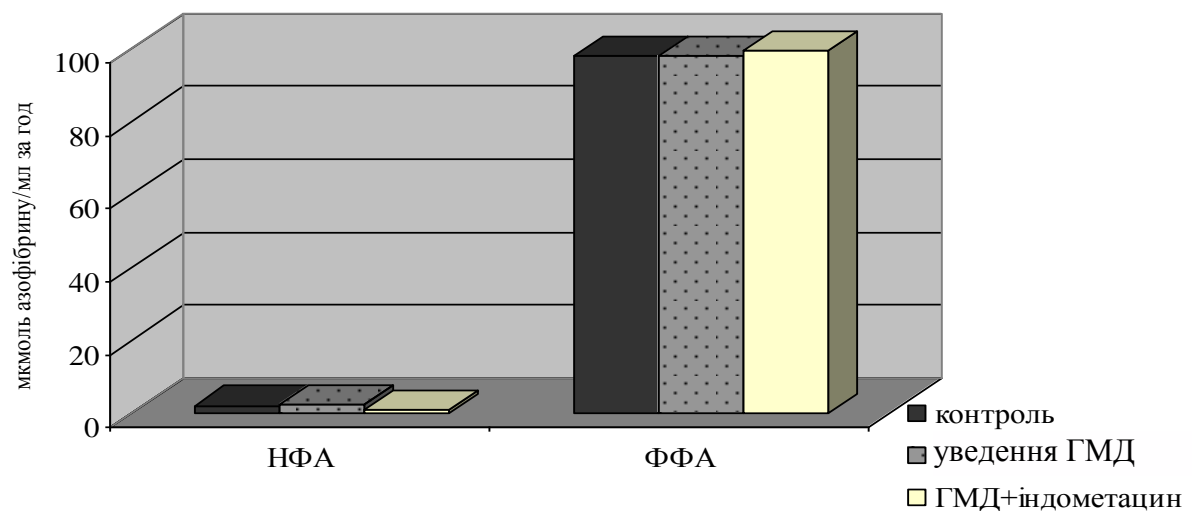


Рис. 6.2. Вплив індометацину (0,5 мг/ кг) на структуру сумарної фібринолітичної активності у тканині селезінки через 24 год після введення глюкозамінілмураміддипептиду (у % від сумарної інтенсивності фібринолізу)

Таблиця 6.3

Тканинна фібринолітична активність через 24 год після уведення глюкозамінілмураміддипептиду та індометацину (0,5 мг/кг) ($M \pm m$)

Показники, що досліджувались	Контроль, n=12	Уведення ГМД, n=15	Уведення ГМД + індометацин, n=17
Фібриноліз у тканині селезінки (мкг азофібрину/ 1 г за 1 год):			
- сумарний	64,3±2,09	77,8±2,08	90,4±4,31 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,05$
- неферментативний	1,39±0,13	1,87±0,11	0,78±0,05 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
- ферментативний	62,9±2,12	75,9±2,12	89,6±4,33 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,05$
Фібриноліз у тканині серця (мкг азофібрину/ 1 г за 1 год):			
- сумарний	10,30±0,58	15,42±0,64	19,78±0,59 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
- неферментативний	4,63±0,25	6,17±0,34	5,37±0,30
- ферментативний	5,67±0,35	9,25±0,35	14,41±0,49 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
Фібриноліз у тканині легень (мкг азофібрину/ 1 г за 1 год):			
- сумарний	11,67±0,31	18,83±0,53	21,46±1,01 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,05$
- неферментативний	5,72±0,27	6,41±0,18	4,03±0,28 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
- ферментативний	5,95±0,13	12,41±0,47	17,4±0,92 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$

Примітки: достовірність змін порівняно з: p_1 – контролем; p_2 – показниками через 24 год після уведення ГМД; n – кількість спостережень

У серці індометацин сприяв підвищенню ферментативної фібринолітичної активності на 55,8 % за відсутності змін неферментативного

фібринолізу, внаслідок чого в структурі сумарної фібринолітичної активності чітко переважала частка ензиматичного лізису фібрину (рис. 6.3).

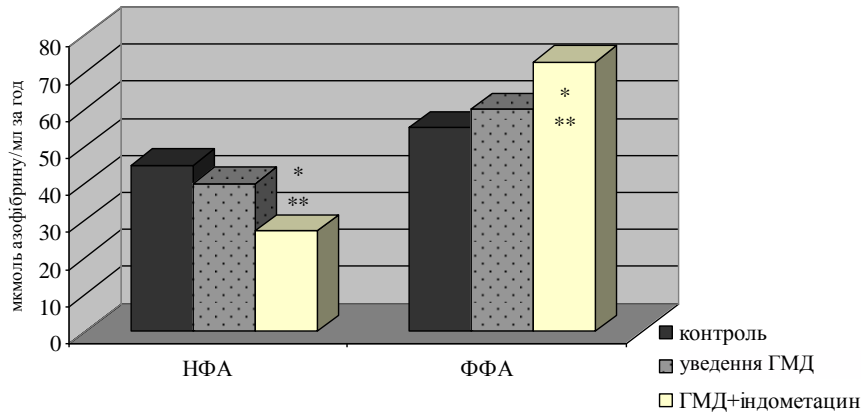


Рис. 6.3. Вплив індометацину (0,5 мг/кг) на структуру сумарної фібринолітичної активності в тканині серця через 24 год після введення глюкозамінілмураміддипептиду (у % від сумарної інтенсивності фібринолізу)
Примітки: вірогідні зміни відносно:* – контролю; ** – введення глюкозамінілмураміддипептиду

У легеневій тканині в щурів, яким вводили ГМД та індометацин, знижувалася неферментативна фібринолітична активність на 37,1 %, тоді як інтенсивність ферментативного фібринолізу та його частка в сумарному лізисі фібрину значно зростала (рис. 6.4).

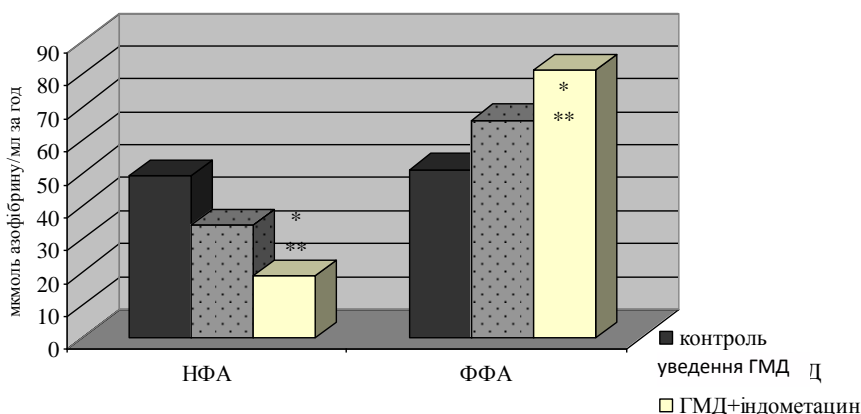


Рис. 6.4. Вплив індометацину (0,5 мг/кг) на структуру фібринолітичної активності в легеневій тканині через 24 год після введення глюкозамінілмураміддипептиду (у % від сумарної інтенсивності фібринолізу)
Примітки: вірогідні зміни відносно:* – контролю; ** – введення ГМД

Подібні зміни тканинного фібринолізу спостерігалися й у печінці (табл. 6.4): неферментативна фібринолітична активність зменшувалася на 17,0 %, тоді як ферментативний фібриноліз зростав на 47,9 %.

Таблиця 6.4

Тканинна фібринолітична активність через 24 год після уведення глюкозоамінілмураміддипептиду та індометацину (0,5 мг/кг) ($M \pm m$)

Показники, що досліджувались	Контроль, n=12	Уведення ГМД, n=15	Уведення ГМД + індометацин, n=17
Фібриноліз у тканині печінки (мкг азофібрину/1 г за 1 год):			
- сумарний	15,8±0,69	26,4±0,91	33,0±0,70 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
- неферментативний	7,42±0,34	9,16±0,47	7,60±0,36 $p_2 < 0,05$
- ферментативний	8,34±0,37	17,2±0,53	25,5±0,78 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
Фібриноліз в кортикальній тканині нирок (мкг азофібрину/1 г за 1 год):			
- сумарний	10,7±0,38	19,8±0,61	35,6±1,58 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
- неферментативний	4,77±0,21	5,69±0,13	4,56±0,20 $p_2 < 0,001$
- ферментативний	5,95±0,20	14,1±0,57	31,5±1,56 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$

Примітки: достовірність змін порівняно з: p_1 – контролем; p_2 – показниками через 24 год після уведення ГМД; n – кількість спостережень

У кортикальній тканині нирок сумарна інтенсивність фібринолізу зростала на 79,8 % за рахунок ферментативної складової, а неферментативний лізис фібрину зменшувався на 19,9 %.

Частка ензиматичного лізису фібрину в структурі сумарної фібринолітичної активності печінки наближалась до 80 % (рис. 6.5).

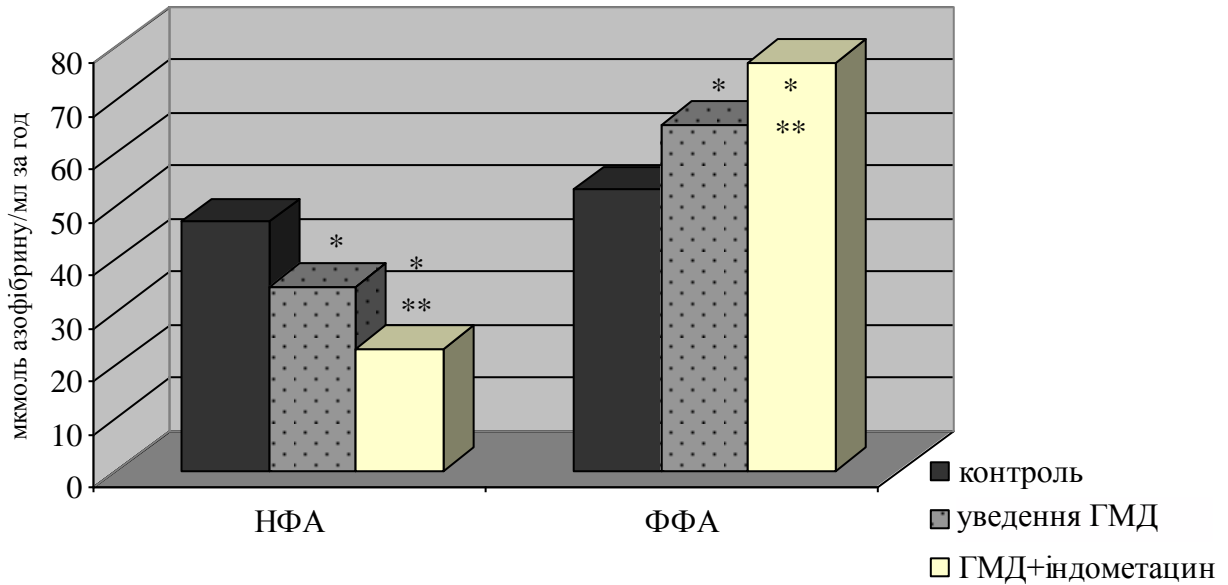


Рис. 6.5. Вплив індометацину (0,5мг/кг) на структуру фібринолітичної активності в тканині печінки через 24 год після введення глюкозамініл-мураміддипептиду (у % від сумарної інтенсивності фібринолізу)

Примітки: вірогідні зміни відносно:* – контролю; ** – введення ГМД

Частка неферментативного лізису фібрину в структурі фібринолітичної активності тканини нирок знижувалася до 12 % (рис. 6.6).

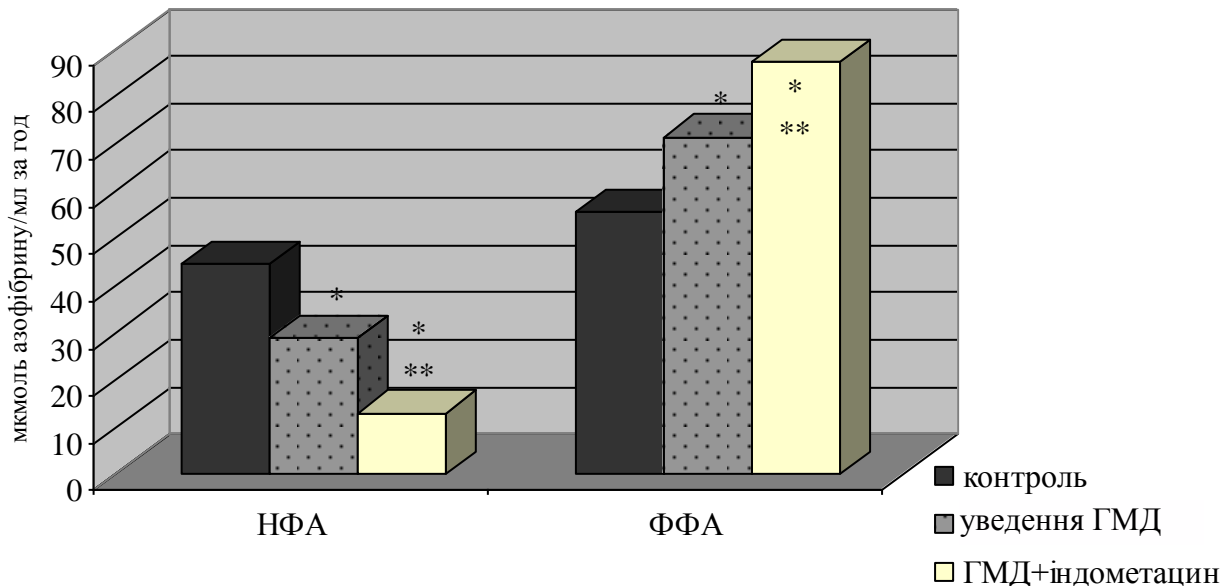


Рис. 6.6. Вплив індометацину (0,5 мг/кг) на структуру фібринолітичної активності в кортикальній тканині нирок через 24 год після введення глюкозамінілмураміддипептиду (у % від сумарної інтенсивності фібринолізу)

Примітки: вірогідні зміни відносно:* – контролю; ** – введення ГМД

Таким чином, загальною закономірністю змін тканинного фібринолізу в різних органах щурів, яким вводили глюкозоамінілмураміддипептид та індометацин у дозі 0,5 мг/кг, є значне підвищення ферментативної фібринолітичної активності за відсутності змін (серце) або зниженні (селезінка, легені, печінка, нирки) інтенсивності неензиматичного лізису фібрину.

Через 72 год у щурів, яким вводили глюкозоамінілмураміддипептид та індометацин (0,5 мг/кг), час рекальцифікації плазми крові зменшувався на 18,3 %, активований частковий тромбoplastиновий час – на 16,2 %, тромбіновий час – на 21,5 %, у результаті чого зазначені показники досягали контрольних величин (табл. 6.5).

Протромбіновий час скорочувався на 41,8 %, однак залишався на 23,5 % меншим, ніж у контрольних тварин.

Активність антитромбіну III за поєднаної дії індометацину та глюкозоамінілмураміддипептиду підвищувалася на 20,7 %, проте також не досягала контрольного рівня.

Показник відсотка адгезивних тромбоцитів знижувався на 24,6 %, індекс спонтанної агрегації тромбоцитів – у 2,1 раза. Проте, обидва параметри функціональної активності тромбоцитів були вищими, ніж у контрольних тварин.

Концентрація фібриногену в крові не змінювалась і залишалася на 9,9 % меншою, ніж у контролі.

Таким чином, індометацин через 72 год після уведення ГМД сприяє нормалізації внутрішніх механізмів згортання крові і фібриногенезу, однак при цьому хронометрична гіпокоагуляція за зовнішнім шляхом утворення протромбіназного комплексу змінюється скороченням періоду утворення активного тромбіну.

Важливими ефектами індометацину, продемонстрованими нашими дослідженнями, слід вважати значне підвищення активності антитромбіну III та різке зниження активності тромбоцитарної ланки первинного гемостазу.

Таблиця 6.5

**Коагуляційний потенціал крові через 72 год після уведення
глюкозоамінілмураміддипептиду та індометацину (0,5 мг/кг) ($M \pm m$)**

Показники, що досліджувались	Контроль, n=12	Уведення ГМД, n=12	Уведення ГМД + індометацин, n=15
Час рекальцифікації, с	77,6 \pm 3,62	93,5 \pm 2,95	76,3 \pm 3,22 $p_2 < 0,001$
Активованій частковий тромбoplastиновий час, с	40,1 \pm 3,24	47,4 \pm 2,55	39,7 \pm 1,92 $p_2 < 0,05$
Протромбіновий час, с	22,3 \pm 1,64	29,2 \pm 1,70	17,0 \pm 0,96 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,001$
Тромбіновий час, с	13,6 \pm 0,70	17,5 \pm 1,26	13,8 \pm 0,63 $p_2 < 0,05$
Активність антитромбіну III, %	97,4 \pm 3,12	60,4 \pm 2,13	81,1 \pm 2,86 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
Відсоток адгезивних тромбоцитів, %	40,1 \pm 2,80	80,4 \pm 2,13	55,8 \pm 2,63 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
Індекс спонтанної агрегації тромбоцитів, %	1,27 \pm 0,13	13,9 \pm 0,80	6,55 \pm 0,29 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
Концентрація в крові фібриногену, г/л	3,82 \pm 0,06	3,67 \pm 0,08	3,44 \pm 0,11 $p_1 < 0,05$

Примітки: достовірність змін порівняно з: p_1 – контролем; p_2 – показниками через 72 год після уведення ГМД; n – кількість спостережень

Через 72 год у щурів, які отримували індометацин та ГМД, сумарна фібринолітична активність плазми крові зростала на 36,1 % (табл. 6.6).

Таблиця 6.6

**Фібринолітичний потенціал крові через 72 год після уведення
глюкозоамінілмурамідпептиду та індометацину (0,5мг/кг) ($M \pm m$)**

Показники, що досліджувались	Контроль, n=12	Уведення ГМД, n=12	Уведення ГМД + індометацин, n=15
Фібринолітична активність плазми, мкмоль азофібрину/мл за 1 год:			
- сумарна	6,95±0,42	3,49±0,22	4,75±0,27 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,05$
- неферментативна	0,60±0,06	0,86±0,03	0,43±0,03 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,001$
- ферментативна	6,43±0,42	2,63±0,22	4,33±0,27 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
Хагеман-залежний фібриноліз, хв	13,8±0,86	26,4±1,99	13,2±0,62 $p_2 < 0,001$
Потенційна активність плазміногену, хв	15,2±0,80	25,4±2,40	14,3±0,76 $p_2 < 0,001$
Загальна активність антиплазмінів, %	84,6±2,61	150±3,67	119±2,48 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
Активність швидкодіючих антиплазмінів, %	81,00±2,44	121,50±5,33	116±2,60 $p_1 < 0,001$
Активність повільнодіючих антиплазмінів, %	74,8±2,62	143±4,13	102±1,93 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
Концентрація розчинних комплексів фібрин-мономера в плазмі крові, мкг/л	не визначається	9,97±0,67	1,90±0,13 $p_2 < 0,001$

Примітки: достовірність змін порівняно з: p_1 – контролем; p_2 – показниками через 72 год після уведення ГМД; n – кількість спостережень

Це відбувалося за рахунок підвищення інтенсивності ферментативного фібринолізу на 64,6 %, оскільки неферментативний зменшувався вдвічі, що різко підвищувало частку ензиматичного лізису фібрину й нормалізувало структуру загальної фібринолітичної активності (рис. 6.7).

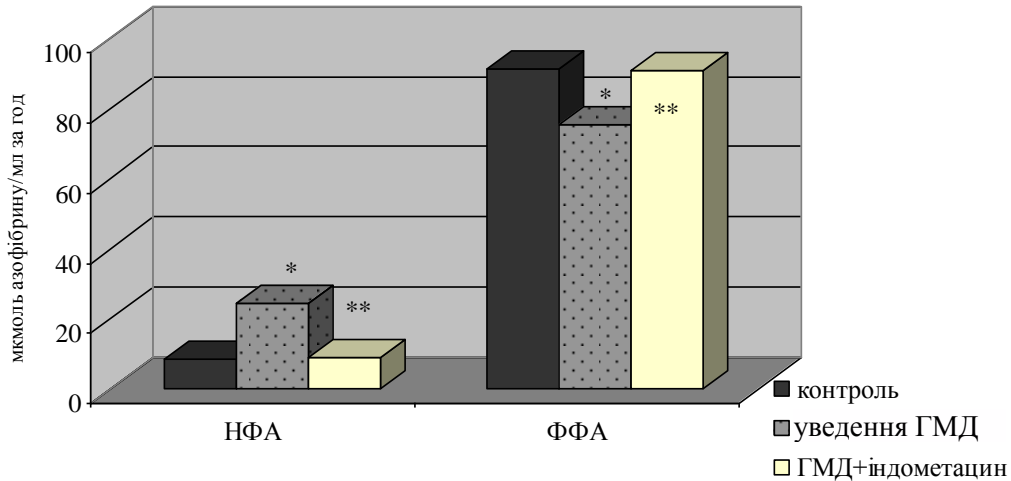


Рис. 6.7. Вплив індометацину (0,5 мг/кг) на структуру фібринолітичної активності плазми крові через 72 год після уведення глюкозо-амінілмураміддипептиду (у % від сумарної інтенсивності фібринолізу)

Примітки: вірогідні зміни відносно:* – контролю; ** – введення ГМД

Збільшення у 2 рази інтенсивності Хагеман-залежного фібринолізу й потенційної активності плазміногену на 43,8 % сприяло нормалізації цих параметрів. Показники загальної активності антиплазмінів, їх швидко- і повільнодіючої фракцій зменшувались. Концентрація в плазмі крові розчинних комплексів фібрин-мономера знижувалася в 5,2 раза.

Отже, введення індометацину тваринам, які отримували ГМД, через три доби сприяє підвищенню ферментативної фібринолітичної активності плазми крові, нормалізує інтенсивність Хагеман-залежного фібринолізу і потенційну активність плазміногену, знижує активність антиплазмінів та зменшує вміст у крові розчинних комплексів фібрин-мономера.

Зміни тканинного фібринолізу в тканинах міокарду, легень, печінки, селезінки, кіркового шару нирок щурів, яким вводили ГМД та індометацин, представлені в табл. 6.7.

Таблиця 6.7

Тканинна фібринолітична активність через 72 год після уведення глюкозоамінілмураміддипептиду та індометацину (0,5 мг/кг) (M±m)

Показники, що досліджувались	Контроль, n=12	Уведення ГМД, n=12	Уведення ГМД + індометацин, n=15
Фібриноліз у тканині селезінки (мкг азофібрину/ 1 г за 1 год):			
- сумарний	64,3±2,09	33,4±2,22	81,4±4,06 p ₁ <0,05 p ₂ <0,001
- неферментативний	1,39±0,13	1,96±0,09	0,77±0,07 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001
- ферментативний	62,9±2,12	31,5±2,19	80,7±4,04 p ₁ <0,01 p ₂ <0,001
Фібриноліз у тканині серця (мкг азофібрину/ 1 г за 1 год):			
- сумарний	10,3±0,58	10,4±0,57	10,3±0,56
- неферментативний	4,63±0,25	6,09±0,40	4,35±0,27 p ₂ <0,01
- ферментативний	5,67±0,35	4,30±0,41	5,91±0,46 p ₂ <0,05
Фібриноліз у тканині легень (мкг азофібрину/ 1 г за 1 год):			
- сумарний	11,7±0,31	11,2±0,61	13,7±0,74 p ₁ <0,05 p ₂ <0,05
- неферментативний	5,72±0,27	7,95±0,74	3,24±0,17 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001
- ферментативний	5,95±0,13	3,28±0,18	10,5±0,74 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001

Примітки: достовірність змін порівняно з: p₁ – контролем; p₂ – показниками через 72 год після уведення ГМД; n – кількість спостережень

Вони характеризувалися зниженням неферментативної фібринолітичної активності в селезінці в 2,5 раза при зростанні інтенсивності ензиматичного лізису фібрину в 2,6 раза, тому сумарна фібринолітична активність була майже на 100 % презентована ферментативним фібринолізом (рис. 6.8).

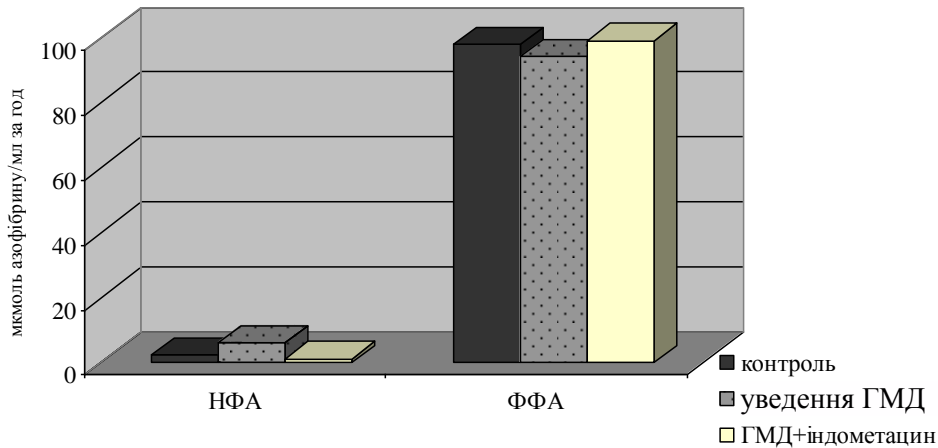


Рис. 6.8. Вплив індометацину (0,5 мг/кг) на структуру фібринолітичної активності в тканині селезінки через 72 год після введення глюкозамінілмураміддипептиду (у % від сумарної інтенсивності фібринолізу)

У міокарді тварин за цих умов експерименту ферментативна фібринолітична активність збільшувалася на 37,4%, неферментативний фібриноліз зменшувався на 28,6%, що нормалізувало структуру сумарного лізису фібрину (рис. 6.9).

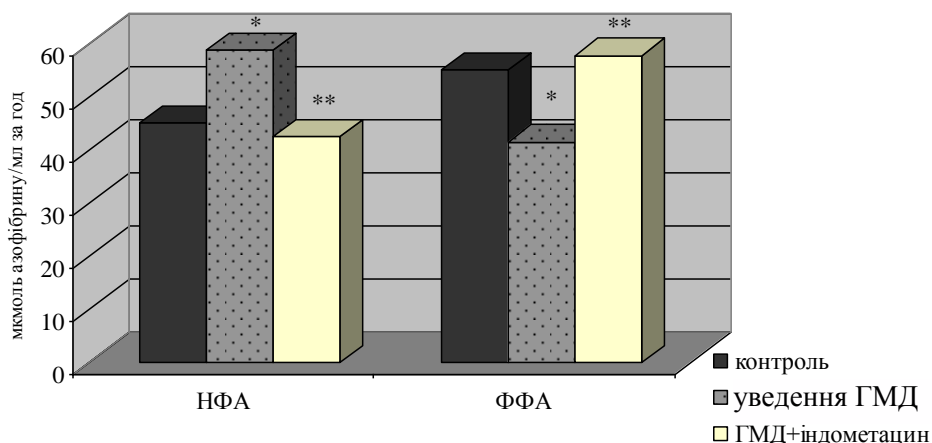


Рис. 6.9. Вплив індометацину (0,5 мг/кг) на структуру фібринолітичної активності в міокарді через 72 год після введення глюкозамінілмураміддипептиду (у % від сумарної інтенсивності фібринолізу)

Примітки: вірогідні зміни відносно:* – контролю; ** – введення ГМД

Дещо подібні, але більш вагомі зміни (неферментативний фібриноліз знижувався в 2,5 раза, ферментативна фібринолітична активність зростала в 3,2 раза), виявлено й для легеневої тканини щурів, яким вводили глюкозоамінілмураміддипептид в поєднанні з індометацином (див. табл. 6.7, рис. 6.10).

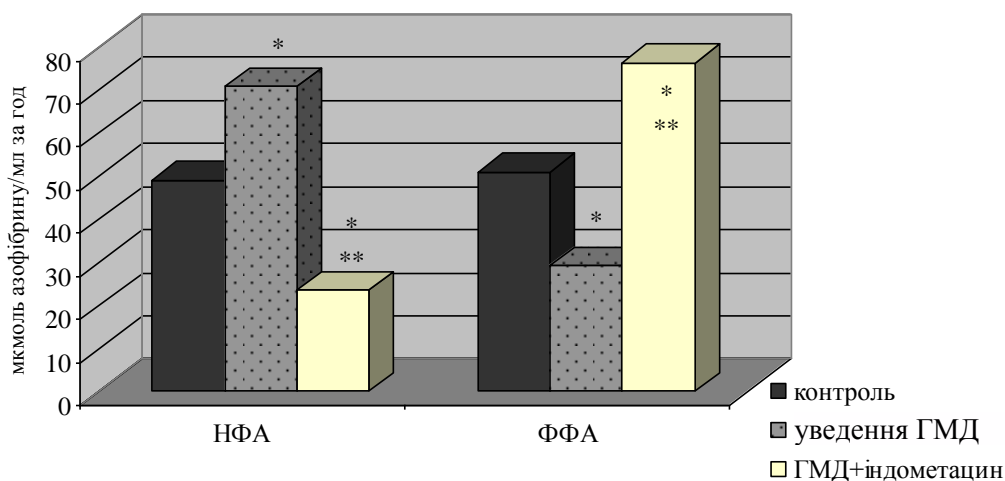


Рис. 6.10. Вплив індометацину (0,5 мг/кг) на структуру фібринолітичної активності в легеневій тканині через 72 год після введення глюкозоамінілмураміддипептиду (у % від сумарної інтенсивності фібринолізу)
Примітки: вірогідні зміни відносно:* – контролю; ** – введення ГМД

У печінці тварин, яким вводили глюкозоамінілмураміддипептид, під впливом індометацину відбулося підвищення загальної інтенсивності тканинного фібринолізу на 28,4 %. Воно також зумовлено збільшенням ферментативної фібринолітичної активності (у 2,8 раза), оскільки неензиматичний лізис фібрину достовірно зменшувався (табл. 6.8).

У кортикальній тканині нирок щурів після введення глюкозоамінілмураміддипептиду, індометацин призводив до підвищення сумарної фібринолітичної активності на 90,4 %, що пов'язано зі зростанням інтенсивності ензиматичного лізису фібрину у 8 разів. При цьому неферментативний фібриноліз зменшувався в 2,1 раза. У структурі сумарної фібринолітичної активності печінкової тканини значно зростала частка ферментативного фібринолізу (рис. 6.11).

Таблиця 6.8

Тканинна фібринолітична активність через 72 год після уведення глюкозоамінілмураміддипептиду та індометацину (0,5 мг/кг) ($M \pm m$)

Показники, що досліджувались	Контроль, n=12	Уведення ГМД, n=12	Уведення ГМД + індометацин, n=15
Фібриноліз у тканині печінки (мкг азофібрину/1 г за 1 год):			
- сумарний	15,8±0,69	16,3±0,85	20,9±0,92 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,05$
- неферментативний	7,42±0,34	10,5±0,90	4,75±0,32 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
- ферментативний	8,34±0,37	5,81±0,54	16,2±0,88 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
Фібриноліз у кортикальній тканині нирок (мкг азофібрину/1 г за 1 год):			
- сумарний	10,7±0,38	6,56±0,28	20,4±1,21 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
- неферментативний	4,77±0,21	4,27±0,18	2,07±0,16 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
- ферментативний	5,95±0,20	2,29±0,22	18,3±1,14 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$

Примітки: достовірність змін порівняно з: p_1 – контролем; p_2 – показниками через 72 год після уведення ГМД; n – кількість спостережень

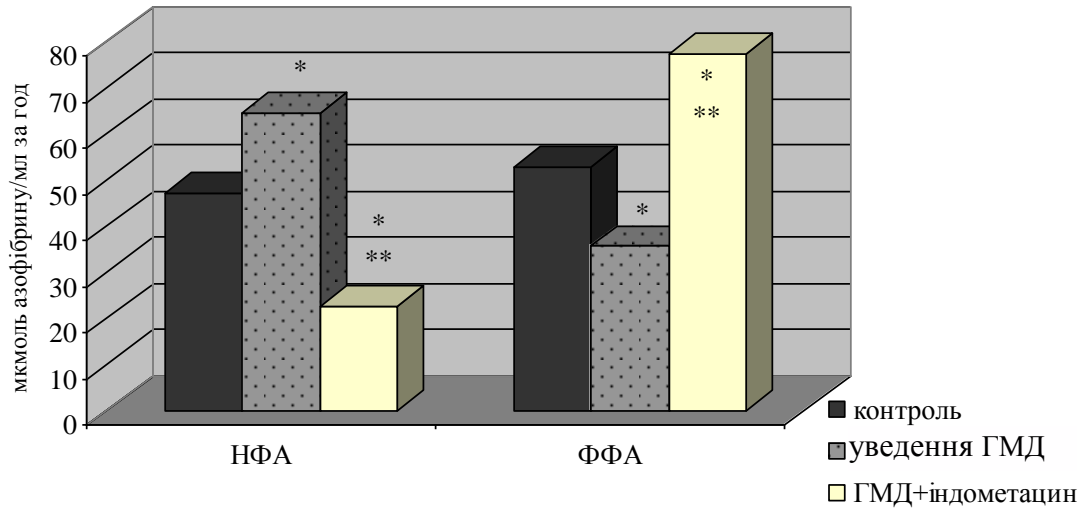


Рис. 6.11. Вплив індометацину (0,5 мг/кг) на структуру фібринолітичної активності в тканині печінки через 72 год після введення глюкозоамінілмураміддипептиду (у % від сумарної інтенсивності фібринолізу)
Примітки: вірогідні зміни відносно:* – контролю; ** – введення ГМД

Частка ферментативного лізису фібрину у структурі сумарної фібринолітичної активності в кортикальній тканині нирок наближалася до 90 % (рис. 6.12).

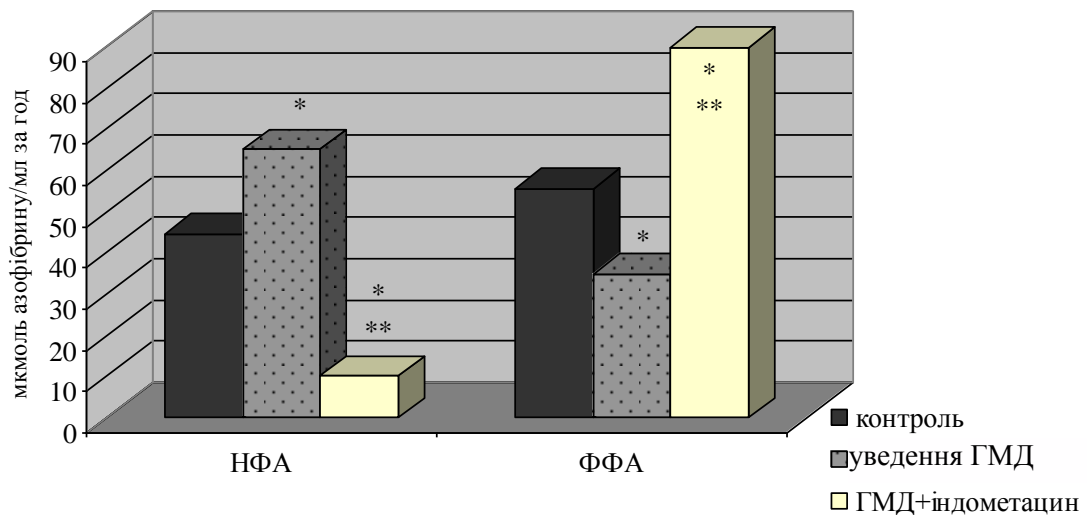


Рис. 6.12. Вплив індометацину (0,5 мг/кг) на структуру фібринолітичної активності в кортикальній тканині нирок через 72 год після введення глюкозоамінілмураміддипептиду (у % від сумарної інтенсивності фібринолізу)
Примітки: вірогідні зміни відносно:* – контролю; ** – введення ГМД

Таким чином, системне уведення індометацину (0,5 мг/кг) тваринам, які отримували глюкозоамінілмураміддипептид, спричиняє значне збільшення ферментативного фібринолізу та різко гальмує неферментативну фібринолітичну активність у тканинах селезінки, серця, легень, печінки й нирок.

Застосування індометацину в дозі 2,5 мг/кг щурам, які отримували глюкозоамінілмураміддипептид 1,0 мг/кг, призводило до збільшення часу рекальцифікації на 51,8 %. Поруч із цим, на 53,9 % зростав активований парціальний тромбoplastиновий час. Варто зазначити, що під впливом даної дози препарату обидва показники досягали контрольних величин, про що свідчать дані, представлені в табл. 6.9.

За даної дози індометацину протромбіновий час не змінювався і залишався на 29,7 % меншим, ніж у контролі. Незважаючи на те, що тромбіновий час збільшувався на 38,1 %, він не досягав контрольних показників, залишаючись меншим за них на 21,4 %. На 25,5 % підвищувалась активність антитромбіну III, проте і цей показник не нормалізувався та був нижче контролю на 20,3 %.

Варто звернути увагу на те, що індометацин у дозі 2,5 мг на кг маси тіла різко знижував функціональну активність тромбоцитів: показники відсотка адгезивних тромбоцитів та індексу їх спонтанної агрегації значно зменшувались і наближались до контрольних величин. Концентрація в крові фібриногену достовірно не змінювалася.

Таким чином, уведення індометацину у більш високій дозі (2,5 мг/кг) тваринам, які отримували глюкозоамінілмураміддипептид (1 мг/кг), сприяє нормалізації активності плазмових факторів внутрішнього механізму згортання крові, зменшує інтенсивність генерації тромбіну за зовнішнім шляхом гемокоагуляції та значно знижує активність тромбоцитарної ланки первинного гемостазу.

Таблиця 6.9

**Гемокоагуляційний потенціал крові щурів, які отримували
глюкозоамінілмураміддипептид (1мг/кг) та індометацин (2,5 мг/кг) (M±m)**

Показники, що досліджувались	Контроль n=12	Уведення ГМД, n=17	Уведення ГМД + індометацин, n=13
Час рекальцифікації, с	77,7±3,62	45,6±2,36 p<0,001	69,1±3,32 p ₁ <0,001
Активованій частковий тромбопластиновий час, с	40,1±3,24	22,6±0,84 p<0,001	34,8±1,91 p ₁ <0,001
Протромбіновий час, с	22,3±1,64	13,5±0,76 p<0,001	15,6±0,93 p<0,05
Тромбіновий час, с	13,6±0,70	7,8±0,38 p<0,001	10,7±0,86 p<0,05 p ₁ <0,05
Активність антитромбіну ІІІ, %	97,4±3,12	51,6±1,44 p<0,001	77,2±3,28 p<0,001 p ₁ <0,001
Відсоток адгезивних тромбоцитів, %	40,0±2,80	85,4±3,11 p<0,001	50,2±2,65 p<0,05 p ₁ <0,001
Індекс спонтанної агрегації тромбоцитів, %	1,27±0,13	14,2±0,79 p<0,001	1,97±0,20 p<0,05 p ₁ <0,001
Концентрація в крові фібриногену, г/л	3,82±0,06	5,18±0,14 p<0,001	4,15±0,17 p ₁ <0,001

Примітки: достовірність змін порівняно з: p – контролем; p₁ – тваринами, яким вводили ГМД; n – кількість спостережень

Фібринолітичний потенціал крові у тварин, які отримували глюкозо-амініл-мураміддипептид та індометацин, представлено в табл. 6.10.

Таблиця 6.10

**Фібринолітичний потенціал крові у тварин, які отримували
глюкозоамінілмураміддипептид (1 мг/кг) та індометацин (2,5 мг/кг) ($M \pm m$)**

Показники, що досліджувались	Контроль, n=12	Уведення ГМД n=17	Уведення ГМД + індометацин n=13
Фібринолітична активність плазми, мкмоль азофібрину/мл за 1 год			
- сумарна	6,95±0,42	2,51±0,08 p<0,001	4,56±0,26 p<0,001 p ₁ <0,001
- неферментативна	0,60±0,06	0,86±0,02 p<0,001	0,71±0,04 p ₁ <0,01
- ферментативна	6,43±0,42	1,65±0,09 p<0,001	3,85±0,26 p<0,001 p ₁ <0,001
Хагеман-залежний фібриноліз, хв	13,7±0,86	12,7±0,85	13,0±0,38
Потенційна активність плазміногену, хв	15,2±0,80	26,0±1,14 p<0,001	14,5±0,68 p ₁ <0,001
Загальна активність антиплазмінів, %	84,6±2,61	152±2,70 p<0,001	124±3,00 p<0,001 p ₁ <0,001
Активність швидкодіючих антиплазмінів, %	81,0±2,44	145±2,35 p<0,001	120±2,56 p<0,001 p ₁ <0,001
Активність повільнодіючих антиплазмінів, %	74,8±2,62	109±3,21 p<0,001	105±3,26 p<0,001
Концентрація розчинних комплексів фібрин-мономера у плазмі крові, мкг/л	не визначається	13,0±0,71	4,19±0,27 p ₁ <0,001

Примітки: достовірність змін порівняно з: p – контролем; p₁ – тваринами, яким вводили ГМД; n – кількість спостережень

Сумарна фібринолітична активність плазми крові під впливом

індометацину зростала на 81,7 %, що пов'язано зі значним (в 2,3 раза) підвищенням інтенсивності ферментативного фібринолізу, тоді як неферментативна фібринолітична активність зменшувалася на 17,4 %.

У результаті зазначених змін структура сумарної фібринолітичної активності плазми крові наближалася до такої у тварин контрольної групи (рис. 6.13).

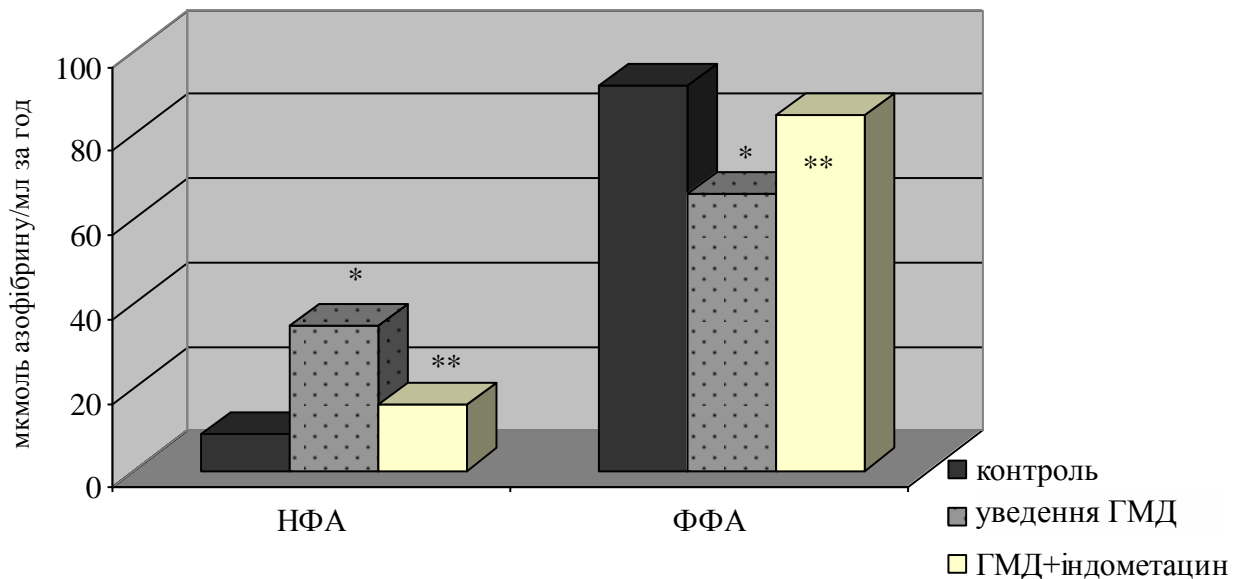


Рис. 6.13. Вплив індометацину (2,5 мг/кг) на структуру сумарної фібринолітичної активності плазми крові в тварин, які отримували глюкозоамінілмураміддипептид (у % від сумарної інтенсивності фібринолізу)

Примітки: вірогідні зміни відносно:* – контролю; ** – введення ГМД

Хагеман-залежний фібриноліз при уведенні щурам індометацину не змінювався, однак потенційна активність плазміногену зростала на 44,3 % і відповідала контрольним величинам.

Знижувалися показники загальної активності антиплазмінів та активності їх швидкодіючої фракції, проте активність повільнодіючих антиплазмінів залишалася без змін і на 30,6 % перевищувала контрольні величини. Концентрація у плазмі крові розчинних комплексів фібрин-мономера зменшувалася в 3,1 раза.

Таким чином, введення індометацину (2,5 мг/кг) тваринам, які отримували ГМД (1 мг/кг), суттєво поліпшує стан фібринолітичної системи

плазми крові, що проявляється підвищенням ферментативної фібринолітичної активності, нормалізацією потенційної активності плазміногену, зменшенням антиплазмінової активності крові та зниженням плазмової концентрації розчинних комплексів фібрин-мономера.

Зміни тканинного фібринолізу після уведення індометацину (2,5 мг/кг) тваринам, які отримували ГМД, подані в табл. 6.11.

У селезінці відбувалося зниження інтенсивності неферментативного фібринолізу в 8,4 раза при збільшенні ферментативної фібринолітичної активності на 29,9 %. Це практично нормалізувало структуру сумарного лізису фібрину в тканині селезінки (рис. 6.14).

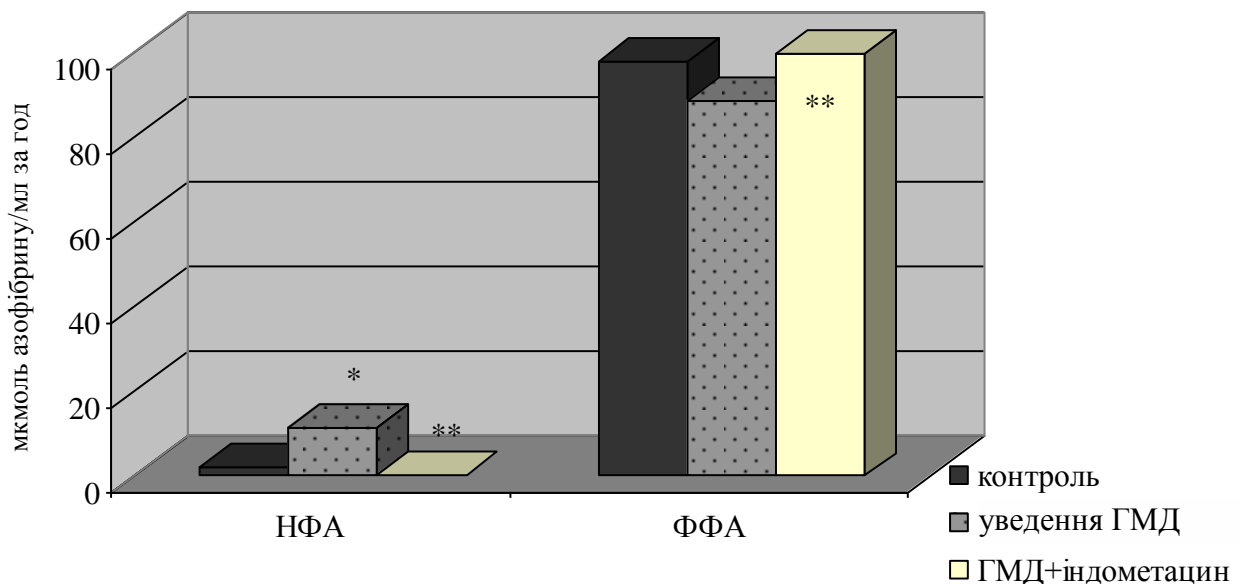


Рис. 6.14. Вплив індометацину (2,5 мг/кг) на структуру сумарної фібринолітичної активності в тканині селезінки тварин, які отримували глюкозоамінілмураміддипептид, (у % від сумарної інтенсивності фібринолізу)
Примітки: вірогідні зміни відносно:* – контролю; ** – уведення ГМД

У міокарді під впливом індометацину неферментативна фібринолітична активність знижувалася в 7,4 раза, ферментативний фібриноліз, навпаки, зростав у 2,8 раза. Це значно збільшувало частку ензиматичного лізису фібрину в структурі сумарної фібринолітичної активності (рис. 6.15).

Таблиця 6.11

Стан тканинного фібринолізу у тварин, які отримували глюкозоамініл-мураміддипептид (1 мг/кг) та індометацин (2,5 мг/кг) ($M \pm m$)

Показники, що досліджувались	Контроль, n=12	Уведення ГМД n=17	Уведення ГМД + індометацин n=13
Фібриноліз у тканині селезінки (мкг азофібрину/ 1 г за 1 год):			
- сумарний	64,3±2,09	73,9±2,81 p<0,05	85,3±2,96 p<0,001 p ₁ <0,05
- неферментативний	1,39±0,13	8,37±0,42 p<0,001	0,93±0,02 p<0,005 p ₁ <0,001
- ферментативний	62,9±2,12	65,5±2,89	85,1±2,97 p<0,001 p ₁ <0,001
Фібриноліз у тканині міокарду (мкг азофібрину/1 г за 1 год):			
- сумарний	10,3±0,58	14,6±0,44 p<0,001	13,7±0,58 p<0,001
- неферментативний	4,63±0,25	10,2±0,42 p<0,001	1,38±0,21 p<0,001 p ₁ <0,001
- ферментативний	5,67±0,35	4,39±0,31	12,3±0,60 p<0,001 p ₁ <0,001
Фібриноліз у тканині легень (мкг азофібрину/1 г за 1 год):			
- сумарний	11,67±0,31	13,49±0,78	18,25±1,06 p<0,001 p ₁ <0,001
- неферментативний	5,72±0,27	9,19±0,62 p<0,001	2,07±0,31 p<0,001 p ₁ <0,001
- ферментативний	5,95±0,13	4,46±0,28 p<0,001	16,17±0,99 p<0,001 p ₁ <0,001

Примітки: достовірність змін порівняно з: p – контролем; p₁ – тваринами, яким вводили ГМД; n – кількість спостережень

Індометацин більш ніж у 4 рази знижував інтенсивність неензиматичного лізису фібрину в легенях та підвищував ферментативний фібриноліз у 3,6 рази.

Частка ферментативного лізису фібрину в структурі сумарної фібринолітичної активності в легеневій тканині наближалася до 90 % (рис. 6.16).

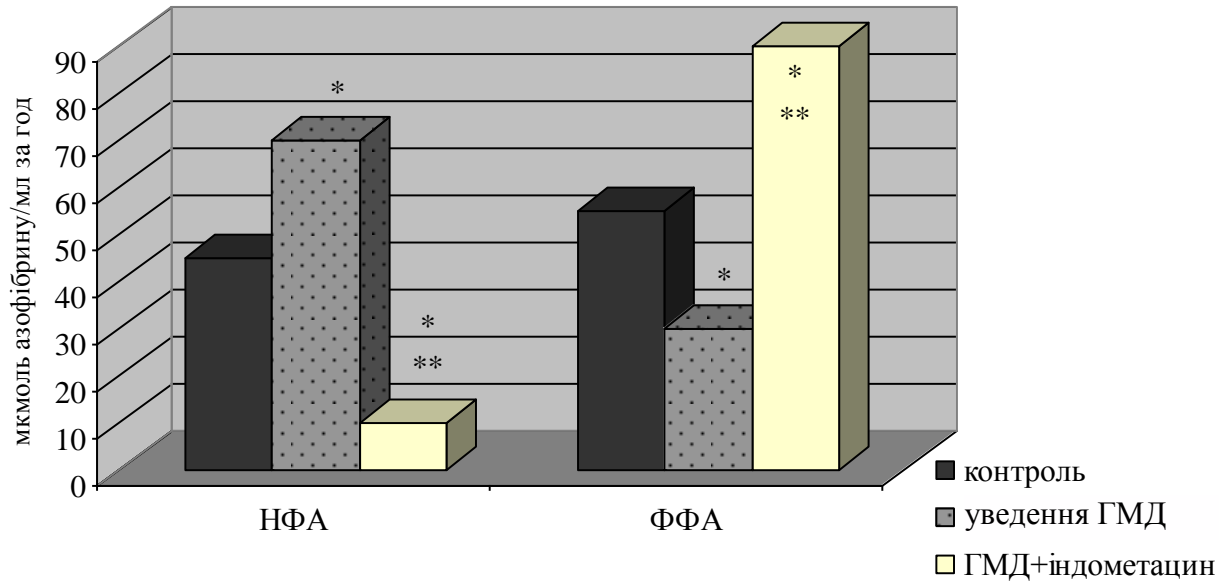


Рис. 6.15. Вплив індометацину (2,5 мг/кг) на структуру сумарної фібринолітичної активності в міокарді щурів, які отримували глюкозоамінілмураміддипептид (у % від сумарної інтенсивності фібринолізу)

Примітки: вірогідні зміни відносно:* – контролю; ** – уведення ГМД

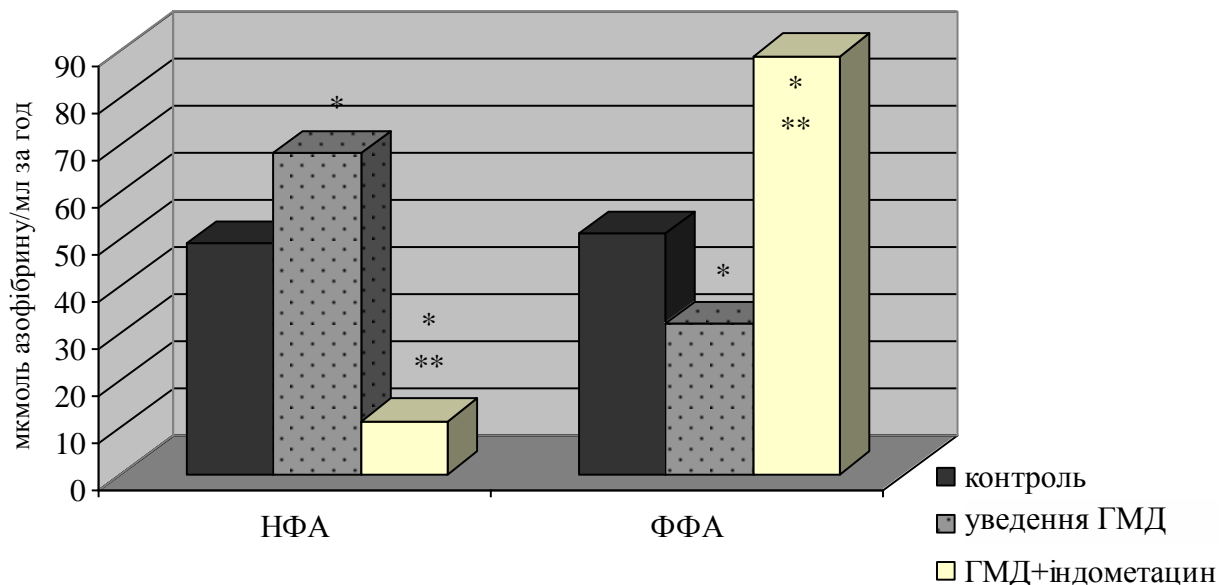


Рис. 6.16. Вплив індометацину (2,5 мг/кг) на структуру сумарної фібринолітичної активності в легеневій тканині щурів, які отримували глюкозоамінілмураміддипептид, (у % від сумарної інтенсивності фібринолізу)

Примітки: вірогідні зміни відносно:* – контролю; ** – уведення ГМД

У тканині печінки індометацин спричиняв подібні зміни (табл. 6.12).

Таблиця 6.12

**Стан тканинного фібринолізу у тварин, які отримували глюкозоамініл-
мураміддипептид (1 мг/кг) та індометацин (2,5 мг/кг) ($M \pm m$)**

Показники, що досліджувались	Контроль, n=12	Уведення ГМД n=17	Уведення ГМД + індометацин, n=13
Фібриноліз у тканині печінки (мкг азофібрину/1 г за 1 год):			
- сумарний	15,8±0,69	18,7±0,71 p<0,05	24,6±1,01 p<0,001 p ₁ <0,001
- неферментативний	7,42±0,34	13,5±0,64 p<0,001	3,49±0,33 p<0,001 p ₁ <0,001
- ферментативний	8,34±0,37	5,13±0,34 p<0,001	21,1±1,15 p<0,001 p ₁ <0,001
Фібриноліз у кортикальній тканині нирок (мкг азофібрину/1 г за 1 год):			
- сумарний	10,7±0,38	14,3±0,77 p<0,01	18,9±0,92 p<0,001 p ₁ <0,001
- неферментативний	4,77±0,21	11,3±0,63 p<0,001	3,63±0,35 p<0,05 p ₁ <0,001
- ферментативний	5,95±0,20	3,02±0,26 p<0,001	15,3±0,84 p<0,001 p ₁ <0,001

Примітки: достовірність змін порівняно з: p – контролем; p₁ – тваринами, яким вводили ГМД; n - кількість спостережень

Неферментативний фібриноліз зменшувався в 3,9 раза, ферментативний – зростав у 4,1 раза. Частка ензиматичного лізису фібрину в сумарній фібринолітичній активності печінкової тканини перевищувала 85 % (рис. 6.17).

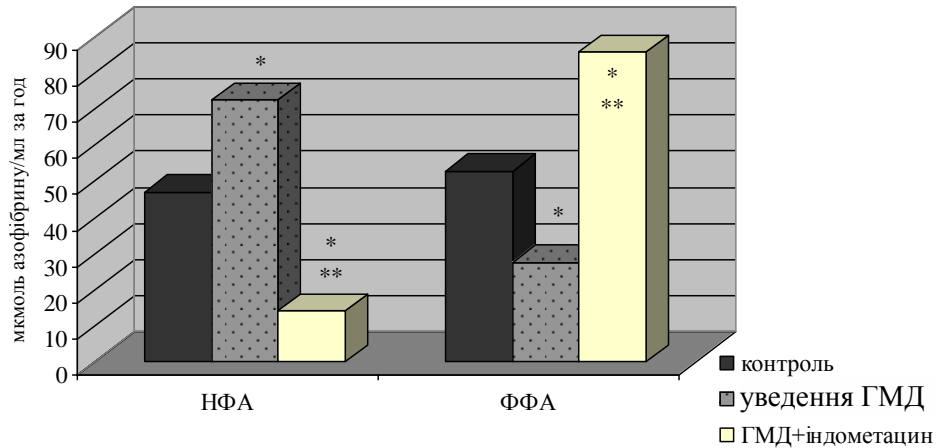


Рис. 6.17. Вплив індометацину (2,5 мг/кг) на структуру сумарної фібринолітичної активності в тканині печінки у тварин, які отримували глюкозоамінілмураміддипептид (у % від сумарної інтенсивності фібринолізу)

Примітки: вірогідні зміни відносно:* – контролю; ** – введення ГМД

У кортикальній тканині нирок (табл. 6.12) індометацин підвищував ферментативну фібринолітичну активність у 5,1 раза і знижував інтенсивність неферментативного фібринолізу в 3,1 раза. У структурі сумарного тканинного лізису фібрину в нирках переважав ензиматичний фібриноліз (рис. 6.18).

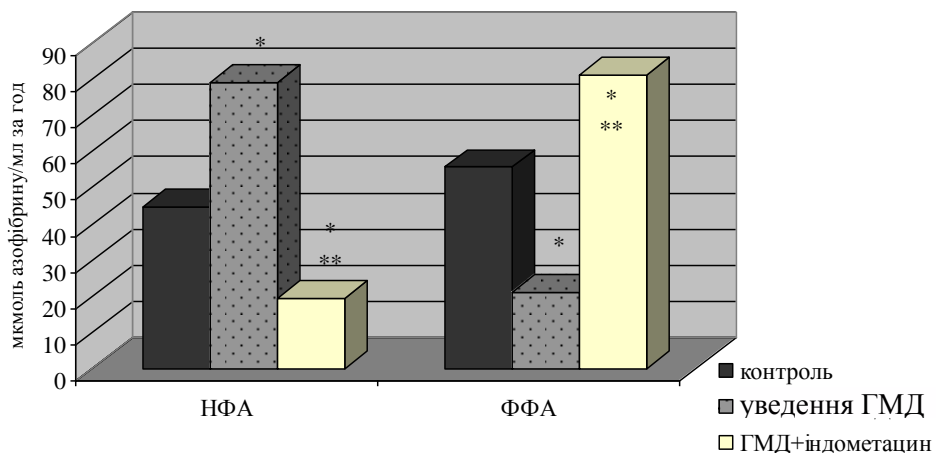


Рис. 6.18. Вплив індометацину (2,5 мг/кг) на структуру фібринолітичної активності в кортикальній тканині нирок у тварин, які отримували глюкозоамінілмураміддипептид (у % від сумарної інтенсивності фібринолізу)

Примітки: вірогідні зміни відносно:* – контролю; ** – введення ГМД

Отримані результати дозволяють зробити наступні проміжні висновки:

1. Через 24 год від початку експерименту індометацин (0,5 мг/кг) у щурів, які отримували глюкозоамінілмураміддипептид (0,5 мг /кг), сприяє нормалізації швидкості внутрішнього механізму утворення протромбіназного комплексу, підвищує активність антитромбіну III та агрегаційну здатність тромбоцитів, нормалізує їх адгезивні властивості на тлі зниження концентрації в крові фібриногену, зменшує фібринолітичну активність плазми крові. Загальною закономірністю змін тканинного фібринолізу є значне зростання ферментативної фібринолітичної активності за відсутності змін (міокарду) або зниження інтенсивності неензиматичного лізису фібрину в тканинах (селезінки, легень, печінки, нирок).

2. Через 72 год після уведення глюкозоамінілмураміддипептиду та індометацину нормалізуються внутрішні механізми згортання крові і фібриногенезу. Значно зростає активність антитромбіну III, знижується активність тромбоцитарної ланки первинного гемостазу, підвищується ферментативна фібринолітична активність плазми крові, нормалізується інтенсивність Хагеман-залежного фібринолізу і потенційна активність плазміногену, знижується активність антиплазмінів та вміст у крові розчинних комплексів фібрин-мономера. У тканинах селезінки, серця, легень, печінки і нирок індометацин значно збільшує ферментативний фібриноліз та зменшує неферментативну фібринолітичну активність.

3. Індометацин у дозі 2,5 мг/кг маси тіла у тварин, які отримували глюкозоамінілмураміддипептид в дозі 1 мг/кг маси тіла, нормалізує активність плазмових факторів внутрішнього механізму згортання крові, зменшує інтенсивність генерації тромбіну за зовнішнім шляхом гемокоагуляції, знижує активність тромбоцитарної ланки первинного гемостазу, суттєво поліпшує стан фібринолітичної системи плазми крові. У тканинах селезінки, серця, легень, печінки та нирок індометацин спричиняє депресію неензиматичного фібринолізу з одночасним різким підвищенням ферментативного лізису фібрину.

Отримані результати опубліковані в працях:

[90] 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. 6, № 1. – С. 80-83.

[49] Івасюк Л.В. Вплив ендотоксинів грамнегативної і грампозитивної мікрофлори на інтенсивність фібринолізу у склистому тілі ока кролів з проникним пораненням склери / Л.В. Івасюк, Я.І. Пенішкевич // Клінічна та експериментальна патологія. – 2008. – №3. – С. 56-60.

[50] Івасюк Л.В. Вплив ендотоксинів грамнегативної і грампозитивної мікрофлори на інтенсивність протеолізу в склистому тілі ока кроликів з проникним пораненням склери / Л.В.Івасюк, Я.І.Пенішкевич // Буковинський медичний вісник. – 2009. – Т. 13, № 2. – С. 69.-72.

РОЗДІЛ 7

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ

Основною мішенню для ендотоксинів в імунній системі є її клітини: природні кілери, В-лімфоцити, поліморфноядерні лейкоцити, епітеліальні та дендритні клітини. Під дією ендотоксинів відбувається швидка активація цих клітин, яка найчастіше виявляється зростанням їх ефекторного потенціалу і продукцією цитокінів. На відміну від адаптивної імунної системи, яка специфічно перебудовується під кожен антиген, що надходить до організму, система уродженого імунітету сфокусована на декількох висококонсервативних структурах мікроорганізмів. Ці структури отримали назву «патоген-асоційовані молекулярні патерни» або PAMP (patogen-associated molecular patterns), а відповідні їм рецептори уродженої імунної системи – «патернрозпізнавальних рецепторів» або PRR (pattern-recognition receptors). Найвідомішими PAMP є бактеріальний ліпополісахарид (грамнегативні бактерії), ліпoteйхоєві кислоти (грампозитивні бактерії), пептидоглікан (грамнегативні і грампозитивні бактерії) манани, бактеріальна ДНК, двоспіральна РНК (віруси) і глюкани (гриби). Незважаючи на значні хімічні відмінності цих речовин, усі PAMP мають загальні властивості: вони синтезуються тільки мікроорганізмами; їх синтез відсутній у клітинах макроорганізму. У зв'язку з цим розпізнавання PAMP будь-яким із PRR є сигналом про наявність в організмі інфекції. PAMP є найзагальнішими серед мікроорганізмів структурами, характерними для значних груп (цілих класів) патогенів. Зокрема, ендотоксин грампозитивної мікрофлори входить до складу клітинної стінки всіх грампозитивних бактерій, і його розпізнавання сигналізує про будь-який штам грампозитивної інфекції.

Рецептори, що розпізнають PAMP, за структурними характеристиками належать до декількох класів білкових молекул. За функцією PRR можна розділити на дві групи: ендцитозні та сигнальні.

Ендоцитозні PRR (манозні рецептори і рецептори-скевенджери) експресовані на поверхні професійних антиген-презентуючих клітин (фагоцитів). Після розпізнавання відповідного PAMP вони опосередковують поглинання і доставку до лізосом патогена, де надалі відбувається його руйнування з утворенням антигенних детермінант, які у комплексі з молекулами головного комплексу гістосумісності класу II (ГКГС) презентуються клітинам адаптивної імунної системи і запускають класичну імунну відповідь.

Серед сигнальних рецепторів центральне місце посідають так звані Toll-like (TLR) і NOD рецептори. У людини сімейство TLR на сьогодні нараховує 11 членів, 10 з яких розпізнають практично всі відомі PAMP грампозитивних і грамнегативних бактерій, вірусів і грибів.

Із 4 білків NOD-сімейства NOD1 і NOD2 належать до PRR. У якості PAMP для цих PRR виступають різні фрагменти пептидоглікану – основного компонента клітинної стінки всіх бактерій. NOD1 розпізнає діамінопімелат-вмісний мурамілтрипептид (GM-TriDap), а NOD2 – мінімальний біологічно активний фрагмент пептидоглікану – глюкозоамінілмурамілдипептид (ЕГПМ).

Зауважимо, що TLR-7, -8, -9 і обидва NOD рецептори локалізовані в цитоплазмі. Подібна локалізація та специфічність цих PRR свідчить про існування в клітинах системи ”контролю несанкціонованого прориву” будь-якого бактеріального патогена всередину клітини або виходу його з фаголізосоми.

Кінцевим результатом взаємодії сигнальних PRR з PAMP є індукція експресії великої кількості генів, зокрема, генів прозапальних цитокінів, яка опосередковується через активацію транскрипційного фактора NF-κB. Сигнал з TLR і NOD рецепторів ініціює синтез IL-1, -2, -6, -8, -12, фактора некрозу пухлин альфа, інтерферону гамма, гранулоцитарно-макрофагального колонієстимулювального фактора. Окрім цитокінів, мішенями для NF-κB служать гени молекул адгезії, гострофазних білків,

ферментів запалення (NO-синтази і циклооксигенази, молекул ГКГС тощо).

На рівні організму активація синтезу і секреції зазначених молекул призводить до розвитку запальної реакції з підключенням усіх систем захисту від патогенів. На клітинному рівні ефект реалізується в трьох напрямках. По-перше, відбувається активація самих фагоцитів і значне посилення їх ефекторного потенціалу (фагоцитоз, травна активність, продукція активних форм кисню). По-друге, антигенспецифічні клітини адаптивного імунітету переходять в активний стан і посилюють свої ефекторні функції. Зокрема, зрілі В-лімфоцити збільшують продукцію Ig і стають чутливішими до антигенної стимуляції, а Т-ефектори посилюють кілерні функції. По-третє, відбувається активація (праймінг) лімфоцитів і підготовка їх до початку адаптивної імунної відповіді.

В літературі існують дані щодо наслідків системного уведення ендотоксинів на експресію мРНК цитокінів у внутрішніх органах та сироватці крові [264, 227, 230]. Описані деякі взаємовідносини між вмістом про- та протизапальних цитокінів під впливом внутрішньовенного уведення ліпополісахариду грамнегативної мікрофлори, порушення за цих умов гемокоагуляції [210]. Однак до останнього часу немає однозначного трактування наслідків змін у сироватці крові вмісту цитокінів. Наприклад, TNF- α підвищується при низці захворювань, які не супроводжуються септичним шоком: системний червоний вовчак, пухлини, СНІД, хронічна серцева недостатність, грампозитивна бактеріємія, ревматоїдний артрит тощо. З іншого боку, при багатьох септичних процесах збільшення вмісту в крові TNF- α не відбувається, а в деяких здорових осіб його рівень у плазмі відповідає такому при септичному шокові [38]. Крім того, результат застосування анти-TNF- α -терапії в рандомізованому двофазному дослідженні сам по собі був своєрідним “шоком” для прихильників теорії провідної ролі TNF- α у механізмах шоків станів: смертність у пацієнтів, які отримували анти-TNF- α -рецептори, виявилася вищою, ніж у хворих,

яким призначали плацебо. Водночас, клінічні дослідження з агентами проти IL-1 β – рекомбінантним IL-1RA (рецепторний антагоніст IL-1) показало дозозалежне підвищення виживання хворих із септичним шоком на 22% [141]. Тому комплексне вивчення реакції цих та інших цитокінів на моделювання запальної реакції різного генезу може надати додаткову інформацію щодо їх ролі в патогенезі відповідних патологічних станів.

Однак комплексного дослідження локальних та системних маркерів запальної реакції при різних способах уведення ендотоксинів грамнегативної і грампозитивної мікрофлори та порівняльного аналізу їх ефектів ми не зустріли.

Враховуючи викладені факти, з метою вивчення перебігу запального процесу в тканинах ока, а також системних його проявів ми провели визначення локального та плазмового вмісту про- та протизапальних цитокінів, активності протео- та фібринолітичних процесів, інтенсивності процесів ліпопероксидації в склистому тілі та тканинах внутрішніх органів, гемокоагуляційного потенціалу.

За результатами нашого дослідження, у кролів із проникаючою травмою склери під впливом ендотоксину грамнегативної мікрофлори в склистому тілі різко зростає вміст прозапальних IL-1 β та TNF- α , що за відсутності змін із боку γ -INF супроводжується майже триразовим збільшенням кількості TGF- β 1. Інтравітреальне уведення ендотоксину грампозитивної мікрофлори при проникній травмі склери призводить до помірного підвищення вмісту в склистому тілі IL-1 β і TNF- α та значно збільшує рівень γ -INF на тлі сталого вмісту TGF- β 1. У кролів із проникаючою травмою склери через 24 год після поранення протеолітичний розпад низько- і високомолекулярних білків у склистому тілі залишається сталим, що відбувається на тлі зниження інтенсивності колагенолізу у 2,6 раза. Через 24 год після уведення в склисте тіло кролів із проникаючою травмою склери ендотоксину *Salmonella typhimurium* показники лізису азоальбуміну, азоказеїну і азоколу відповідають

контролю. Через 24 год після проникаючого поранення склери з інтравітреальним введенням ендотоксину грампозитивної мікрофлори інтенсивність протеолізу набуває максимальних величин: лізис низькомолекулярних білків зростає у 2,3 раза, високомолекулярних протеїнів – у 2,4 раза, колагену – у 2,5 раза. У кролів із проникаючою травмою склери в склистому тілі порушується структура тканинного фібринолізу: неферментативна фібринолітична активність втричі перевищує контрольні показники, тоді як інтенсивність ферментативного фібринолізу, навпаки, знижується майже на 40 %. Через 24 год після введення в склисте тіло кролів із проникаючою травмою склери ендотоксину *Salmonella typhimurium* достовірних змін інтенсивності та структури тканинного фібринолізу в *corpus vitreum* не відбувається.

Інтравітреальне введення ендотоксину грампозитивної мікрофлори призводить до зменшення неферментативної фібринолітичної активності на 33% відносно контролю і на 44 % – відносно показників у кролів, яким вводили ендотоксин *Salmonella typhimurium*. Ферментативний фібриноліз у тварин із проникаючою травмою склери, яким вводили ендотоксин грампозитивної мікрофлори, є на 76 % більшим, ніж у кролів, яким у склисте тіло вводили ендотоксин *Salmonella typhimurium*. Структура тканинного фібринолізу після введення в травмоване око ендотоксину грампозитивної мікрофлори наближається до контрольної.

Після системного введення ендотоксину грамнегативної мікрофлори у кролів значно зростає протеолітична активність у склистому тілі: лізис низько- і високомолекулярних білків перевищує контрольні показники через 24 год відповідно у 7,8 і 8,3 раза, через 72 год – у 10,7 і 10,4 раза. Колагенолітична активність у склистому тілі через 24 год після введення ендотоксину грамнегативної мікрофлори перевищує контрольні показники в 3,7 раза, однак надалі зменшується, набуваючи величин, нижчих за контроль: через 72 год – у 2,8 раза. Сумарна фібринолітична активність у склистому тілі через 24 год після введення ендотоксину грамнегативної

мікрофлори відповідає контрольним показникам, через 72 год – збільшується на 32 %. Неферментативна фібринолітична активність впродовж всього періоду спостереження перевищує контрольні величини: через 24 год – у 6 раз, через 72 год – у 9,3 раз. Ферментативна фібринолітична активність у склистому тілі, навпаки, значно зменшується: через 24 год – у 5,6 раз, через 72 год – у 8,8 раз. Упродовж всього експерименту в склистому тілі різко зростає інтенсивність пероксидного окиснення ліпідів, про що свідчить підвищення вмісту дієнових кон'югатів і малонового діальдегіду відповідно: через 24 год – у 5,9 і 6,4 раз, через 72 год – у 10,1 і 9,7 раз. Динаміка змін тканинного вмісту інтерлейкіну-2, інтерлейкіну-12, інтерферону- γ та фактора некрозу пухлин α у склистому тілі характеризуються різким підвищенням через 24 год та додатковим значним збільшенням через 72 год спостереження. Кількість у склистому тілі інтерлейкіну-4, інтерлейкіну-6, інтерлейкіну-10 і трансформувального фактора росту β_1 достовірних змін не зазнає.

Водночас у склистому тілі ока кролів, яким внутрішньовенно вводили ендотоксин грампозитивної мікрофлори, вже через 24 год значно зростала інтенсивність протеолітичної деструкції низько-, високомолекулярних білків і колагену. Неферментативна фібринолітична активність суттєво зростає, тоді як ферментативний фібриноліз, навпаки, різко зменшується, що призводить до порушення структури загального фібринолізу. Уміст дієнових кон'югатів та малонового альдегіду зазнає чотириразового збільшення. Кількість інтерлейкіну-2 у склистому тілі ураженого ока перевищує таку в псевдолікованих тварин відповідно у 3,1 раз, інтерлейкіну-12 – у 2 рази, інтерферону- γ – у 2,7 раз, фактора некрозу пухлин α – в 1,5 раз, інтерлейкіну-4 – в 1,6 раз. Уміст інтерлейкіну-6, інтерлейкіну-10 і трансформувального фактора росту β_1 не відрізняється від контрольних величин. Через 72 год після уведення ЕГПМ лізис азоальбуміну в склистому тілі є на 39 % вищим за відповідний показник у контрольних тварин, лізис азоказеїну – на 26 %, тоді як

колагенолітична активність відповідає контрольним величинам, так само, як інтенсивність локального фібринолізу. Рівень дієнових кон'югатів виявляється лише на 18 % більшим за контроль, вміст у склистому тілі малонового диальдегіду не відрізняється від контролю. Уміст інтерлейкіну-2, інтерлейкіну-12, інтерферону- γ та фактора некрозу пухлин α відповідає такому в контрольних кролів. Кількість інтерлейкіну-4 перевищує контрольні величини у 4 рази, інтерлейкіну-6 – у 5,5 рази, інтерлейкіну-10 – у 4,2 рази, трансформувального фактора росту $\beta 1$ – у 4,6 рази.

Проведений порівняльний аналіз змін інтенсивності протеолізу в склистому тілі виявляє підвищення з часом розбіжностей досліджуваних показників: якщо через 24 год лізис азоальбуміну та азоказеїну в кролів, яким вводили ендотоксин грампозитивної мікрофлори, є нижчим, ніж у тварин першої дослідної групи, відповідно на 34 і 44 %, то через 72 год інтенсивність протеолітичного розпаду низько- і високомолекулярних білків у другій дослідній групі виявляється нижчою відповідно у 4,3 і 7,9 рази. Водночас, лізис азоколу має іншу динаміку: через 24 год цей показник є на 37 % меншим у тварин, яким вводили ендотоксин грампозитивної мікрофлори, проте через 72 год колагенолітична активність у склистому тілі кролів другої дослідної групи в 10,6 рази перевищує таку у тварин, яким вводили ендотоксин грамнегативної мікрофлори. Упродовж всього періоду спостереження неферментативна фібринолітична активність у склистому тілі є значно меншою у кролів другої дослідної групи: через 24 год – на 38 %, через 72 год – у 8 разів. Навпаки, інтенсивність ферментативного фібринолізу у тварин, яким вводили ендотоксин грампозитивної мікрофлори, є більшою – відповідно у 2,3 і 8,1 рази. Інтенсивність пероксидного окиснення ліпідів виявляється значно меншою у кролів, які отримували ендотоксин грампозитивної мікрофлори: уміст дієнових кон'югатів у склистому тілі тварин другої дослідної групи через 24 год є нижчим за такий у тварин першої дослідної

групи на 40 %, через 72 год – у 8,9 раза, рівень малонового альдегіду є меншим відповідно строкам спостереження на 33 % та в 9,5 раза. Через 24 год вміст інтерлейкіну-2 у щурів досліджуваних груп достовірно не відрізняється, проте через 72 год зазначений показник виявляється в 6,4 раза меншим у тварин, яким вводили ендотоксин грампозитивної мікрофлори. Подібні результати порівняльного аналізу отримані й для динаміки показників вмісту в склистому тілі інтерлейкіну-12 та інтерферону- γ , які через 72 год є нижчими в кролів другої дослідної групи відповідно у 2,8 і 6,9 раза. Рівень фактора некрозу пухлин α через 24 год спостереження виявляється у 2,6 раза меншим у тварин другої дослідної групи. Через 72 год кількість фактора некрозу пухлин α у кролів, які отримували ендотоксин грампозитивної мікрофлори, є нижчою, ніж у тварин першої дослідної групи, у 7,3 раза. Уміст інтерлейкіну-4 на початку експерименту в досліджуваних групах тварин не відрізняється, однак через 72 год рівень цього цитокіну у тварин другої дослідної групи перевищує такий у кролів, яким вводили ендотоксин грамнегативної мікрофлори, у 3,5 раза. Кількість інтерлейкіну-6 через 24 год є практично однаковою, проте через 72 год рівень цього цитокіну в склистому тілі виявляється в 4,9 раза більшим у кролів, які отримували ендотоксин грампозитивної мікрофлори. Уміст інтерлейкіну-10 у склистому тілі тварин досліджуваних груп не відрізняється через 24 год спостереження, проте через 72 год зазначений показник є у 3,9 раза вищий у кролів, яким вводили ендотоксин грампозитивної мікрофлори. Подібна динаміка міжгрупових розбіжностей спостерігається в склистому тілі відносно трансформувального фактора росту β_1 , який через 72 год є у 3,2 раза більший у тварин другої дослідної групи.

Отримані дані узгоджуються з літературою: внутрішньоочеревинне уведення ендотоксину грамнегативної мікрофлори підвищує тканинну експресію мРНК TNF- α [44, 153, 239], збільшує накопичення TNF- α у печінці й селезінці та його рівень у сироватці крові [207, 247]. У плазмі

крові людей з множинними тяжкими травмами концентрація ІЛ-1 β залишається низькою, тоді як вивільнення TNF- α мононуклеарами крові, стимульованими ліпополісахаридом, зростає [227]. Водночас, внутрішньовенне уведення ліпополісахариду грамнегативної мікрофлори або живих бактерій *E.colli* значно підвищує рівень у крові обох прозапальних цитокінів – ІЛ-1 β та TNF- α , що супроводжується збільшенням сироваткового вмісту ІЛ-6 та ІЛ-8 [208,203].

За даними Wanders A. et al. [266], у разі системного уведення ендотоксину, у спленоцитах значно зростає утворення ІЛ-1 та ІЛ-6. Через 15 хв після внутрішньовенного уведення ліпополісахариду відбувається акумуляція, маргінація, дегрануляція і фрагментація поліморфноядерних лейкоцитів та активація лімфоцитів у легеневій мікроциркуляції й печінці [75,89,152] за послаблення експресії в останній індукцибельної NO-синтази [198]. Через 3 год спостерігається генералізоване порушення мікроциркуляції внаслідок підвищення судинної проникності [29, 55, 213]. Упродовж 2-5 год різко знижується середній артеріальний тиск, уповільнюється нирковий кровотік і збільшується концентрація креатиніну в плазмі крові [6]. Через 48 год у кишечнику визначається потоншення слизової оболонки, зниження висоти ворсинок і глибини крипт тонкої кишки [173]. Однак всі ці розрізнені факти не дозволяють створити цілісної уяви про стан гемокоагуляційного та фібринолітичного потенціалів крові, а також про порушення тканинних показників.

Отримані нами результати дослідження свідчать, що для раннього періоду (24 год) після уведення ендотоксину грампозитивної мікрофлори характерною є хронометрична гіперкоагуляція з активацією як зовнішнього, так і внутрішнього механізмів утворення протромбінази при значному скороченні тривалості фібриногенезу. Через 24 год після уведення ендотоксину грампозитивної мікрофлори гальмується протизгортальна активність крові, збільшується функціональна активність тромбоцитів та концентрація в крові фібриногену за активації систем

плазмового фібринолізу на тлі адекватного підвищення активності антиплазмінів, що супроводжується появою в крові розчинних комплексів мономерного фібрину. Крім того, через 24 год після уведення ендотоксину грампозитивної мікрофлори у тканинах селезінки, серця, легень, печінки та нирок розвиваються односпрямовані зміни фібринолізу, які характеризуються підвищенням сумарної фібринолітичної активності за рахунок збільшення інтенсивності як ферментативного, так і неферментативного фібринолізу. Поряд із цим, у легеневій, печінковій і нирковій тканинах відбувається переважно збільшення вискоєфективного ензиматичного лізису фібрину. Через 72 год після уведення ендотоксину грампозитивної мікрофлори відбувається хронометрична гіпокоагуляція, більш виражена з боку зовнішнього механізму згортання крові, що поєднується з уповільненням процесів фібриногенезу. При цьому зниження протизгортального потенціалу крові супроводжується різкою активацією тромбоцитарної ланки первинного гемостазу, глибокою депресією плазмового ферментативного фібринолізу, різким зниженням інтенсивності Хагеман-залежного фібринолізу і зменшенням потенційної активності плазміногену на тлі неадекватної активації антиплазмінів і накопичення в крові розчинних комплексів фібрин-мономера. Зміни тканинного фібринолізу в цей період характеризуються підвищенням неферментативної та зниженням ферментативної фібринолітичної активності в тканинах селезінки, серця, легень, печінки й нирок. Динаміка змін у системі коагуляційного і тромбоцитарно-судинного гемостазу вказує на те, що зі збільшенням тривалості експерименту хронометрична гіперкоагуляція змінюється хронометричною гіпокоагуляцією, тоді як функціональна активність тромбоцитів прогресивно зростає. Поєднання хронометричної гіпокоагуляції з підвищенням активності тромбоцитарної ланки первинного гемостазу, зниженням активності антитромбіну III та концентрації в плазмі крові фібриногену, різким пригніченням ферментативного фібринолізу та Хагеман-залежного лізису фібрину,

зниженням потенційної активності плазміногену і підвищенням вмісту в крові розчинних комплексів фібрин-мономера дозволяє дійти висновку про розвиток через 72 год після уведення ендотоксину грампозитивної мікрофлори дисемінованого внутрішньосудинного згортання крові. Внутрішньосудинна гемокоагуляція через 72 год після уведення ендотоксину грампозитивної мікрофлори поєднується з глибоким пригніченням ензиматичного лізису фібрину в тканинах життєво важливих органів – селезінки, серця, легень, печінки й нирок.

Відомо, що за системного уведення ендотоксину зростання вмісту в крові хемоатрактанту нейтрофілів асоціюється з негайним збільшенням сироваткової концентрації IL-6 [102, 134, 157]. Тобто, ланцюг генералізації запальної реакції можна уявити наступним чином. У разі надходження ендотоксину в системний кровотік активуються макрофагальні елементи селезінки, яка є першим органом на шляху системного розповсюдження ліпополісахариду, що має фіксовані тканинні макрофаги. Вивільнення з них IL-1 і викид останнього в порталний, а потім і в загальний кровотік, спричиняє активацію макрофагів, але водночас відбувається різке підсилення синтезу TNF- α та активація поліморфноядерних лейкоцитів, що й призводить до генералізації запальної реакції, а в разі надмірного надходження ендотоксину в кров – до шокowego стану [57, 59, 85, 189]. Відомо, що система поліморфноядерних лейкоцитів відіграє важливу роль у патогенезі септичного шоку [109]. Вже через 15 хв після внутрішньовенного уведення ендотоксину розвивається лейкопенія, яка супроводжується значним збільшенням вмісту в крові кінінів, гістаміну і серотоніну, а через 2 год – й активності лізосомальних ферментів [190]. Доведено, що поліморфноядерні лейкоцити ушкоджують клітини крові й судинний ендотелій як безпосередньо, так і через генерацію активних форм кисню і протеаз [263]. Їх активація при системній ендотоксинемії носить закономірний характер, оскільки гранулоцити є основною ендотоксинзв'язувальною популяцією клітин крові, які взаємодіють із

ліпополісахаридом через рецептори CD14. Початкова лейкопенія після уведення ендотоксину в системний кровотік змінюється лейкоцитозом, а потім – знову лейкопенією, що зумовлено загибеллю поліморфноядерних лейкоцитів, підвищенням їх міграції (у тому числі – в альвеолярний простір), а також секвестрацією в мікроциркуляторному руслі [85, 109].

Отже, інтенсифікація продукції кисневих радикалів є еквівалентом генералізації запального процесу в разі надходження грамнегативного ендотоксину в системний кровотік і підвищення утворення макрофагами та вмісту в крові IL-1 β .

Згідно з отриманими нами даними, за внутрішньоочного уведення ендотоксину інтенсивність ліпопероксидації зростає тільки в печінці, а в разі його уведення в системний кровообіг процеси пероксидного окиснення ліпідів активуються в тканинах серця, легень, селезінки й нирок. Зазначимо, що системна ендотоксинемія призводить до значного підвищення вмісту в крові прозапальних цитокінів, тоді як локальне надходження ліпополісахариду грамнегативної мікрофлори у склисте тіло приводить до збільшення тільки TNF- α і не впливає на сироваткову концентрацію IL-1 β . Варто звернути увагу на той факт, що після внутрішньовенного уведення ендотоксину відбувається активація систем генерації активних форм кисню як у нейтрофілах, так і в моноцитах, а в разі уведення ліпополісахариду в склисте тіло посилення процесів утворення кисневих радикалів спостерігається тільки в моноклеарних фагоцитах крові, тоді як функціональна активність моноцитів-макрофагів зростає в обох випадках. Зазначимо, що за уведення ліпополісахариду грамнегативної мікрофлори в склисте тіло та в яремну вену, зміни плазмового фібринолізу і протеолізу мають однакову спрямованість (зростають) і відрізняються лише інтенсивністю, яка значно вища в разі уведення ендотоксину в системний кровообіг.

Однак реакція фібрино- і протеолітичних систем тканин внутрішніх органів на різні шляхи уведення ендотоксину має принципові відмінності.

Основна роль при цьому належить печінці. За внутрішньоочного уведення ендотоксину в печінці значно зростають усі показники тканинного протеолізу і фібринолізу, тоді як за внутрішньовенного уведення ендотоксину останні залишаються без змін. Заслуговує на увагу різноспрямованість змін неферментативного фібринолізу в легенях – зниження в разі уведення ендотоксину в склисте тіло та підвищення за внутрішньовенного уведення ліпополісахариду грамнегативної мікрофлори. Крім того, у легенях у першому випадку зростає інтенсивність ферментативного фібринолізу і колагенолізу, а в другому – відбувається їх суттєве пригнічення.

Доведено, що TNF- α переважно продукується органами спланхнічного басейну, визначаючи інтенсивність локальної запальної реакції [15]. Заслуговує на увагу також факт чіткої часової послідовності синтезу цитокінів у разі бактеріальної інвазії: пікові концентрації TNF- α в плазмі крові досягаються через 1,5 год, IL-1 β – через 4 год, IL-6 – через 8 год, що узгоджується з результатами секреції цитокінів моноцитами у відповідь на ендотоксин *in vitro* [14]. Якщо при цьому врахувати, що моноцити периферичної крові і резидентні перитонеальні макрофаги [93, 167] не продукують IL-1 у відповідь на додавання ендотоксину *E.colli*, тоді як селезінкові макрофаги реагують значним збільшенням його продукції [45], а низька активність TNF- α є маркером інактивації моноцитів [154, 161, 214], можна з упевненістю стверджувати, що саме баланс двох прозапальних цитокінів – TNF- α та IL-1 β визначає локальність запального процесу або його генералізацію, тобто активацію моноцитів або нейтрофілів. Остання, як відомо, у випадку септичних станів призводить до змін у системі регуляції агрегатного стану крові і протеолізу [32, 33], що характеризуються інтраваскулярним фібриногенезом і “протеолітичним вибухом” за пригнічення фібринолітичної й антипротеолітичної активності крові [171, 218].

Оскільки прозапальні цитокіни володіють здатністю підсилювати

утворення один одного, зокрема IL-1 β активує синтез TNF- α і навпаки, а внутрішньовенне уведення ліпополісахариду значно збільшує кількість макрофагів у селезінці [130], можна вважати, що факт одночасного підвищення IL-1 β та TNF- α , отриманий нами за уведення ендотоксину в яремну вену, зумовлений саме цими особливостями їх взаємодії. Тобто в разі системної ендотоксинемії ізольованого збільшення прозапальних цитокінів вже не відбувається, навпаки, їх ефекти поєднуються і взаємопосилюються, що добре відомо з літературних джерел [114]. Імовірно це й було причиною переоцінки ролі TNF- α в механізмах розвитку септичного шоку, адже підвищення вмісту в крові IL-1 β закономірно супроводжується збільшенням рівня TNF- α [99, 140].

Аналізуючи отримані дані про зміни плазмового та тканинного фібринолізу і протеолізу, доцільно опиратися на відомості про вплив на ці процеси прозапальних цитокінів. Відомо, що TNF- α збільшує синтез інгібітора-1 активатора плазміногену та активує протеоліз [165, 166, 255], а IL-1 β є індуктором активності колагеназ [117, 259, 262, 265]. Очевидно, що встановлені зміни плазмового фібринолізу і протеолізу складаються з ефектів обох цитокінів, що відповідає даним літератури [118], тоді як на зміни фібринолітичної і протеолітичної активності у внутрішніх органах суттєво впливають особливості їх прямої реакції на ендотоксин.

Відомо, що ушкодження печінки під впливом ліпополісахариду грамнегативної мікрофлори опосередковується через CD14-залежну активацію макрофагів і клітин Купфера [9, 120, 131, 267] і супроводжується блокадою монооксигеназ цитохрому P₄₅₀ [41, 46], що сприяє рециркуляції ендотоксину з гіперпродукцією прозапальних цитокінів у системному кровотоку [48, 122]. Внутрішньоочеревенне уведення великих (30 мг/кг) доз ендотоксину E.colli призводить до різкого збільшення вмісту в печінці ліпопероксидів і мРНК синтази оксиду азоту [120], тоді як за внутрішньовенного уведення ліпополісахариду паралелізму змін активності амінотрансфераз у крові та експресії мРНК

індуцибельної NO-синтази в печінці не спостерігається [207].

Загалом, літературні дані свідчать, що гепатотоксичність ендотоксину значно зростає в разі його комбінованого уведення з іншими агентами, що здатні провокувати ушкодження гепатоцитів – естрогенами, D-галактозаміном, D-галактозаміном-HCl [194,195,200], особливо за одночасного впливу на печінку ліпополісахариду та IL-1 β , TNF- α . Із двох останніх TNF- α здатний функціонувати як комітоген та індукувати фактор ядерної транскрипції NF-kB, який володіє антиапоптозною дією, але в разі ендотоксинемії TNF- α виявляє властивості медіатора гепатотоксичності [138, 265]. Доведено, що активація NF-kB при цьому є ключовим внутрішньоклітинним чинником, що визначає реакцію гепатоцитів на дію TNF- α або у вигляді проліферації, або апоптозу [199, 263]. Крім того, при дослідженні впливу IL-1 β , IL-6 та TNF- α на енергообмін і синтез NO в культурі гепатоцитів встановлено, що перші два цитокіни, але не TNF- α , знижують внутрішньоклітинний пул АТФ і збільшують утворення лактату [210]. Тільки IL-1 β підвищував рівень кетонових тіл і суттєво стимулював утворення в гепатоцитах NO [204]. Показано, що уведення щурам рецепторного антагоніста IL-1 β за 5 хв до 90-хвилинної ішемії печінки значно зменшує морфологічні ознаки її ушкодження та у 2,5 раза збільшує виживання експериментальних тварин [235]. Отже, за гепатотоксичними ефектами IL-1 β значно перевищує ушкоджувальний вплив TNF- α на печінку.

На нашу думку, суттєвим є те, що активація ферментативного фібринолізу і колагенолітичної активності в склистому тілі відбувається тільки при уведенні ЕГПМ, тоді як при уведенні ліпополісахариду інтенсивність фібринолізу і колагенолізу в тканинах ока знижується. Відомо, що фіброзогенез відбувається в три стадії: гострого запалення, синтезу колагенового і неколагенового позаклітинного матриксу та формування рубцевої тканини, до складу якої входять колагени, глікопротеїди, протео- і глікозаміноглікани. На першій стадії ініціація

фіброзогенезу відбувається при ушкодженні тканин за мобілізації клітин запалення, тромбоцитів та вивільнення цитокінів і факторів росту [264]. Водночас відбувається деградація матриксу сполучної тканини, що реалізується через активацію металопротеїназ-інтерстиційної колагенази, нейтрофільної колагенази, колагенази 3, желатиназ А і В, стромелізинів 1 і 2 [126, 178, 225].

Таким чином, зменшення інтенсивності колагенолізу і фібринолізу в склистому тілі ока за уведення ліпополісахариду слід розцінювати як негативну реакцію, яка здатна призвести до фібротичних змін.

Відомо, що потужним гуморальним антиендотоксичним чинником є антитіла. Високою нейтралізуючою активністю володіють антитіла до О-ланцюгів ліпополісахариду, але більший афінитет мають імуноглобуліни проти глибоких детермінант ендотоксिनного R-кору ліпополісахариду, який в більшості грамнегативних бактерій є консервативним [30].

За нормальних умов організм ссавців має досить надійний захист проти ендотоксину грамнегативної мікрофлори. Однак, нерідко бар'єрні і нейтралізуючі функції системи захисту від ліпополісахариду порушуються, що призводить до розвитку системної ендотоксинемії та ушкодження системи імунного захисту в цілому. До таких клінічних ситуацій належать ураження слизової оболонки кишечника, уповільнення і шунтування (порто-кавальні анастомози) портального кровотоку, захворювання печінки, серця, нирок і легень [239]. Але найчастіше умови для надходження ліпополісахариду грамнегативної мікрофлори створюються за дисбактеріозів, коли в кишечнику збільшується загальна кількість мікроорганізмів та, що дуже важливо, грамнегативні бактерії починають розмножуватися в тонкій кишці, слизова якої легко проникна для ендотоксину [84]. Тому пошук способів корекції порушень функції органів і систем за дії ендотоксинів грамнегативної мікрофлори залишається актуальним.

За нашими даними, індометацин у дозі 0,5 мг на кг маси тіла у щурів, які отримували ендотоксин грампозитивної мікрофлори в дозі 0,5 мг на кг маси тіла, через 24 год сприяє нормалізації інтенсивності утворення протромбінового комплексу за внутрішнім механізмом згортання крові, проте мало впливає на інтенсивність тромбіногенезу за зовнішнім шляхом гемокоагуляції. Збереження високої швидкості фібриногенезу поєднується з підвищенням активності антитромбіну III й агрегаційної здатності тромбоцитів при нормалізації їх адгезивних властивостей на тлі зниження концентрації в крові фібриногену. Під впливом індометацину зменшується фібринолітична активність плазми крові, особливо неферментативний фібриноліз. Рівень швидкодіючих антиплазмінів підвищується при достатньо високій інтенсивності Хагеман-залежного лізису фібрину. Загальною закономірністю змін тканинного фібринолізу є значне підвищення ферментативної фібринолітичної активності за відсутності змін у тканині серця або зниженні в інтенсивності неензиматичного лізису фібрину тканини (селезінки, легень, печінки, нирок).

Через 72 год після уведення ендотоксин грампозитивної мікрофлори та індометацину відбувається нормалізація внутрішніх механізмів згортання крові і фібриногенезу, однак при цьому хронометрична гіпокоагуляція за зовнішнім шляхом утворення протромбінового комплексу змінюється скороченням періоду утворення активного тромбіну. Важливим ефектом індометацину є значне зростання активності антитромбіну III і різке зниження активності тромбоцитарної ланки первинного гемостазу. Крім того, індометацин сприяє підвищенню ферментативної фібринолітичної активності плазми крові, нормалізує інтенсивність Хагеман-залежного фібринолізу й потенційну активність плазміногену, знижує активність антиплазмінів та вміст у крові розчинних комплексів фібрин-мономера. Індометацин у тварин, яким вводили ендотоксин грампозитивної мікрофлори, спричиняє значне збільшення ферментативного фібринолізу та різко зменшує неферментативну

фібринолітичну активність у тканинах селезінки, серця, легень, печінки й нирок.

Уведення індометацину в дозі 2,5 мг на кг маси тіла тваринам, які отримували ендотоксин грампозитивної мікрофлори в дозі 1 мг на кг маси тіла 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, про що свідчить підвищення ферментативної фібринолітичної активності, нормалізація потенційної активності плазміногену, зменшення антиплазмінової активності крові та зниження плазмової концентрації розчинних комплексів фібрин-мономера. Під впливом індометацину в тканинах селезінки, серця, легень, печінки й нирок відбувається перебудова структури сумарної фібринолітичної активності, що супроводжується депресією неензиматичного фібринолізу з одночасним різким підвищенням ферментативного лізису фібрину.

Отже, за досліджуваними нами параметрами, розвиток та перебіг запального процесу в тканинах очного яблука – системна відповідь організму залежить від шляхів інфікування, та має індивідуальні прояви при уведенні ендотоксинів грамнегативної та грампозитивної мікрофлори, що безперечно, слід мати на увазі при обиранні засобів патогенетичної корекції цих змін.

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 обґрунтовано 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-1 β , TNF- α , TGF- β 1 у 7,0, 5,9, 2,8 рази 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 рази вмісту γ -INF, інтенсивності лізису низько-, високомолекулярних білків та колагену у 2,0, 2,1, 3,3 рази, 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 рази, знижується ферментативна фібринолітична активність у 5,6 рази. Через 72 год підвищується лізис низько- і високомолекулярних білків, неферментативна фібринолітична активність в 10,7, 10,4, 9,3 рази відповідно, знижується колагенолітична активність, ферментативна фібринолітична активність у 2,8 та 8,8 рази, вміст дієнових кон'югатів і малонового диальдегіду – відповідно в 10,1 і 9,7 рази. 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 маленового дидіальдегіду. Підвищення ІЛ-2, γ -INF, ІЛ-12, ІЛ-4, TNF- α становить 3,1, 2,7, 2,0, 1,6, 1,5 рази. 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%, ІЛ-6, TGF- β 1, ІЛ-4, ІЛ-10 – у 5,5, 4,6, 4,2 рази 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 моноклеарних 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 ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ЛІТЕРАТУРИ

1. Абрамов В.В. Принципы вегетативной регуляции функций иммунокомпетентных клеток: фундаментальное и прикладное значение / В.В. Абрамов, Т.Я. Абрамова // Успехи соврем. биол. – 2006 – Т.126, № 4. – С.379-387.
2. Активність системи фібринолізу хворих на стабільну стенокардію з ознаками запалення / [Паталах І.І., Лупай М.О., Гавриленко Т.І. та ін.] // Лаб. діагност. – 2007. – № 4. – С. 14-18.
3. Александрова Ю.Н. О сепсисе цитокинов / Ю.Н. Александрова // Педиатрия. – 2007. – Т. 86, №3. – С. 124-127.
4. Александрова Ю.Н. Роль системы цитокинов в патологии перинатального периода / Ю.Н. Александрова // Педиатрия. – 2007. – Т. 86, № 1. – С. 116-118.
5. Анохіна С.І. Вплив мелатоніну на гемостаз, плазмовий фібриноліз і фібринолітичну активність тканин внутрішніх органів білих щурів / С.І. Анохіна, Є.М. Горбань // Бук. мед. вісник. – 2002. – Т. 6, № 3–4. – С. 117-120.
6. Апробация новой тест-системы определения активности ингибитора плазмы у больных сепсисом / [Берковский А.Л., Сергеева Е.В., Суворов А.В. и др.] // Клини. лаб. диагност. – 2009. – № 2. – С. 44-45.
7. Афанасьева Г.А. Структура и биологические эффекты эндотоксинов грамотрицательных бактерий / Г.А. Афанасьева, Н.П. Чеснокова // Эпидемиол. и инфекц. болезни. – 2008. – № 5. – С. 61-63.
8. Белобородова Н.В. Хромато-масс-спектрометрическое определение низкомолекулярных ароматических соединений микробного происхождения в сыворотке крови больных сепсисом / Н.В. Белобородова // Клини. лаб. диагност. – 2006. – № 2. – С. 3-6.
9. Бельченко Д.И. Цитотоксическая активность клеток тромбоцитарной системы / Д.И. Бельченко // Иммунология. – 2001. – № 1. – С.55-57.

10. Бережнова И.А. Липиды и интерлейкины плазмы крови у геронтологических больных с ишемической болезнью сердца / И.А. Бережнова, Г.В. Коршунов // Клин. лаб. диагност. – 2009. – № 8. – С. 3-6.
11. Бойків А.В. Активність трансаміназ у сироватці крові підслідних груп тварин з адреналіновою міокардіопатією при різних типах запальної реакції. / А.В. Бойків. І.Р. Мисула. // Медична хімія. – 2007. – Т.9, № 2. – С. 38-41.
12. Бондаренко В.М. Определение эндотоксина грамотрицательных бактерий в крови человека / Бондаренко В.М., Лиходед В.Г., Яковлев М.Ю. // Ж. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. – 2002. – № 2. – С. 83-89.
13. Вазина И.Р. Внутрисосудистые морфологические проявления синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови в острой стадии ожоговой болезни / И.Р. Вазина, М.В. Преснякова // Вестн. хирургии им. И.И. Грекова. – 2005. – Т. 164, № 6. – С. 58- 61.
14. Васильева Г.И. Цитокины – общая система гомеостатической регуляции клеточных функций / Васильева Г.И., Иванова И.А., Тюкавкина С.Ю. // Цитология. – 2001. – Т. 43, № 12. – С. 1101-1111.
15. Вастьянов Р.С. Нейтропные эффекты цитокинов и факторов роста / Р.С. Вастьянов, А.А. Олейник // Успехи физиол. наук. – 2007. – Т. 38, № 1. – С.39-53.
16. Веремеенко К.Н. Белковые ингибиторы плазмы крови – регуляторы активности протеолитических ферментов / К.Н. Веремеенко // Системная энзимотерапия. Теоретические основы, опыт клинического применения. – К.: МОРИОН, 2000. – С.21-53.
17. Венгер Л.В. Гистологические особенности строения глазного яблока и придаточного аппарата глаза у крыс линии Вистар / Л.В.Венгер, В.А. Ульянов //Одеський медичний журнал. – 2009. – №1. – С.8-11.
18. Виговська Я.І. Сучасні погляди на патогенез дисемінованого внутрішньосудинного зсідання крові та дискутабельні питання

- лікувальної тактики у разі його гострих форм / Я.І. Виговська // Кровообіг та гемостаз. – 2007. – № 3. – С. 12-17.
19. Висоцька В.Г. Вплив солей важких металів на хроноритми фібринолізу та необмеженого протеолізу в тканинах нирок і печінки / В.Г. Висоцька // Бук. мед. вісник. – 2006. – Т. 10, № 4. – С. 23-26.
20. Витковский Ю.А. Влияние интерлейкина-1 на способность лимфоцитов выделять факторы, влияющие на адгезию и агрегацию тромбоцитов, свертывание крови и фибринолиз / Ю.А. Витковский, Б.И. Кузник // Рос. физиол. ж. им. И.М. Сеченова. – 2002. – Т. 88, №4. – С. 468-475.
21. Витковский Ю.А. Влияние интерлейкинов 1 бета, 2, 10 и 16 на взаимодействие лимфоцитарно-тромбоцитарных агрегатов с экстрацеллюлярным матриксом / Ю.А. Витковский // Иммунология. – 2006. – Т. 27, № 3. – С.141-143.
22. Влияние естественных и синтетических СРГ мотивов на бактерицидность, НК-литическую активность, индукцию интерлейкина-12 и интерлейкина-гамма *in vivo* / [Пак В.Г., Олиферук Н.С., Будихина А.С., Пинегин Б.В.] // Иммунология. – 2005. – Т. 26, № 6. – С. 332-335.
23. Влияние иммунных комплексов, выделенных из плазмы больных ревматоидным артритом, на секрецию противовоспалительных и противовоспалительных цитокинов клетками крови здоровых доноров / [Кузнецова С.А., Косицкая Л.С., Фрейдлин И.С., Тихомирова Е.И.] // Иммунология. – 2000. – № 4. – С. 48-53.
24. Влияние интерлейкинов-4 и 10 на систему гемостаза *in vitro* / [Витковский Ю.А., Кузник Б.И., Еделев Д.А., Солнов А.В.] // Иммунология. – 2001. – №1. – С. 43-46.
25. Влияние семакса на индометациновое язвообразование у крыс и один из возможных механизмов его действия / [Жукова А.С., Сергеев В.И., Самонина Г.Е., Мясоедов Н.Ф.] // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 2002. – Т. 133, № 6. – С. 665-667.

26. Влияние синтетических производных мурамилдипептида на течение стафилококковой инфекции у мышей / [Кравченко А.Н., Карпов В.А., Чирва В.Я. и др.] // Ж. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. – 2001. – № 3. – С. 50-53.
27. Волчегорский И.А. Индекс массы тела и содержание продуктов перекисного окисления липидов в крови как взаимосвязанные маркеры состояния нейтрофилов и уровня иммуноглобулинов/ Волчегорский И.А., Васильков А.Ю., Павлова В. Е. // Рос. физиол. ж. им. И.М. Сеченова. – 2003. – Т. 89, № 5. – С. 551-555.
28. Воробьева Н.А. Роль генетических полиморфизмов системы гемостаза в формировании полиорганной недостаточности при остром ДВС-синдроме / Н.А. Воробьева, С.И. Капустин // Анестезиол. и реаниматол. – 2007. – № 2. – С. 52-55.
29. Воскобой И.В. Влияние антиагрегатов на концентрацию цитокинов плазмы крови у больных коронарным синдромом / И.В. Воскобой, А.П. Ребров // Клин. мед. – 2003. – Т. 81, № 6. – С. 23-27.
30. Вплив тіотриазоліну на гепато- та гастротоксичність індометацину при хронічному введенні щурам / [Подплетня О.А., Кучеренко Л.І., Мамчур В.Й., Левих А.Є.] // Експерим. та клін. фізіол. і біохімія. – 2008. – № 3. – С. 7-12.
31. Галкин А.А. Роль Ca^{2+} в регуляции функций нейтрофилов / А.А. Галкин, В.С. Демидова // Успехи соврем. биол. – 2007. – Т. 127, № 1. – С. 58-72.
32. Герасимов И.Г. Свертывание крови активирует нейтрофилы к респираторному взрыву / И.Г. Герасимов, Д.Ю. Игнатов // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 2005. – Т. 139, № 7. – С. 88-90.
33. Герасимов И.Г. Функциональная неоднородность нейтрофилов/ И.Г. Герасимов // Клин. лаб. диагност. – 2006. – № 2. – С. 34-36.
34. Гильманов А.Ж. Диссеминированное внутрисосудистое свертывание крови / А.Ж. Гильманов, М.М. Фазлыев // Клин. лаб. диагност. – 2004. – № 4. – С. 25-32.

35. Гістоморфологічна характеристика розвитку системної запальної реакції та абдонінального сепсису/[Кулачек Ф.Г., Карлійчук О.А., Сидорчук Р.І. та ін.] // Клін. анатом. та операт. хірургія. – 2004. – Т. 3, № 1. – С. 32-39.
36. Гороховский В.Н. Влияние различных доз цитрата кальция на протеолиз в костной ткани крыс при фторидной интоксикации / В.Н. Гороховский // Вісн. стоматол. –2006. –№ 2. – С. 3-5.
37. Гоц Т.Ю. Вплив цитокінів та дексаметазону на альвеолярні макрофаги людини / Т.Ю. Гоц // Лаб. діагност. – 2001. – № 1. – С. 15-18.
38. Гринберг Л.М. Сепсис и теория системной воспалительной реакции: попытка клинико-морфологического консенсуса / Л.М. Гринберг // Арх. патол. –2007. –Т. 69, № 4. – С. 56-59.
39. Детекция эндотоксинов грамотрицательных бактерий по спектру частот электромагнитных излучений / [Лиходед В.Г., Кулешова Н.В., Сергиева Н.В. и др.] // Ж. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. –2007. –№ 3. – С. 3-6.
40. Динамічна система дослідження фібринолізу / [Андріанова К.С., Вартанов В.Г., Сломінський О.Ю. та ін.] // Лаб. діагност. –2008. – № 4. – С. 39–43.
41. Долгушин И.И. Роль нейтрофилов в регуляции антимикробной резистентности / И.И. Долгушин // Вестн. Рос. акад. мед. наук. –2002. – № 3. – С. 16-20.
42. Експериментальне обґрунтування можливості підвищення ефективності та безпечності індометацину / [Мамчур В.Й., Подплетня О.А., Мазур І.А. та ін.] // Клін. фармація. – 2008. – Т. 12, № 2. –С. 61-65.
43. Елаева Н.Л. Влияние экотоксикантов на нуклеазную активность крови/ Н.Л. Елаева, Е.В. Семенов // Токсикол. вестн. – 2005. – № 1. – С. 27-32.
44. Ермакова Н.А. Характер изменений местной и общей фибринолитической активности у больных ангиитами сетчатки

- различного генеза/ Н.А. Ермакова // Вестн. офтальмол. – 2005. –Т.121, № 3. –С.9-11.
45. Ершов Ф.И. Цитокины – новое поколение биотерапевтических препаратов / Ф.И. Ершов // Вестн. Рос. акад. мед. наук. –2006. – № 9–10. –С. 45-50.
46. Еськов А.П. Механизм повреждающего действия бактериального эндотоксина / Еськов А.П., Каюмов Р.И., Соколов А.Е. // Эфферент. терапия. – 2003. – Т. 9, № 2. – С. 71-74.
47. Жестков А.В. Особенности секреции цитокинов при хроническом ДВС-синдроме у беременных / А.В. Жестков, С.Л. Златогорская // Мед. иммунол. – 2007. – Т. 9, № 6. – С. 613-620.
48. Заболотских И.Б. Синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови: диагностика и интенсивная терапия/ Заболотских И.Б., Синьков С.В., Аверьянова Л.Е. // Анестезиол. и реаниматол. – 2007. – № 2. – С. 71-76.
49. Івасюк Л.В. Вплив ендотоксинів грамнегативної і грампозитивної мікрофлори на інтенсивність фібринолізу у склистому тілі ока кролів з проникним пораненням склери / Л.В Івасюк, Я.І. Пенішкевич // Клінічна та експериментальна патологія. – 2008. –№3. – С. 56-60.
50. Івасюк Л.В. Вплив ендотоксинів грамнегативної і грампозитивної мікрофлори на інтенсивність протеолізу в склистому тілі ока кроликів з проникним пораненням склери/Л.В.Івасюк, Я.І.Пенішкевич// Буковинський медичний вісник. – 2009. – Т. 13, № 2. – С. 69.-72.
51. Кавецький Р. Є. Компоненти протеолізу – складова молекулярної діагностики і терапії / Р.Є. Кавецький, В.Ф. Чехун // Ж. Акад. мед. наук України. – 2004. – Т. 10, № 2. – С. 273-276.
52. Каратєєва С.Ю. Вплив озонотерапії на систему регуляції агрегатного стану крові в старих щурів з алоксановим цукровим діабетом та гнійно-септичними ускладненнями/С.Ю. Каратєєва// Клін. та експерим. патол. – 2006. – Т. V, № 2. – С. 33-39.

53. Кебкало А.Б. Синдром дисемінованого внутрішньосудинного згортання крові в динаміці експериментального панкреонекрозу / А.Б. Кебкало // Клін. та експерим. патол. – 2006. –Т. V, № 2. – С. 40-45.
54. Килесса В.В. Роль нейтрофильных гранулоцитов в развитии системной гиперкоагуляции и фибринолиза / В.В. Килесса // Таврич. мед.-биол. вестн. – 2003. –Т. 6, № 1. – С. 69-72.
55. Кирсанова А.К. Механизмы нарушения функций эндотелия сосудов при септических состояниях / А.К. Кирсанова // Анестезиол. и реаниматол. – 2003. – № 6. – С. 72-75.
56. Кишечный эндотоксин в патогенезе воспалительной патологии глаз и антиэндотоксиновая составляющая ее лечения / [Вышегуров Я.Х., Аниховская И.А., Батманов Ю.Е., Яковлев М.Ю.] // Патол. физиол. и эксперим. терапия. – 2007. –№ 1. – С. 12-14.
57. Кишкан І.Г. Вплив ксантинолу нікотинату на стан тканинного фібринолізу у щурів / І.Г. Кишкан // Бук. мед. вісник. –2000. –Т. 4, № 4. – С.154-157.
58. Ковальчук Л.В. Хемокины – новое семейство цитокинов, регулирующих миграцию лейкоцитов. Обзор / Л.В. Ковальчук, Р.Т. Сайгитов // Ж. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. – 2000. – № 1. –С.90-94.
59. Козлов В.Д. Гранулоцитарный колониестимулирующий фактор: физиологическая активность, патофизиологические и терапевтические проблемы / В.Д. Козлов // Цитокины и воспаление. – 2004. – Т. 3, № 2. – С. 3-15.
60. Козлов В.К. Сепсис: иммунопатогенез тяжелого сепсиса / В.К. Козлов // Клін. імунологія. Алергологія. Інфектологія. – 2009. – № 3. – С. 6-13.
61. Комплексна лабораторна діагностика порушень системи гемостазу при гіпокоагуляційному синдромі / [Суховій М.В., Деєв В.А., Вознюк В.П. та ін.] // Лаб. діагност. – 2002. – № 2. – С. 8-10.

62. Конев Ю.В. Метаболизм эндотоксина в организме и его роль в процессе инволюции / Ю.В. Конев, Л.Б. Лазерник // Клин. геронтол. – 2009. – Т. 15, № 1. – С. 39-46.
63. Кононенко Н.М. Дестабілізація ліпідних структур еритроцитів при згортанні крові / Н.М. Кононенко // Клін. та експерим. патол. – 2008. – Т. 7, №2. – С. 48-50.
64. Кононенко Н.М. Механізм включення тромбопластинного фактора еритроцитів у процес тромбопластинутворення / Н.М. Кононенко // Експерим. і клін. мед. – 2008. – № 1. – С. 25-28.
65. Краснобрижа Є.М. Фібринолітичний потенціал плазми крові / Є.М. Краснобрижа // Мед. хімія. – 2004. – Т. 6, № 2. – С. 30-34.
66. Крылов А.А. Диссеминированное внутрисосудистое свертывание крови – актуальная междисциплинарная проблема / А.А. Крылов, Б.М. Тайц // Новые Санкт-Петербургские врачебные ведомости. – 2003. – № 3. – С.21-23.
67. Кузнецов А.Я. Синдром системної відповіді на запалення в діагностиці хірургічного сепсису та його впровадження в клінічну практику / А.Я. Кузнецов // Клін. хірургія. – 2002. – № 4. – С. 52-54.
68. Кузьміна Г.П. Зміни згортання системи крові у хворих на ревматичний васкуліт з ураженням судин / Г.П. Кузьміна // Укр. ревматол. ж. – 2002. – № 4. – С. 44-47.
69. 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. – Одеса, 1996. – 37 с.
70. Лиходед В.Г. Роль эндотоксина грамотрицательных бактерий в патогенезе атеросклероза / В.Г. Лиходед, М.Ю. Яковлев // Ж. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. – 2001. – № 6. – С.105-109.
71. Любинський В.Л. Агрегатное состояние крови и значение его нарушений при кровотечениях портального генеза / В.Л. Любинський,

- Г.Н. Андреева // Вестн. хирургии им. И.И. Грекова. – 2005. – Т. 164, №3. – С. 65-69.
72. Лященко А.А. Цитокины и молекулярные основы заболеваний старческого возраста / А.А. Лященко // Клин. геронтол. – 2003. – Т. 9, № 3. – С. 45-54.
73. Марченко В.И. Нейротрофические факторы: характеристика и предполагаемые области медицинского применения / В.И. Марченко // Иммунология. – 2005. – Т. 26, № 6. – С. 338-342.
74. Маркова О.О. Профілактика стресіндукованих порушень мітотичної активності гепатоцитів у нащадків опромінених щурів / О.О. Маркова, В.О.Ульянов //Світ медицини та біології. – 2007. – №4. – С.18-21.
75. Маркова О.О. Профілактика стресіндукованих порушень енергетичного обміну в печінці щурів, отриманих від опромінених попередників / О.О. Маркова, В.О.Ульянов //Одеський медичний журнал. – 2008. – №1. – С.13-16.
76. Маслякова Г.Н. Сушность и значение ДВС-синдрома при остром перитоните / Г.Н. Маслякова // Хирургия. – 2002. – № 1. – С. 21-23.
77. Маянский Н.А. Внутренний путь апоптоза нейтрофилов и механизмы антиапоптозного эффекта гранулоцитарного кролониестимулирующего фактора / Н.А. Маянский // Иммунология. – 2004. – Т. 25, № 6. – С. 329-339.
78. Мельник О.О. Скринінгові методи дослідження системи гемостазу/ О.О. Мельник // Лаб. діагност. – 2002. – № 2. – С. 40-45.
79. Мешков М.В. Кишечный эндотоксин в регуляции активности системы гемостаза и патогенезе ДВС-синдрома /М.В. Мешков// Физиол. человека. – 2005. – Т. 31, № 6. – С. 91-96.
80. Миграционная активность *in vitro* нейтрофилов периферической крови человека в норме и при иммунопатологии / [Козлов И.Г., Сайгитов Р.Т.,

- Митяева С.А. и др.] // Ж. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. – 2002. – № 4. – С. 43-47.
81. Мищенко А.Л. Клинико-лабораторная диагностика синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови / А.Л. Мищенко, А.Д. Макацария // Вестн. Рос. ассоц. акушеров-гинекологов. – 2000. – № 3. – С. 101-106.
82. Монастирський В.А. Коагулологічні аспекти патогенезу загальнопатологічних процесів / В.А. Монастирський // Ж. Акад. мед. наук України. – 2002. – Т. 8, № 2. – С. 238-258.
83. Моянский А.Н. НАДФН-оксидаза нейтрофилов: активация и регуляция / А.Н. Моянский // Цитокины и воспаление. – 2007. – Т. 6, № 3. – С. 3-13.
84. Мухаметов А.Э. Селективные ингибиторы циклооксигеназы-2 на основе индометацина / Мухаметов А.Э., Хайруллина В.Р., Гаррифуллина Г.А. // Вопр. биол., мед. и фармац. химии. – 2006. – № 4. – С.28-32.
85. Мюльберг А.А. Цитокины как медиаторы нейроиммунных взаимодействий / А.А. Мюльберг // Успехи физиол. наук. – 2006. – Т. 37, № 1. – С. 18-27.
86. О патогенетической взаимосвязи патоморфологических нарушений и активации процессов липопероксидации при эндотоксикозе / [Афанасьева Г.А., Чеснокова Н.П., Маслякова Г.Н., Хоркин Ю.Ф.] // Патол. физиол. и эксперим. терапия. – 2009. – №1. – С. 25-28.
87. Опарина О.Н. Влияние эндотоксина грамотрицательной кишечной микрофлоры на процесс адаптации к физической нагрузке / О.Н. Опарина // Патол. физиол. и эксперим. терапия. – 2004. – № 4. – С.1-18.
88. Пенішкевич Я.І. Зміни фібринолізу у кроликів з проникаючою травмою рогівки, ускладненою гіфемою: вплив простагландинів та інгібіторів їх синтезу / Я.І. Пенішкевич // Офтальмол. ж. – 2002. – №3. – С.44-48.
89. Перепелиця М.П. Особливості імунних і метаболічних зрушень у дорослих і старих щурів за розвитку адренергічного ушкодження

- печінки / М.П. Перепелиця, І.Р.Мисула // Вісник наукових досліджень. – 2007. – № 1. – С. 105-108.
90. Пинегин Б.В. Нейтрофилы: структура и функция / Б.В. Пинегин, А.Н. Маянский // Иммунология. – 2007. – Т. 28, № 6. – С. 374-382.
91. Пичугина Л.В. Внутриклеточные цитокины: проблемы детекции и клиническое значение / Л.В. Пичугина, Б.В. Пинегин // Иммунология. – 2008. – Т.29, № 1. – С. 55-63.
92. 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. 6, № 1. – С. 80-83.
93. Плескова С.Н. Исследование морфологии и ригидности мембран нейтрофильных гранулоцитов в режиме реального времени методом сканирующей зондовой микроскопии / С.Н. Плескова, Ю.Ю.Гущина // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 2006. – Т.141, № 6. – С.712-714.
94. Потапнев М.П. Апоптоз клеток иммунной системы и его регуляция цитокинами / М.П. Потапнев // Иммунология. – 2002. – Т. 23, № 4. – С. 237-243.
95. Преферанская Н.Г. Лекарственные средства на основе цитокинов / Н.Г. Преферанская // Рос. мед. ж. – 2008. – № 1. – С. 35-38.
96. Притуло О.А. Влияние эндотоксина грамотрицательной кишечной палочки на функциональные свойства микро- и макрофагов в норме и при акантолитической пузырчатке / О.А. Притуло // Укр. ж. дерматол., венерол., косметол. – 2002. – № 4. – С. 10-12.
97. Применение нестероидных противовоспалительных препаратов. Клинические рекомендации. / [Каратеев А.Е., Яхно Н.Н., Лазебник Л.Б. и др.]. – Москва, ИМА–ПРЕСС. – 2009. – 167 с.
98. Проблемні питання етіології та патогенезу сепсису / [Процайло М.Я., Орел М.М., Орел Ю.М. та ін.] // Шпитальна хірургія. – 2005. – № 4. – С. 118-121.

99. Радченко В.В. Вплив ембріональних плюрипотентних прогеніторних клітин на інтенсивність протеолізу в тканинах аорти старих щурів / В.В. Радченко, О.Л. Кухарчук // Мед. хімія. – 2003. – Т.5, № 4. – С. 11-15.
100. Риск тромбогеморрагических осложнений в эндоскопической гинекологии / [Горин В.С., Серова О.Ф., Кондранина Т.Г. и др.] // Акуш. и гинекол. в 2004. – № 5. – С. 11-12.
101. Роль ейкозаноидов в регуляции фагоцитарной функции макрофагов фактором активации тромбоцитов при эндотоксиновом шоке / [Зайцева Л.Г., Вайсбурд М.Ю., Шапошникова Г.М., Мысякин Н.Б.] // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 2000. – Т.130, № 9. – С. 309-312.
102. Роль фактора подавления миграции макрофагов в формировании системного воспалительного ответа и развития сепсиса / [Суслов А.П., Коноплева М.В., Третьяков О.Ю., Кожушный А.Н.] // Ж. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. – 2008. – № 5. – С. 15-22.
103. Ротанова Т.В. Энергозависимый селективный внутриклеточный протеолиз. Строение, активные центры и специфичность АТР-зависимых протеиназ / Т.В. Ротанова // Вопр. мед. химии. – 2001. – Т. 47, вып. 1. – С. 3-19.
104. Рябиченко Е.В. Роль кишечной бактериальной аутофлоры и ее эндотоксина в патологии человека / Е.В. Рябиченко, В.М. Бондаренко // Ж. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. – 2007. – № 3. – С.103-111.
105. Савушкин А.В. Фибриновые сгустки как гидравлическая преграда / А.В. Савушкин // Гематол. и трансфузиол. – 2006. – Т. 51, № 5. – С. 26-30.
106. Саєвич Л. Антитромбін III – найважливіший природний інгібітор системи зсідання / Л. Саєвич // Лаб. діагност. – 2002. – № 2. – С. 59-61.
107. Самохин А.А. Роль карбоксипептидазы В в регуляции фибринолиза / А.А. Самохин, С.А. Кудинов // Укр. біохім. ж. – 2005. –Т. 77, № 6. – С. 8-15.

108. Семеняка В.І. Новий розрахунковий індекс для оцінки показників протромбінового часу та активного парціального тромбопластинового часу / В.І. Семеняка // Лаб. діагност. – 2004. – № 3. – С. 52-57.
109. Сидорчук Р.І. Динаміка змін видового складу та популяційного рівня мікрофлори вмісту порожнини товстої кишки при експериментальному абдомінальному сепсисі / Р.І. Сидорчук // Укр. мед. альманах. – 2004. – Т. 7, № 4. – С. 153-156.
110. Система цитокинов у больных хронічними диффузними захворюваннями печени / [Ивашкин В.Т., Мамаев С.Н., Лукина А.А. и др.] // Иммунология. – 2000. – № 1. – С.46-49.
111. Созинов А.С. Возможность участия эндотоксина грамотрицательных бактерий в патогенезе повреждения печени при вирусных гепатитах / А.С. Созинов // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 2002. – Т. 133, № 3. – С. 327-330.
112. Степанчук В.В. Хроноритми тканинного фібринолізу і необмеженого протеолізу у тканинах печінки білих щурів на тлі змін фаз циклу місяця / В.В. Степанчук // Бук. мед. вісник. – 2007. – Т. 11, № 4. – С.122-123.
113. Степанюк Н.Г. Порівняльний вплив деяких лікарських засобів на ульцерогенну дію індометацину в експерименті / Н.Г. Степанюк // Ліки. – 2001. – № 3–4. – С.92-95.
114. Стимуляция резистентности мышей к бактериальной инфекции гликозидами мурамилдипептида / [Калюжин О.В., Калина Н.Г., Баштаненко А.Ф. и др.] // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 2003. – Т. 135, №5. – С. 531-535.
115. Субботина Т.Ф. Сорбция плазминогена на фибрине как одно из условий эффективного фибринолиза / Т.Ф. Субботина // Вопр. биол., мед. и фармац. химии. – 2006. – № 1. – С. 24-28.
116. Сусла О.В. Особливості судинно-тромбоцитарного і коагуляційного гемостазу в осіб із кальцинозом клапанів серця, які знаходяться на

- хронічному гемодіалізі./ Сусла О.В., Мисула І.Р., А.І. Гоженко// Буковинський медичний вісник. – 2009. – Т.13, № 3. – С. 89-91.
117. Суточная динамика спектра цитокинов, продуцируемых иммунокомпетентными клетками интактных мышей [Ковшик И.Г., Шурлыгина А.В., Сенников С.В. и др.] // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 2007. – Т. 144, № 10. – С. 448-451.
118. Сучасні методи експериментальних та клінічних досліджень центральної науково-дослідної лабораторії Буковинської державної медичної академії /В.М. Магальяс, А.О. Міхєєв, Ю.Є. Роговий та ін. – Чернівці, 2001. – 42 с.
119. Тимошевский А.А. Реакции лейкоцитов человека на парентеральное введение интерлейкина-1 бета и последующее облучение проб периферической крови *in vitro* / А.А. Тимошевский, А.Н. Гребенюк // Мед. радиол. и радиац. безопасность. – 2005. – Т. 40, № 2. – С. 5-17.
120. Типы химического реагирования здоровых добровольцев на острую фармакологическую пробу с индометацином / Зиганшина Л.А., Титаренко А.С., Валеева Ф.Г., Зиганшин А.Р. // Эксперим. и клин. фармакол. – 2003. – Т. 66, № 5. – С. 30-34.
121. Тумкина М.Е. Альтернативный сплайсинг гена TLR4 в миелоидных клетках при воздействии эндотоксином / М.Е. Тумкина // Молек. мед. – 2003. – № 3. – С. 49-54.
122. Фьоклін В.О. Корекція порушень фібринолітичної функції легень у дітей, хворих на пневмонію, яка ускладнена бронхообструктивним синдромом / В.О. Фьоклін, О.В. Шарікадзе // Гал. лікар. вісник. – 2007. – Т. 14, № 3. – С. 74-76.
123. Хавинсон В.Х. Влияние тималина на иммунитет и содержание провоспалительных и противовоспалительных цитокинов при переломах длинных трубчатых костей, осложненных остеомиелитом/ В.Х. Хавинсон, Ю.А. Витковский, Б.И. Кузник и др. // Иммунология. – 2001. – № 1. – С. 22-25.

124. Хаитов Р.М. Физиологические особенности активации и торможения функций клеток иммунной системы. Рецепторные структуры и внутриклеточные сигнальные пути макрофагов и естественных клеток киллеров / Р.М. Хаитов, В.М. Манько // Рос. физиол. ж. им. И.М. Сеченова. – 2006. – Т.92, № 6. – С.662-676.
125. Цитокиновый баланс в патогенезе системного воспалительного ответа: новая мишень иммунотерапевтических воздействий при лечении сепсиса/[Черных Е.Р., Леплина О.Ю., Тихонова М.А. и др.] // Мед. иммунол. – 2001. – Т.3, № 3. – С. 415-429.
126. Шаплавський М.В. Оптичні методи дослідження згортання крові/ М.В. Шаплавський // Бук. мед. вісник. – 2004. – Т. 8, № 4. – С. 168-174.
127. Шарипов А.М. Дифференциально-диагностическая ценность определения эндотоксинемии при острой и хронической почечной недостаточности у детей / А.М. Шарипов, З.С. Умарова // Рос. педиатр. ж. – 2000. – № 2. – С. 10-13.
128. Шахбазов Ш.Г. Изменения основных показателей свертывания системы крови у беременных при возникновении тромболитических осложнений / Ш.Г. Шахбазов // Клін. хірургія. – 2009. – № 4. – С. 47-50.
129. Шварц Я.Ш. Аккумуляция комплексов эндотоксин-липопротеины низкой плотности макрофагами и артериальной стенкой в моделях *in vitro* / Я.Ш. Шварц, М.И. Душкин // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 2009. – Т.147, №2. – С.148-151.
130. Швець В.І. Кореляційні зв'язки в системах регуляції водно-солевого обміну і агрегатного стану крові в білих щурів: вплив ангіотензину II / В.І. Швець // Клін. та експерим. патол. – 2006. – Т.V, № 2. – С. 90-96.
131. Щеголев А.И. Нарушения структурно-метаболической организации ацинусов печени при системной эндотоксинемии / А.И. Щеголев // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 2000. – № 9. – С.309-312.

132. Юкало В.Г. Утворення казокінів у модельному протеолізі альфа s1-казеїну / В.Г. Юкало // Мед. хімія. – 2004. – Т. 6, № 1. – С. 92-95.
133. Ященко О.Б. Особливості показників фібринолітичної активності у новонароджених дітей при синдромі гострого пошкодження легень // О.Б. Ященко // Гал. лікар. вісник. – 2004. – Т. 11, ч. 4. – С. 87-88.
134. A diplotype in the lymphotoxin alpha gene is associated with differential expression of LTA mRNA induced by Gram-positive and Gram-negative bacteria / [Temple S.E., Almeida C.M., Cheong K.Y. et. al.] // Int J Immunogenet. – 2007. – Vol. 34, N 3. – P. 157-160.
135. A human IL10 BAC transgene reveals tissue-specific control of IL-10 expression and alters disease outcome / [Ranatunga D., Hedrich C.M., Wang F. et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2009. – Vol. 106, N 40. – P. 17123-17128.
136. Analysis of plasma serotonin levels and hemodynamic responses following chronic serotonin infusion in broilers challenged with bacterial lipopolysaccharide and microparticles / Chapman M.E., Taylor R.L., Wideman R.F. // Jr. Poult Sci. – 2008. – Vol. 87, N 1. – P. 116-124.
137. Antiinflammatory effect of lactic acid bacteria: inhibition of cyclooxygenase-2 by suppressing nuclear factor-kappaB in Raw264.7 macrophage cells / [Lee J.M., Hwang K.T., Jun W.J. et. al.] // J. Microbiol Biotechnol. – 2008. – Vol. 18, N 10. – P. 1683-1688.
138. A probiotic strain of *Lactobacillus plantarum* stimulates lymphocyte responses in immunologically intact and immunocompromised mice / [Bujalance C., Moreno E., Jimenez-Valera M., Ruiz-Bravo A.] // Int J Food Microbiol. – 2007. – Vol. 113, N 1. – P. 28-34.
139. Assorted effects of TGFbeta and chondroitinsulfate on p38 and ERK1/2 activation levels in human articular chondrocytes stimulated with LPS / [Holzmann J., Brandl N., Zemann A. et. al.] // Osteoarthritis Cartilage. – 2006. – Vol.14, N 6. – P. 519-525.

140. Associations between tumor necrosis factor-alpha and lymphotoxin-alpha polymorphisms and idiopathic recurrent miscarriage / [Zammiti W., Mtiraoui N., Khairi H. et. al.] // *Reproduction*. – 2008. – Vol. 135, N 3. – P. 397-403.
141. A structural perspective on the interaction between lipopolysaccharide and factor C, a receptor involved in recognition of Gram-negative bacteria / Koshiha T., Hashii T., Kawabata S. // *J. Biol Chem*. – 2007. – Vol. 282, N 6. – P. 3962-3967.
142. Agonists of toll-like receptor (TLR)2 and TLR4 are unable to modulate platelet activation by adenosine diphosphate and platelet activating factor / [Ward J.R., Bingle L., Judge H.M. et. al.] // *J.Thromb Haemost*. – 2005. – Vol. 94, N 4. – P. 831-839.
143. An infrared reflection-absorption spectroscopic (IRRAS) study of the interaction of lipid A and lipopolysaccharide Re with endotoxin-binding proteins / [Kerth A., Garidel P., Howe J. et al.] // *Med. Chem*. –2009. – Vol. 5, N 6. – P. 535-542.
144. Artemisolide is a typical inhibitor of IkappaB kinase beta targeting cysteine179 residue and down-regulates NF-kappaB-dependent TNF-alpha expression in LPS-activated macrophages / [Kim B.H., Lee J.Y., Seo J.H. et. al.] // *Biochem Biophys Res Commun*. – 2007. – Vol. 361, N 3. – P. 593-598.
145. Aqueous extracts of *Cimicifuga racemosa* and phenolcarboxylic constituents inhibit production of proinflammatory cytokines in LPS-stimulated human whole blood / [Schmid D., Woehs F., Svoboda M. et al.] // *Can. J. Physiol. Pharmacol*. – 2009. – Vol. 87, N 11. – P. 963-972.
146. Atrial natriuretic peptide, a regulator of nuclear factor-kappaB activation in vivo / [Ladetzki-Baehs K., Keller M., Kiemer A.K. et. al.] // *Endocrinology*. – 2007. – Vol. 148, N 1. – P. 332-336.
147. Autocatalytic tyrosine nitration of prostaglandin endoperoxide synthase-2 in LPS-stimulated RAW 264.7 macrophages / [Schildknecht S., Heinz K.,

- Daiber A. et al.] // *Biochem Biophys Res Commun.* – 2006. – Vol. 340, N 1. – P. 18-25.
148. Berberine inhibits cytosolic phospholipase A2 and protects against LPS-induced lung injury and lethality independent of the alpha2-adrenergic receptor in mice / [Zhang H.Q., Wang H.D., Lu D.X. et al.] // *Shock.* – 2008. – Vol. 29, N 5. – P. 617-622.
149. Behçet's disease patients present high levels of deglycosylated antilipoteichoic acid IgG and high IL-8 production after lipoteichoic acid stimulation / [Cuchacovich M., Merino G., Yamamoto J. H. et al.] // *J. Clin Exp Rheumatol.* – 2005. – Vol. 38, N 4. – P.27-34.
150. Bode C. Activation of the innate immune system and alcoholic liver disease: effects of ethanol per se or enhanced intestinal translocation of bacterial toxins induced by ethanol? / C. Bode, J.C. Bode // *Alcohol Clin Exp Res.* – 2005. – Vol. 29, N 11. – P. 166-171.
151. C1q differentially modulates phagocytosis and cytokine responses during ingestion of apoptotic cells by human monocytes, macrophages, and dendritic cells / [Fraser D.A., Laust A.K., Nelson E.L., Tenner A.J.] // *J. Immunol.* – 2009. – Vol. 183, N 10. – P. 6175-6185.
152. Casserly B. Hemodynamic monitoring in sepsis / Casserly B., Read R., Levy M. // *Crit. Care Clin.* – 2009. – Vol. 25, N 4– P. 803-823.
153. Characterization of a murine alpha 2 macroglobulin gene expressed in reproductive and cardiovascular tissue / [He H., McCartney D.J., Wei Q. et al.] // *Biol Reprod.* – 2005. – Vol. 72, N 2. – P. 266-275.
154. Cell activation of human macrophages by lipoteichoic acid is strongly attenuated by lipopolysaccharide-binding protein / [Mueller M., Stamme C., Draing C. et al.] // *J. Biol Chem.* – 2006. – Vol. 281, N 42. – P. 448-456.
155. Circulating free fatty acids do not contribute to the acute systemic inflammatory response. an experimental study in porcine endotoxaemia/ [Buhl M., Gjedsted J., Granfeldt A et al.] // *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* – 2009. – Vol. 105, N 5. – P. 319-326.

156. Circulating and airway neutrophils in cystic fibrosis display different TLR expression and responsiveness to interleukin-10 / [Petit-Bertron A.F., Tabary O., Corvol H. et. al.] // *Cytokine*. – 2008. – Vol. 41, N 1. – P. 54-60.
157. Correlation between interleukin 6 and interleukin 10 in acute myocardial infarction / [Dizdarević-Hudić L., Kusljugić Z., Baraković F. et al.] // *Bosn. J. Basic Med. Sci.* – 2009. – Vol. 9, N 4. – P. 301-306.
158. Comparison of inhibitory effects of polyanions on nitric oxide production by macrophages stimulated with LPS / Otsuka M., Tsuchiya S., Aramaki Y. // *Biol Pharm Bull.* – 2006. – Vol. 29, N 3. – P. 499-502.
159. Contribution of Toll-like receptors to the innate immune response to Gramnegative and Gram-positive bacteria / [Elson G., Dunn-Siegrist I., Daubeuf B., Pugin J.] // *Blood*. – 2007. – Vol. 109, N 4. – P.1574-1583.
160. Critical role of apoptosis signal-regulating kinase 1 in aldosterone/saltinduced cardiac inflammation and fibrosis / [Nakamura T., Kataoka K., Fukuda M. et al.] // *Hypertension*. – 2009. – Vol. 54, N 3. – P. 544-551.
161. Cytokine-induced metabolic effects in human adipocytes are independent of endogenous nitric oxide / [Linscheid P., Seboek D., Zulewski H. et. al.] // *Am J. Physiol Endocrinol Metab.* – 2006. – Vol. 290, N 6. – P.1068-1077.
162. Cytokine gene polymorphism in sympathetic ophthalmia / [Atan D., Turner S.J., Kilmartin D.J. et. al.] // *Invest Ophthalmol Vis Sci.* – 2005. – Vol. 46, N 11. – P. 4245-4250.
163. Dasgupta S. Generation of functional blocking monoclonal antibodies against mouse interleukin-12 p40 homodimer and monomer / Dasgupta S., Bandopadhyay M., Pahan K. // *Hybridoma (Larchmt.)*. – 2008. – Vol. 27, N 3. – P. 141-151.
164. Davies J.M. Bacterial signalling overrides cytokine signalling and modifies dendritic cell differentiation / Davies J.M., Sheil B., Shanahan F.// *Immunology*. – 2009. –Vol. 128, N 1, Suppl. – P. 805–815.
165. Dauphinee S.M. Lipopolysaccharide signaling in endothelial cells/ S.M. Dauphinee, A. Karsan // *J. Lab Invest.* – 2006. – Vol. 86, N 1. – P.9–22.

166. De Benedetti F. The impact of chronic inflammation on the growing skeleton: lessons from interleukin-6 transgenic mice / F. De Benedetti // *Horm. Res.* – 2009. – Vol. 72, Suppl 1. – P. 26-29.
167. Differential expression of new LTA splice variants upon lymphocyte activation / [Smirnova A.S., Ferreira-Silva K.C., Mine K.L. et. al.] // *Mol Immunol.* – 2008. – Vol. 45, N 1. – P. 295-300.
168. Divergent mechanisms utilized by SOCS3 to mediate interleukin-10 inhibition of tumor necrosis factor alpha and nitric oxide production by macrophages / [Qasimi P., Ming-Lum A., Ghanipour A. Et. al.] // *J. Biol Chem.* – 2006. – Vol. 281, N 10. – P.6316-6324.
169. Diurnal variation in endotoxin-induced mortality in mice: correlation with proinflammatory factors / [Marpegan L., Leone M.J., Katz M.E. et al.] // *Chronobiol. Int.* – 2009. – Vol. 26, N 7. – P. 1430-1442.
170. Dihydrotestosterone decreases tumor necrosis factor-alpha and lipopolysaccharide-induced inflammatory response in human endothelial cells / [Norata G.D., Tibolla G., Seccomandi P.M. et. al.] // *J. Clin Endocrinol Metab.* – 2006. – Vol. 91, N 2. – P.546– 554.
171. Differential interleukin-10 production stratified by -571 promoter polymorphism in purified human immune cells / [Steinke J.W., Barezzi E., Huyett P., Borish L.] // *Cell Immunol.* – 2007. – Vol. 249, N 2. – P. 101-107.
172. Down modulation of TNF-alpha mRNA placental expression by AZT used for the prevention of HIV-1 mother-to-child transmission/[Pornprasert S., Faye A., Mary J.Y. et. al.] // *J. Placenta.* – 2006. – Vol. 27, N 10. – P. 989-995.
173. Dual specificity phosphatase 1 (DUSP1) regulates a subset of LPS-induced genes and protects mice from lethal endotoxin shock / [Hammer M., Mages J., Dietrich H. et al.] // *J. Exp. Med.* – 2006. – Vol. 203, N 1. – P. 15-20.
174. Effect of lipopolysaccharide infusion on gene expression of inflammatory cytokines in normal horses *in vivo* / [Nieto J.E., MacDonald M.H., Braim

- A.E., Aleman M.] // *Equine Vet. J.* – 2009. – Vol. 41, N 7. – P. 717-719.
175. Effects of membrane and soluble EPCR on the hemostatic balance and endotoxemia in mice / [Zheng X., Li W., Gu J.M. et. al.] // *Blood.* – 2007. – Vol. 109, N 3. – P. 1003-1009.
176. Effects of sodium hyaluronate and triamcinolone acetonide on glucosaminoglycan metabolism in equine articular chondrocytes treated with interleukin-1/ [Schaefer E.C., Stewart A.A., Durgam S.S. et al.] // *Am. J. Vet. Res.* – 2009. – Vol. 70, N 12. – P. 1494-1501.
177. Effects of red clover extract on the activation and proliferation of mouse T lymphocytes and the NO secretion of mouse macrophages/Yang Z., Huang X.Y., Zeng Y.Y.//*Yao Xue Xue Bao.* – 2008. – Vol. 43, N 10. – P. 1019- 1024.
178. Endotoxin depresses heart rate variability in mice: cytokine and steroid effects / [Fairchild K.D., Saucerman J.J., Raynor L.L. et al.] // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* – 2009. –Vol. 297, N 4. – P. R1019-1027.
179. Endotoxin downregulates peroxisome proliferator-activated receptor-gamma via the increase in TNF-alpha release / [Zhou M., Wu R., Dong W. et al.] // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* – 2008. – Vol. 294, N 1. – P. 84-92.
180. Endotoxin: physical requirements for cell activation / [Mueller M., Lindner B., Dedrick R. et.al.] // *J.Endotoxin Res.* – 2005. – Vol.11, N 5. – P. 299-303.
181. Endotoxin enhances microvascular thrombosis in mouse cremaster venules via a TLR4-dependent, neutrophil-independent mechanism / [Rumbaut R.E., Bellera R.V., Randhawa J.K. et. al.] // *J. Physiol Heart Circ Physiol.* – 2006. – Vol. 290, N 4. – P. 1671-1679.
182. Endotoxemia and sepsis mortality reduction by non-anticoagulant activated protein C / [Kerschen E.J., Fernandez J.A., Cooley B.C. et. al.] // *J. Exp Med.* – 2007. – Vol. 204, N 10. – P. 2439-2448.
183. Expression and activity of cGMP-dependent phosphodiesterases is

- upregulated by lipopolysaccharide (LPS) in rat peritoneal macrophages / [Witwicka H., Kobiałka M., Siednienko J. Et. al.] // *Biochim Biophys Acta.* – 2007. – Vol.1773, N 2. – P. 209-218.
184. Fulton R.B. Regulation of cytokine production by virus-specific CD8 T cells in the lungs / Fulton R.B., Olson M.R., Varga S.M. / *J. Virol.* – 2008. – Vol. 82, N 16. – P. 7799-7811.
185. Ginsenoside Rd elicits Th1 and Th2 immune responses to ovalbumin in mice / [Yang Z., Chen A., Sun H. et. al.] // *Vaccine.* – 2007. – Vol. 25, N 1. – P. 161-169.
186. Gingival inflammation and interleukin-1 Beta and tumor necrosis factor alpha levels in gingival crevicular fluid during the menstrual cycle / [Baser U., Cekici A., Tanrikulu-Kucuk S. et al.] // *J. Periodontol.* – 2009. – Vol. 80, N 12. – P. 1983-1990.
187. Gingival epithelial cell expression of macrophage inflammatory protein-1alpha induced by interleukin-1beta and lipopolysaccharide / [Ryu O.H., Choi S.J., Linares A.M. et. al.] // *J. Periodontol.* – 2007. – Vol. 78, N 8. – P. 1627-1634.
188. Girardin S.E. Sensing microbes by diverse hosts. Workshop on Pattern Recognition Proteins and Receptors / Girardin S.E., Philpott D.J., Lemaitre B. // *EMBO reports.* – 2003. – Vol. 4, N 10. – P. 932-936.
189. G1-4A, an immunomodulatory polysaccharide from *Tinospora cordifolia*, modulates macrophage responses and protects mice against lipopolysaccharide induced endotoxic shock / [Desai V.R., Ramkrishnan R., Chintalwar G.J., Sainis K.B.] // *Int Immunopharmacol.* – 2007. – Vol. 7, N 10. – P. 1375-1386.
190. Gurung S.K. Inhibition of prostaglandin E2 production by synthetic wogonin analogs / Gurung S.K., Kim H.P., Park H. // *Arch. Pharm. Res.* – 2009. – Vol. 32, N 11. – P. 1503-1508.
191. Chlorophyllin attenuates IFN-gamma expression in lipopolysaccharide-stimulated murine splenic mononuclear cells via suppressing IL-12

- production / [Yun C.H., Son C.G., Chung D.K., Han S.H.] // *J. Int Immunopharmacol.* – 2005. – Vol. 14, N 5. – P. 1926-1935.
192. Highly purified lipoteichoic acid from gram-positive bacteria induces in vitro blood-brain barrier disruption through glia activation: role of proinflammatory cytokines and nitric oxide / [Boveri M., Kinsner A., Berezowski V. et. al.] // *J. Neuroscience.* – 2006. – Vol. 137, N 4. – P. 1193-11209.
193. Hepatoprotective effects of salidroside on fulminant hepatic failure induced by D-galactosamine and lipopolysaccharide in mice / [Wu Y.L., Lian L.H., Jiang Y.Z., Nan J.X.] // *J. Pharm. Pharmacol.* – 2009. – Vol. 61, N 10. – P. 1375-1382.
194. Heme oxygenase-1 mediates the anti-inflammatory actions of 2'-hydroxychalcone in RAW 264.7 murine macrophages / [Abuarqoub H., Foresti R., Green C.J., Motterlini R.] // *J. Physiol Cell Physiol.* – 2006. – Vol. 290, N 4. – P. 1092-1099.
195. Hickey F.B. Adenylate cyclase toxin of *Bordetella pertussis* inhibits TLR-induced IRF-1 and IRF-8 activation and IL-12 production and enhances IL-10 through MAPK activation in dendritic cells / Hickey F.B., Brereton C.F., Mills K.H. // *J. Leukoc. Biol.* – 2008. – Vol. 84, N 1. – P. 234-243.
196. High glucose increases RAW 264.7 macrophages activation by lipoteichoic acid from *Staphylococcus aureus* / [de Souza L.F., Jardim F.R., Sauter I.P. et. al.] // *Clin Chim Acta.* – 2008. – Vol. 398, N 2. – P. 130-133.
197. High levels of Lymphotoxin-Beta (LT-Beta) gene expression in rheumatoid arthritis synovium: clinical and cytokine correlations/[O'Rourke K.P., O'Donoghue G., Adams C. et. al.] // *Rheumatol Int.* – 2008. – Vol. 28, N 10. – P. 979-986.
198. Host recognition of bacterial muramyl dipeptide mediated through NOD2: Implications for Crohn's disease / [Inohara N., Ogura Y., Fontalba A. et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2003. – Vol. 278, N 8. – P. 5509-5512.
199. Huang N. Rosmarinic acid in *Prunella vulgaris* ethanol extract inhibits lipopolysaccharide-induced prostaglandin E2 and nitric oxide in RAW 264.7

- mouse macrophages / [Huang N., Hauck C., Yum M.Y. et al.] // *J. Agric. Food Chem.* – 2009. – Vol. 57, N 22. – P. 10579-10589.
200. Human eosinophils constitutively express multiple Th1, Th2, and immunoregulatory cytokines that are secreted rapidly and differentially / [Spencer L.A., Szela C.T., Perez S.A. et al.] // *J. Leukoc. Biol.* – 2009. – Vol. 85, N 1. – P. 117-123.
201. Hydrogen peroxide inhibits IL-12 p40 induction in macrophages by inhibiting c-rel translocation to the nucleus through activation of calmodulin protein / [Khan N., Rahim S.S., Boddupalli C.S., et.al.] // *J. Blood.* – 2006. – Vol. 107, N 4. – P. 1513-1520.
202. Identification of two inner-membrane proteins required for the transport of lipopolysaccharide to the outer membrane of *Escherichia coli* / [Ruiz N., Gronenberg L.S., Kahne D., Silhavy T.J.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* – 2008. – Vol. 105, N 14. – P. 5537-5542.
203. Innate immune responses of human tracheal epithelium to *Pseudomonas aeruginosa* flagellin, TNF- α , and IL-1 β . / Tseng J., Do J., Widdicombe J.H., Machen T. E. // *J. Physiol Cell Physiol.* – 2006. – Vol. 290, N 3. – P. 678-690.
204. Induction of cytokines by heat shock proteins and concanavalin A in murine splenocytes / Wang Y., Gao B., Tsan M.F. // *J. Cytokine.* – 2005. Vol. 32, N 3. – P. 149-154.
205. Increases in soluble tumor necrosis factor receptors coincide with increases in interleukin-6 and proteinases after major surgery / [Sasajima K., Futami R., Matsutani T. et al.] // *Hepatogastroenterology.* – 2009. – Vol. 56, N 94–95. – P. 1377-1381.
206. Independent roles of macrophage migration inhibitory factor and endogenous, but not exogenous glucocorticoids in regulating leukocyte trafficking / [Gregory J.L., Hall P., Leech M. et al.] // *Microcirculation.* – 2009. – Vol. 16, N 8. – P. 735-748.

207. Involvement of complement pathways in patients with bacterial septicemia / [Dumestre-Pérard C., Doerr E., Colomb M.G., Loos M.] // *Mol Immunol.* – 2007. – Vol. 44, N 7. – P. 1631-1638.
208. Inflammatory arthritis in caspase 1 gene-deficient mice: contribution of proteinase 3 to caspase 1-independent production of bioactive interleukin-1beta / [Joosten L.A., Netea M.G., Fantuzzi G. et al.] // *Arthritis Rheum.* – 2009. – Vol. 60, N 12. – P. 3651-3662.
209. Influence of age on behavioral, immune and endocrine responses to the T-cell superantigen staphylococcal enterotoxin A / [Kohman R.A., Crowell B., Urbach-Ross D., Kusnecov A.W.] // *Eur. J. Neurosci.* – 2009. – Vol. 30, N 7. – P. 1329-1338.
210. Influence of lipopolysaccharide and interleukin-6 on RANKL and OPG expression and release in human periodontal ligament cells / Krajewski A., Biessei J., Kunze M, et al.] // *APMIS.* – 2009. – Vol. 117, N 10. – P. 746–754.
211. Inhibitory effect of N,N-Didesmethylgrossularine-1 on inflammatory cytokine production in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 cells / [Oda T., Lee J.S., Sato Y. et al.] // *Mar. Drugs.* – 2009. – Vol. 7, N 4. – P. 589-599.
212. Inhibition of lipopolysaccharide-induced cyclooxygenase-2 transcription by 6-(methylsulfinyl) hexyl isothiocyanate, a chemopreventive compound from *Wasabia japonica* (Miq.) Matsumura, in mouse macrophages / Uto T., Fujii M., Hou D.X.//*J. Biochem Pharmacol.* – 2005. – Vol. 70, N 12. – P. 1772-1784.
213. Interferon-alpha mediates suppression of C-reactive protein: explanation for muted C-reactive protein response in lupus flares? / [Enocsson H., Siwall C., Skogh T. et al.] // *Arthritis Rheum.* – 2009. – Vol. 60, N 12. – P. 3755-3760.
214. Interleukin-1alpha stimulates proinflammatory cytokine expression in human cardiac myofibroblasts / [Turner N.A., Das A., Warburton P. et al.] // *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.* – 2009. – Vol. 297, N 3. – P. H1117-1127.

215. Interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha as biochemical markers of heart failure: a head-to-head clinical comparison with B-type natriuretic peptide / [Boffa G.M., Zaninotto M., Sartor R. et al.] // *J. Cardiovasc. Med. (Hagerstown)*. – 2009. – Vol. 10, N 10. – P. 758-764.
216. Intestinal macrophages involved in the homeostasis of the intestine have the potential for responding to LPS / [Yoshioka N., Taniguchi Y., Yoshida A. et al.] // *Anticancer Res.* – 2009. – Vol. 29, N 11. – P. 4861-4865.
217. Isoflurane preconditioning ameliorates endotoxin-induced acute lung injury and mortality in rats / Li Q.F., Zhu Y.S., Jiang H. et al.] // *Anesth. Analg.* – 2009. – Vol. 109, N 5. – P. 1591-1597.
218. Isoflavone genistein and daidzein up-regulate LPS-induced inducible nitric oxide synthase activity through estrogen receptor pathway in RAW264.7 cells / Nakaya M., Tachibana H., Yamada K. // *J. Biochem Pharmacol.* – 2005. – Vol. 71, N 3. – P. 108-114.
219. Lactobacilli inhibit interleukin-8 production induced by Helicobacter pylori lipopolysaccharide-activated Toll-like receptor 4 / [Zhou C., Ma F.Z., Deng X.J. et al.] // *World J Gastroenterol.* – 2008. – Vol. 14, N 32. – P. 5090- 5095.
220. Levy A.S. Six-shogaol inhibits production of tumour necrosis factor alpha, interleukin-1 beta and nitric oxide from lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 macrophages / A.S. Levy, O.R. Simon // *West Indian Med. J.* – 2009. – Vol. 58, N 4. – P. 295-300.
221. Lipopolysaccharide, a key molecule involved in the synergism between temporins in inhibiting bacterial growth and in endotoxin neutralization / Mangoni M.L., Epanand R.F., Rosenfeld Y. et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2008. – Vol. 283, N 34. – P. 22907-22917.
222. Lipopolysaccharide-binding protein plasma levels and liver TNF-alpha gene expression in obese patients: evidence for the potential role of endotoxin in the pathogenesis of non-alcoholic steatohepatitis / [Ruiz A.G., Casafont F., Crespo J. et al.] // *Obes. Surg.* – 2007. – Vol. 17, N 10. – P. 1374-1380.

223. Lipoteichoic acid-induced nitric oxide synthase expression in RAW 264.7 macrophages is mediated by cyclooxygenase-2, prostaglandin E2, protein kinase A, p38 MAPK, and nuclear factor-kappaB pathways / [Chang Y.C., Li P.C., Chen B.C. et. al.] // *J. Cell Signal.* – 2006. – Vol.18, N 8. – P. 1235- 1243.
224. LPS from *Escherichia coli* protects against indomethacin-induced gastropathy in rats--role of ATP-sensitive potassium channels / [Gomes A.S., Lima L.M., Santos C.L. et. al.] // *Eur J Pharmacol.* – 2006. – Vol. 547, N 3. – P.136-142.
225. Liquid perfluorochemical inhibits inducible nitric oxide synthase expression and nitric oxide formation in lipopolysaccharide-treated RAW 264.7 macrophages / [Chang L.P., Lai Y.S., Wu C.J., Chou T.C.] // *J. Pharmacol. Sci.* – 2009. – Vol. 111, N 2. – P. 147-154.
226. Lipopolysaccharide-induced production of interleukin-10 is promoted by the serine/threonine kinase Akt / [Pengal R.A., Ganesan L.P., Wei G. et. al.] // *J. Mol Immunol.* – 2006. – Vol. 43 , N 2. – P.1557-1564.
227. Localized inflammation in peripheral tissue signals the CNS for sickness response in the absence of interleukin-1 and cyclooxygenase-2 in the blood and brain / [Zhang H., Ching S., Chen Q. Et. al.] // *Neuroscience.* – 2008. – Vol. 157, N 4. – P. 895-907.
228. Mavziutov A.R. Endotoxemia and anti-endotoxin immunity in women with bacterial vaginosis / Mavziutov A.R., Bondarenko K.R., Bondarenko V.M. // *Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol.* –2009. –Vol. 22, N 5. – P. 57-61.
229. MaxiK blockade selectively inhibits the lipopolysaccharide-induced I kappa B-alpha / NF-kappa B signaling pathway in macrophages/ [Papavlassopoulos M., Stamme C., Thon L. et. al.] // *J. Immunol.* – 2006. – Vol. 177, N 6. – P. 4086-4093.
230. Membrane-anchored CD14 is required for LPS-induced TLR4 endocytosis in TLR4/MD-2/CD14 overexpressing CHO cells / [Shuto T., Kato K., Mori Y. et. al.] // *J.Biochem Biophys Res Commun.* – 2005. – Vol. 338, N 3. – P. 1402-1411.

231. Mesenteric lymph duct ligation attenuates lung injury and neutrophil activation after intraperitoneal injection of endotoxin in rats / [Watkins A.C., Caputo F.J., Badami C. et. al.] // *J. Trauma.* – 2008. – Vol. 64, N 1. – P. 126- 130.
232. Molecular mechanisms underlying the synergistic induction of CXCL10 by LPS and IFN-gamma in human neutrophils / [Tamassia N., Calzetti F., Ear T. et. al.] // *Eur J Immunol.* – 2007. – Vol. 37, N 9. – P. 2627-2634.
233. Mulberry leaf aqueous fractions inhibit TNF-alpha-induced nuclear factor kappaB (NF-kappaB) activation and lectin-like oxidized LDL receptor-1 (LOX-1) expression in vascular endothelial cells / [Shibata Y., Kume N., Arai H. et. al.] // *Atherosclerosis.* – 2007. – Vol. 193, N 1. – P. 20-27.
234. Mukhopadhyay R. Particulate antigen induced immune activation influences steroidogenesis in murine lymphoid organs with parallel increase in circulating IL-6 / R. Mukhopadhyay, B. Bishayi // *Indian J. Exp. Biol.* – 2009. – Vol. 47, N 9. – P. 699-705.
235. Nafamostat prevents hypothermia and improves survival time after administration of lipopolysaccharide in a mouse surgical model / [Adachi Y.U., Obata Y., Suzuki K. et al.] // *J. Anesth.* – 2009. – Vol. 23, N 4. – P. 624-627.
236. New anti-inflammatory synthetic biflavonoid with C-C (6-6") linkage: differential effects on cyclooxygenase-2 and inducible nitric oxide synthase / [Lim H., Kim S.B., Park H. et al.] // *Arch. Pharm. Res.* – 2009. – Vol. 32, N 11. – P. 1525-1531.
237. NANOG is a direct target of TGFbeta/activin-mediated SMAD signaling in human ESCs / [Xu R.H., Sampsel-Barron T.L., Gu F. et.al.] // *Cell Stem Cell.* – 2008. – Vol. 3, N 2. P.196-206.
238. Paracrine regulation of vascular endothelial growth factor-a expression during macrophage-melanoma cell interaction: role of monocyte chemotactic protein-1 and macrophage colony-stimulating factor / [Varney M.L.,

- Olsen K.J., Mosley R.L., Singh R.K.] // *J. Interferon Cytokine Res.* – 2005. – Vol.25, N 11. – P.674-683.
239. Peptidoglycan molecular requirements allowing detection by Nod1 and Nod2 / [Girardin S.E., Travassos L.H., et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2003. – Vol. 278, N 43. – P. 41702-41708.
240. Pirfenidone inhibits T-cell activation, proliferation, cytokine and chemokine production, and host alloresponses / [Visner G.A., Liu F., Bizargity P. et al.] // *Transplantation.* – 2009. – Vol. 88, N 3. – P. 330-338.
241. Protective effect of pioglitazone against endotoxin-induced liver injury through prevention of Kupffer cell sensitization / [Enomoto N., Takei Y., Yamashima S. et. al.] // *Alcohol Clin Exp Res.* – 2005. – Vol. 29, N 12. – P. 216-225
242. Plasma B-type natriuretic peptide and anti-inflammatory cytokine interleukin-10 levels predict adverse clinical outcome in chronic heart failure patients with depressive symptoms: a 1-year follow-up study / [Parissis J.T., Farmakis D., Nikolaou M. et al.] // *Eur. J. Heart Fail.* – 2009 . – Vol. 11, N 10. – P. 967-972.
243. Plasminogen activator inhibitor-1 promotes inflammatory process induced by cigarette smoke extraction or lipopolysaccharides in alveolar epithelial cells / [Xu X., Wang H., Wang Z., Xiao W.] // *Exp. Lung Res.* – 2009. – Vol. 35, N 9. – P. 795-805.
244. Prostaglandin F(2alpha) regulates cytokine responses of mast cells through the receptors for prostaglandin E / [Kaneko I., Hishinuma T., Suzuki K. et. al.] // *Biochem Biophys Res Commun.* – 2008. – Vol. 367, N 3. – P. 590-596.
245. Pneumococcal peptidoglycan-polysaccharides induce the expression of interleukin-8 in airway epithelial cells by way of nuclear factor-kappaB, nuclear factor interleukin-6, or activation protein-1 dependent mechanisms / [Tsuchiya K., Toyama K., Tsuprun V. et. al.] // *Laryngoscope.* – 2007. – Vol. 117, N 1. – P. 86-91.

246. Pohl J. Changes in hypothalamically mediated acute-phase inflammatory responses to lipopolysaccharide in diet-induced obese rats / Pohl J., Woodside B., Luheshi G.N. // *Endocrinology*. – 2009. – Vol. 150, N 11. – P. 4901-4910.
247. Phosphodiesterase inhibition decreases nuclear factor-kappaB activation and shifts the cytokine response toward anti-inflammatory activity in acute endotoxemia / [Coimbra R., Melbostad H., Loomis W. et. al.] // *J. Trauma*. – 2005. – Vol. 59, N 3. – P. 575-582.
248. Puangpraphant S. Saponins in yerba mate tea (*Ilex paraguariensis* A. St. -Hil) and quercetin synergistically inhibit iNOS and COX-2 in lipopolysaccharide-induced macrophages through NFkappaB pathways / [S. Puangpraphant, E.G. de Mejia // *J. Agric. Food Chem.* – 2009. – Vol. 57, N 19. – P. 8873-8883.
249. Role of hypertonic saline and pentoxifylline on neutrophil activation and tumor necrosis factor-alpha synthesis: a novel resuscitation strategy / [Coimbra R., Loomis W., Melbostad H. et.al.] // *J. Trauma*. – 2005. – Vol. 59, N 2. – P. 257-264
250. Rosmanol potently inhibits lipopolysaccharide-induced iNOS and COX-2 expression through downregulating MAPK, NF-kappaB, STAT3 and C/EBP signaling pathways / [Lai C.S., Lee J.H., Ho C.T. et al.] // *J. Agric. Food Chem.* – 2009. – Vol. 57, N 22. – P. 10990-10998.
251. Rosmarinic acid in *Prunella vulgaris* ethanol extract inhibits lipopolysaccharide-induced prostaglandin E₂ and nitric oxide in RAW 264.7 mouse macrophages / [Huang N., Hauck C., Yum M.Y. et al.] // *J. Agric. Food Chem.* – 2009. – Vol. 57, N 22. – P. 10579-10589.
252. Rozlomiĭ V.L. Effect of interleukin-beta preparation on dynamics of healing of experimental wound in mice / Rozlomiĭ V.L., Variushina E.A., Rybal'chenko O.V. // *Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol.* 2009. – Vol.24, N 5. – P. 79-82.

253. Short-chain fatty acids act as antiinflammatory mediators by regulating prostaglandin E(2) and cytokines / [Cox M.A., Jackson J., Stanton M. et al.] // World J. Gastroenterol. – 2009. – Vol. 15, N 44. – P. 5549-5557.
254. Soybean saponins suppress the release of proinflammatory mediators by LPS-stimulated peritoneal macrophages / [Kang J.H., Sung M.K., Kawada T. et al.] // J.Cancer Lett. – 2005. – Vol. 230, N 2. P. 219-227.
255. Simultaneous transforming growth factor beta-tumor necrosis factor activation and cross-talk cause aberrant remodeling response and myocardial fibrosis in Timp3-deficient heart / [Kassiri Z., Defamie V., Hariri M. et al.] // J. Biol. Chem. – 2009. – Vol. 284, N 43. – P. 29893-29904.
256. Splenic stromal microenvironment negatively regulates virus-activated plasmacytoid dendritic cells through TGF-beta / [Li L., Liu S., Zhang T. et al.] // J. Immunol. – 2008. – Vol. 180, N 5. – P. 2951-2956.
257. St John A.L. Salmonella disrupts lymph node architecture by TLR4-mediated suppression of homeostatic chemokines / A.L. St John, S.N. Abraham // Nat. Med. – 2009. – Vol. 15, N 11. – P. 1259-1265.
258. STAT3 NH2-terminal acetylation is activated by the hepatic acute-phase response and required for IL-6 induction of angiotensinogen / Ray S., Boldogh I., Brasier A.R. // J. Gastroenterology. – 2005. – Vol. 129, N 5. – P.1616-1632.
259. Statins enhance toll-like receptor 4-mediated cytokine gene expression in astrocytes: implication of Rho proteins in negative feedback regulation / Konat GW, Krasowska-Zoladek A, Kraszpuski M. // J. Neurosci Res. – 2008. – Vol. 86, N 3. – P. 603-609.
260. Suppressor of cytokine signaling-1 selectively inhibits LPS-induced IL-6 production by regulating JAK-STAT / [Kimura A., Naka T., Muta T. et.al.] // J. Proc Natl Acad Sci U S A. – 2005. – Vol. 102, N 47. – P. 1789-1794.
261. Suppressor of cytokine signalling-3 at pathological levels does not regulate lipopolysaccharide or interleukin-10 control of tumour necrosis factor-alpha

- production by human monocytes / [Prêle C.M., Keith-Magee A.L., Yerkovich S.T. et al.] // *Immunology*. – 2006. – Vol. 119, N 1. – P.8-17.
262. Survey on LPS endotoxin in rejected water from sludge treatment facility / Guizani M., Dhahbi M., Funamizu N. // *J. Environ. Monit.* – 2009. – Vol. 11, N 11. – P. 1935-1941.
263. The effects of prostaglandin E1 on interleukin-6, pulmonary function and postoperative recovery in oesophagectomised patients / Farrokhnia E., Makarem J., Khan Z.H. et al.] // *Anaesth. Intensive Care*. – 2009. – Vol. 37, N 6. – P. 937-943.
264. The intestinal intraepithelial lymphocytes with t cell receptor alphabeta express toll-like receptor 4 and are responsive to lipopolysaccharide / [Ma C., Xu C., Duan L., He W.] // *Int Arch Allergy Immunol.* – 2006. – Vol. 141, N 4. – P. 401-407.
265. Type I IFN signaling is crucial for host resistance against different species of pathogenic bacteria / [Mancuso G., Midiri A., Biondo C. et al.] // *J. Immunol.* – 2007. – Vol. 178, N 5. – P. 3126-3133.
266. Wanders A. Nonsteroidal antiinflammatory drugs reduce radiographic progression in patients with ankylosing spondylitis: a randomized clinical trial. / [Wanders A., Heijde D., Landewe R., et al.] // *Arthritis Rheum.* – 2005. – N 52. – P. 1756-1765.
267. Yaglova N.V. Relationship between functional activity of the thyroid gland and levels of proinflammatory and immunoregulatory cytokines in acute experimental endotoxycosis / N.V. Yaglova // *Bull. Exp. Biol. Med.* – 2009. – Vol. 147, N 6. – P. 698-700.



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Ректор

Львівського національного
медичного університету ім.
Данила Галицького

акад. Б.С.Зіменковський

«27» січня 2010 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** Корекція порушень ліпоксигеназного метаболізму арахідонату за проникного поранення рогівки, обтяженого введенням ендотоксину в передню камеру ока.
2. **Установа-розробник:** Буковинський державний медичний університет, 58000, м.Чернівці, вул. Богомольця, 2, кафедра мікробіології та вірусології.
3. **Автор:** Я.І.Пенішкевич, Івасюк О.В., Доманська Г.П.
4. **Джерело інформації:** Труды Крымского государственного медицинского университета им. С.И. Геогриевского. – 2008. – Т. 144, ч. 2. – С. 124 – 126.
5. **Базова установа, яка проводить впровадження:** Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, кафедра патофізіології.
6. **Термін впровадження:** січень - лютий 2010 року.
7. **Форма впровадження:** у навчальний процес і наукову роботу кафедри.
8. **Зауваження та пропозиції:** зауважень немає.

Відповідальний за впровадження:

Зав. кафедри патологічної фізіології,
доктор медичних наук, професор

M.S. Perega

“Затверджую”

перший проректор Тернопільського державного
 медичного університету імені І.Я.Горбачевського
 д.мед.наук, професор І.Р. Мисула
 .. 2009 року



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** Вплив ендотоксинів грамнегативної та грампозитивної мікрофлори на інтенсивність протеолізу в склистому тілі ока кроликів з проникним пораненням склери.
2. **Установа-розробник:** Буковинський державний медичний університет, 58000, м.Чернівці, вул. Богомольця, 2, кафедра мікробіології та вірусології.
3. **Автор:** Івасюк Л.В., Пенішкевич Я.І.
4. **Джерело інформації:** Буковинський медичний вісник. – 2009. – Т. 13, № 2. – С. 69 – 72.
5. **Базова установа, яка проводить впровадження:** Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського.
6. **Термін впровадження:** вересень 2009 – лютий 2010 року.
7. **Форма впровадження:** у навчальний процес і наукову роботу кафедри.
8. **Зауваження та пропозиції:** зауважень немає.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри патологічної фізіології,
 доктор медичних наук, професор



М.Р. Хара.

“Затверджую”
 проректор з наукової роботи Буковинського
 державного медичного університету
 д.мед.н., професор _____ О.І. Івашук
 “ 3 ” _____ 2009 року



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** Спосіб експериментального моделювання проникної інфікованої травми склери заднього сегмента ока.
2. **Установа-розробник:** Буковинський державний медичний університет, 58000, м.Чернівці, вул. Богомольця, 2, кафедра мікробіології та вірусології.
3. **Автор:** Пішак В.П., Івашук Л.В., Висоцька В.Г., Магалаєс В.М.
4. **Джерело інформації:** пат. 12947 Україна, МПК G09В 23/28 (2007.01) заявл. 27.10.2006; опубл. 10.04.07, Бюл. № 4.
5. **Базова установа, яка проводить впровадження:** Буковинський державний медичний університет.
6. **Термін впровадження:** вересень 2009 – лютий 2010 року.
7. **Форма впровадження:** у навчальний процес і наукову роботу кафедри.
8. **Зауваження та пропозиції:** зауважень немає.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри офтальмології,
 доктор медичних наук



Я.І. Пенішкевич

“...затверджую”
 перший заступник Тернопільського державного
 медичного університету імені І.Я.Горбачевського
 д.мед.н., професор _____ І.Р. Мисула
 “_____” _____ 2009 року



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** Вплив ендотоксинів грамнегативної і грампозитивної мікрофлори на інтенсивність фібринолізу у склоподібному тілі ока кроликів з проникним пораненням склери.
2. **Установа-розробник:** Буковинський державний медичний університет, 58000, м.Чернівці, вул. Богомольця, 2, кафедра мікробіології та вірусології.
3. **Автор:** Івасюк Л.В., Пенішкевич Я.І.
4. **Джерело інформації:** Клінічна та експериментальна патологія. – 2008. – Т. VII, № 3. – С. 56 – 59.
5. **Базова установа, яка проводить впровадження:** Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського.
6. **Термін впровадження:** вересень 2009 – січень 2010 року.
7. **Форма впровадження:** у навчальний процес і наукову роботу кафедри.
8. **Зауваження та пропозиції:** зауважень немає.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри медичної біології,
 мікробіології, вірусології та імунології,
 доктор медичних наук, професор

С.І. Климшук

„ЗАТВЕРДЖУЮ”

Проректор
з науково-педагогічної роботи
Запорізького державного
медичного університету



„_____” 2009 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1. Найменування пропозиції для впровадження:** Патогенетична корекція запалення тканин очного яблука, спричиненого поєднаною дією проникного поранення рогівки та уведення ендотоксину грамнегативної мікрофлори.
- 2. Ким запропоновано, адреса, виконавці:** Буковинська державна медична академія, кафедра патофізіології. 58000, Театральна площа, 2. Івасюк Л.В.
- 3. Джерела інформації:** Івасюк Л.В.
Корекція порушень ліпоксигеназного метаболізму арахідонату за проникного поранення рогівки, обтяженого введенням ендотоксину в передню камеру ока // Проблемы, достижения и перспективы развития медико – биологических наук и практического здравоохранения. – 2008. – Т. 144, часть II – С. 124-126.
- 4. Де впроваджено:** впроваджено в навчальний процес кафедри патологічної фізіології Запорізького державного медичного університету при проведенні практичних занять та лекцій по темі "Запалення".
- 5. Термін впровадження** з 03.2009 по 06.2009.
- 6. Короткий зміст основних положень, які внесені в лекційний курс та практичні заняття:** При поєднанні проникного поранення рогівки та уведення поєднаною дією проникного поранення рогівки та уведення ендотоксину грамнегативної мікрофлори в передню камеру ока має місце значне і тривале підвищення вмісту лейкотрієну В₄, яке корегується протизапальними засобами, серед яких особливо вагому ефективність має парацетамол.
- 7. Ефективність впровадження:** поглиблення знань про патогенез розвитку запальних захворювань тканин очного яблука.
- 8. Зауваження та пропозиції:** Зауваження не вносились. Запропоновано для використання в навчальному процесі кафедр патологічної фізіології, офтальмології.

Відповідальний за впровадження:

Професор кафедри
патологічної фізіології ЗДМУ
д.мед.н., професор

 А.В.Абрамов

„ЗАТВЕРДЖУЮ”

Проректор
з науково-педагогічної роботи
Запорізького державного
медичного університету

проф. В. А. Абрамов



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Розвиток запального процесу в тканинах очного яблука за показниками тканинного протеолізу під впливом ендотоксинів грамнегативної та грампозитивної мікрофлори.
2. **Ким запропоновано, адреса, виконавці:** Буковинська державна медична академія, кафедра офтальмології. 58000, Театральна площа, 2. Івасюк Л.В.
3. **Джерела інформації:** Івасюк Л.В. Пенішкевич Я.І Вплив ендотоксинів грамнегативної і грампозитивної мікрофлори на інтенсивність протеолізу в склистому тілі ока кроликів з проникним пораненням склери // Буковинський медичний вісник. - 2009. – Т.13, № 2. – С. 69-72.
4. **Де впроваджено:** впроваджено в навчальний процес кафедри патологічної фізіології Запорізького державного медичного університету при проведенні практичних занять та лекцій по темі "Запалення".
5. **Термін впровадження** з 03.2009 по.06.2009.
6. **Короткий зміст основних положень, які внесені в лекційний курс та практичні заняття:** Під дією ендотоксинів грампозитивної мікрофлори інтенсивність протеолізу в розвитку запального процесу набуває максимальних величин та якісних відмінностей під дією ендотоксинів грамнегативної мікрофлори.
7. **Ефективність впровадження:** поглиблення знань про патогенез розвитку запальних захворювань тканин очного яблука.
8. **Зауваження та пропозиції:** Зауваження не вносились. Запропоновано для використання в навчальному процесі кафедр патологічної фізіології, офтальмології.

Відповідальний за впровадження:

Професор кафедри
патологічної фізіології ЗДМУ
д.мед.н., професор

 А.В.Абрамов

“Затверджую”
 Проректор з навчальної роботи Вінницького
 національного медичного університету імені
 М.І. Пирогова
 д.мед.г.н., професор  Ю.І. Гумінський
 “  ” 2009 року

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** Вплив глюкозоамініл-мураміддипептиду на інтенсивність фібринолізу в склоподібному тілі ока кроликів з проникним пораненням склери.
2. **Установа-розробник:** Буковинський державний медичний університет, 58000, м.Чернівці, вул. Богомольця, 2, кафедра мікробіології та вірусології.
3. **Автор:** Івасюк Л.В.
4. **Джерело інформації:** Матеріали четвертої всеукраїнської науково-практичної інтернет-конференції «Українська наука ХХІ століття» – Київ, 2008. – С. 10 – 11.
5. **Базова установа, яка проводить впровадження:** Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова.
6. **Термін впровадження:** вересень 2009 – лютий 2010 року.
7. **Форма впровадження:** у навчальний процес і наукову роботу кафедри.
8. **Зауваження та пропозиції:** зауважень немає.

Відповідальний за впровадження:

В.О. завідувача кафедри патологічної фізіології, кандидат медичних наук



Н.А. Рикало