

УДК 617.7 – 0001.4 – 06:616 – 0021 – 085.837.3:615.276

Л. В. Івасюк, Я. І. ПенішкевичБуковинський державний медичний
університет, м. Чернівці**ВПЛИВ ЕНДОТОКСИНІВ ГРАМНЕГАТИВНОЇ
І ГРАМПозИТИВНОЇ МІКРОФЛОРИ
НА ІНТЕНСИВНІСТЬ ФІБРИНОЛІЗУ У
СКЛОПОДІБНОМУ ТІЛІ ОКА КРОЛИКІВ З
ПРОНИКНИМ ПОРАНЕННЯМ СКЛЕРИ****Ключові слова:** око, травма,
фібриноліз, ендотоксин *S. typhimurium*,
глюкозоамінілмурамідипептид.**Резюме.** Встановлено, що в склоподібному тілі кроликів з проникною травмою склери 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 склоподібне тіло кроликів з проникною травмою склери ендотоксину *Salmonella typhimurium* вірогідних змін інтенсивності та структури тканинного фібринолізу в *corpus vitreum* не відбувається. Інтравітреальне введення глюкозоамінілмурамідипептиду призводить до зменшення неферментативної фібринолітичної активності на 33% відносно контролю і на 44% – відносно показників у кроликів, яким вводили ендотоксин *Salmonella typhimurium*. Інтенсивність ферментативного фібринолізу в тварин з проникною травмою склери, яким вводили глюкозоамінілмурамідипептид, на 76% більша, ніж у кроликів, яким у склоподібне тіло вводили ендотоксин *Salmonella typhimurium*.**Вступ**

Відомо, що під впливом ендотоксинів розвивається клітинна інфільтрація тканин ока, яка призводить до увезу на тлі підвищення інтраокулярного вмісту інтерлейкіну-1 β , простагландину E₂ та лейкотрієну B₄ [9, 14]. Простагландин E₂ стимулює продукцію ендотеліального фактора росту та фактора росту фібробластів [10], що викликає інтраокулярний фіброз та утворення шварт у склоподібному тілі з тракційним відшаруванням сітківки [6, 12, 13].

З точки зору внутрішньовітреального фіброгенезу важливими є зміни інтраокулярних гемостатичних систем. У преретинальній мембрані людини виявлені білки системи згортання крові – фактор XIIIa та протеїн S, а в субретинальній рідині – плазмін. Вважається, що прокоагулянти, плазмін та його активатори, які виробляються клітинами пігментного епітелію, впливають на процеси фібробластної проліферації. Активація локального гемостазу в хворих з регматогенним відшаруванням сітківки сприяє розвитку проліферативної вітреоретинопатії, що підтверджується наявністю прямих кореляційних зв'язків між рівнем локального гемостазу та вихідною проліферативною вітреоретинопатією [5]. Отже, дисбаланс між локальним фібриноутворенням і фібринолізом здатний спричинити тяжкі порушення зору.

Наведені вище результати досліджень стосуються внутрішньоочних ефектів ліпополі-

сахариду грамнегативної мікрофлори, тоді як вплив глюкозоамінілмурамідипептиду (ГАМД), зокрема, на локальний тканинний фібриноліз у травмованому оці, практично не вивчений.

МЕТА ДОСЛІДЖЕННЯ

Провести порівняльний аналіз впливу ліпополісахариду грамнегативної мікрофлори і ГАМД на інтенсивність і структуру фібринолізу в склоподібному тілі кроликів із проникною травмою склери.

МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ

Дослідження виконані на 31 кролику породи Шиншила, масою 2,5-3,0 кг. Моделювання проникної травми ока здійснювали під місцевою анестезією (ретробульбарне введення 1,5 мл 2% розчину новокаїну з дворазовою інстиляцією в кон'юнктивальну порожнину 0,25% розчину дикаїну) сколеним лезом бритви, що фіксувалось лезотримачем, з формуванням лінійного розрізу склери (4 мм), за асептичних умов. У склоподібне тіло вводили 10 нг ендотоксину *Salmonella typhimurium* (*S. typhimurium*) або 10 нг ГАМД. Через 24 години виконували енуклеацію травмованого ока під ретробульбарною анестезією 2% розчином новокаїну (2 мл) та інстиляцією в кон'юнктивальну порожнину 0,25% розчин дикаїну. Енуклеювані очі негайно заморожували в парах рідкого азоту.

Для визначення фібринолітичної активності склоподібне тіло (0,5 мл) додавали до 1,5 мл бо-

ратного буфера (рН 9,0). Інтенсивність фібринолізу оцінювали за лізісом азофібрину ("Simko Ltd", Україна) під впливом плазміну, що утворюється при інкубації азосполуки зі стандартною кількістю плазміногену в присутності тканинних активаторів та інгібіторів фібринолізу. Вивільнення азобарвника в інкубаційний розчин відбувається пропорційно тканинній фібринолітичній активності, отже ступінь забарвлення розчину відображає сумарну фібринолітичну активність (СФА). Пригнічення активності плазміну додаванням ϵ -амінокапронової кислоти дозволило визначити неферментативну фібринолітичну активність (НФА), а різницю між показниками сумарного та не ферментативного фібринолізу оцінити, як ферментативну фібринолітичну активність (ФФА) [4].

Результати досліджень опрацьовували методами статистичного аналізу за програмою "Excel-7" (Microsoft Office, США) на РС IBM 586.

ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Результати досліджень відображені в таблиці. У тварин із проникною травмою склери СФА вірогідних змін не зазнавала, однак НФА зростала у 3,1 раза на тлі одночасного зниження інтенсивності ферментативного фібринолізу на 38,4%. Структура тканинного фібринолізу в склоподібному тілі при проникній травмі склери характеризувалася значним збільшенням частки неензиматичного лізису фібрину та суттєвим зменшенням ФФА (рис.).

Введення в склоподібне тіло кроликів із проникною травмою склери ендотоксину *S. typhimurium* вірогідних змін СФА та структури тканинного фі-

бринолізу не викликало: інтенсивність неферментативного фібринолізу дещо зростала, залишаючись більшою за контроль у 3,7 раза, а ферментативний фібриноліз, навпаки, знижувався й був у 2,5 раза меншим за такий у контрольних тварин.

Інтравітреальне введення ГАМД не змінювало сумарну інтенсивність тканинного фібринолізу, проте НФА зменшувалася на 32,9% і була на 43,8% нижчою за таку в кроликів, яким вводили ендотоксин *S. typhimurium*, залишаючись вірогідно вищою за контрольні показники. Ферментативний фібриноліз при проникній травмі склери під впливом ГАМД зростав, перевищуючи на 75,8% показник тварин, яким вводили ендотоксин *S. typhimurium*, та досягаючи величин, лише на 29,1% менших за контрольний рівень. Структура тканинного фібринолізу після введення в травмоване око ГАМД наближалася до такої у тварин контрольної групи.

Таким чином, у кроликів з проникною травмою склери у склоподібному тілі порушується структура тканинного фібринолізу: НФА втричі перевищує контрольні показники, тоді як інтенсивність ферментативного фібринолізу, навпаки, знижується майже на 40%.

Через 24 години після введення в склоподібне тіло кроликів з проникною травмою склери ендотоксину *S. typhimurium* вірогідних змін інтенсивності та структури тканинного фібринолізу не відбувається. Інтравітреальне введення ГАМД призводить до зменшення НФА на 33% відносно контролю і на 44% – відносно відповідного показника в кроликів, яким вводили ендотоксин *S. typhimurium*. Інтенсивність ферментативного фібринолізу в тварин з проникною травмою склери, яким вводили

Таблиця

Вплив ендотоксину *Salmonella typhimurium* (eSt) та глюкозамінілдмурамідпептиду (ГАМД) на інтенсивність фібринолізу при проникній травмі склери ($\bar{x} \pm Sx$)

Показники, що вивчалися	Контроль, n=10	Травма склери, n=7 1 група	Травма склери + eSt, n=7 2 група	Травма склери + ГАМД, n=7 3 група
Сумарна фібринолітична активність, мкг азофібрину/1мл за 1 год.	102,90±8,73	132,40±11,20 p>0,05	133,20±10,89 p<0,05 p ₁₋₂ >0,9	111,20±7,24 p>0,5 p ₁₋₃ >0,1 p ₂₋₃ >0,1
Неферментативна фібринолітична активність, мкг азофібрину/1мл за 1 год.	27,41±3,60	85,96±7,45 p<0,001	102,70±8,86 p<0,001 p ₁₋₂ >0,1	57,72±7,59 p<0,01 p ₁₋₃ <0,05 p ₂₋₃ <0,01
Ферментативна фібринолітична активність, мкг азофібрину/1мл за 1 год.	75,45±5,49	46,45±7,90 p<0,01	30,45±2,95 p<0,001 p ₁₋₂ >0,08	53,52±4,19 p<0,02 p ₁₋₃ >0,4 p ₂₋₃ <0,001

Примітка. p – ступінь вірогідності різниць показників відносно контролю;

p₁₋₂, p₁₋₃, p₂₋₃ – ступінь вірогідності різниць показників у відповідних групах тварин;
n – число спостережень.

ГАМД, на 76% більша, ніж у кроликів, яким вводили ендотоксин *S. typhimurium*. Структура тканинного фібринолізу після введення в травмоване око ГАМД наближається до контрольної.

Відомо, що особливо тяжкі ускладнення при травмі органа зору виникають після ушкодження заднього сегмента очного яблука, коли в запальний процес залучені скловидне тіло та сітківка, що супроводжується фіброваскулярною проліферацією і призводить до відшарування сітківки та втрати зору [3]. У фазу альтерації запальний процес характеризується некрозом і дегенеративними змінами тканин з вивільненням медіаторів запалення, які в подальшому зумовлюють процес фіброзних перетворень ураженої зони ока. Медіатори запалення стимулюють найбільш важливу ланку післятравматичних змін, а саме – міграцію у вогнище ушкодження сполучнотканинних та гліальних елементів. Друга фаза характеризується змінами реологічних властивостей крові, ексудацією плазми в оточуючі тканини, міграцією у вогнище ураження мезенхімальних клітин (клітин крові, фібробластів, гістіоцитів та ін.), які в подальшому будуть основними клітинними елементами, що безпосередньо беруть участь у репаративних процесах. У третю фазу відбувається проліферація гліальних та сполучнотканинних клітин, синтез міжклітинної речовини, що призводить до фіброзного перетворення ушкоджених тканин [1].

Збільшення проникності капілярів ока супроводжується геморагіями та плазморагіями. Наслідком перших є фіброз, а плазморагії зумовлюють ретинальний набряк: дифузний – внаслідок плазмової інфільтрації та локальний – внаслідок утворення мікроаневризм [8]. При проникних пораненнях очного яблука загоспня ран відбувається з утво-

ренням грануляційної тканини, яка локалізована не тільки в ділянці рани, але й за ходом раньового каналу, в глибині очного яблука. Ці зміни поєднуються з процесами організації крововиливів і призводять до утворення шварт, що є тяжким ускладненням післятравматичного запалення [11].

Надлишковий розвиток сполучної тканини в скловидному тілі, що виникає внаслідок проникного поранення ока, призводить не тільки до порушення оптичної прозорості, але й у багатьох випадках викликає тракційне відшарування внутрішніх оболонок, рубцювання і, як наслідок, атрофію очного яблука. Гіперпроліферативні процеси з формуванням значних фіброзних шварт і травматичних кіст спостерігаються у 68% випадків проникних поранень ока [2]. Причинами розвитку сполучної тканини є процеси організації запальних ексудатів з інтенсивним накопиченням колагену III типу в зоні ушкодження ока [7].

У разі інфікованої травми ока ендотоксини здатні підсилювати процеси фіброзогенезу через блокування ферментативного фібринолізу. Результати наших досліджень свідчать, що таким ефектом може володіти ліпополісахарид грамнегативної мікрофлори, проте ГАМД, навпаки, сприяє активації ензиматичного лізису внутрішньоочних відкладань фібрину.

Висновки

1. У кроликів із проникною травмою склери в склоподібному тілі порушується структура тканинного фібринолізу: неферментативна фібринолітична активність втрічі перевищує контрольні показники, тоді як інтенсивність ферментативного фібринолізу, навпаки, знижується майже на 40%.

2. Через 24 години після введення в склоподібне тіло кроликів з проникною травмою склери

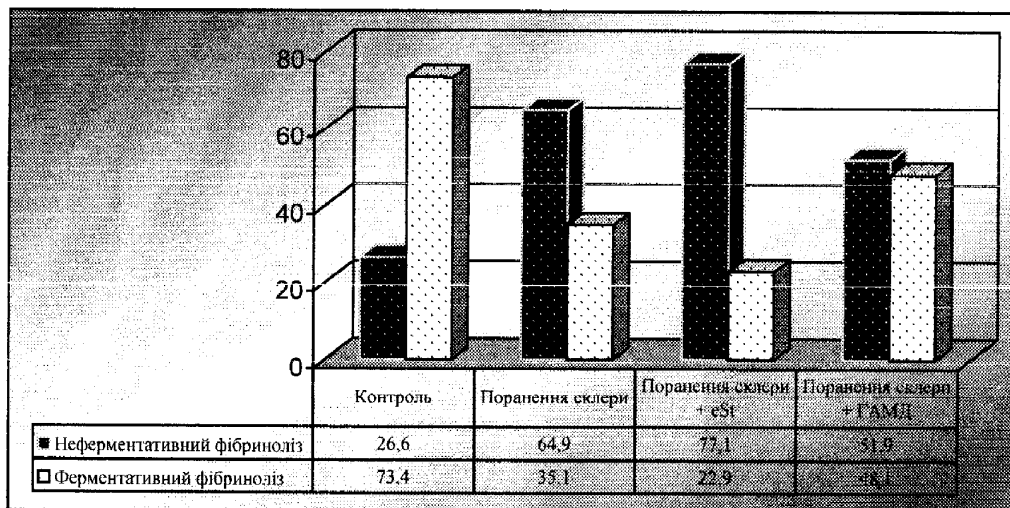


Рис. Структура тканинного фібринолізу в склоподібному тілі кроликів з проникною травмою ока під впливом ендотоксинів *S. typhimurium* (eSt) та ГАМД (% від сумарної фібринолітичної активності)

ендотоксину *S. typhimurium* вірогідних змін інтенсивності та структури тканинного фібринолізу в corpus vitreum не відбувається.

3. Інтравітреальне введення глюкозоамінілмураміддипептиду призводить до зменшення неферментативної фібринолітичної активності на 33% відносно контролю і на 44% – відносно показників у кроликів, яким вводили ендотоксин *S. typhimurium*. Інтенсивність ферментативного фібринолізу в тварин з проникаючою травмою склери, яким вводили глюкозоамінілмураміддипептид, на 76% більша, ніж у кроликів, яким вводили ендотоксин *S. typhimurium*. Структура тканинного фібринолізу після введення в травмоване око глюкозоамінілмураміддипептид наближається до контрольної.

Перспективи подальших досліджень

З огляду на результати даного дослідження перспективним є з'ясування ролі ендотоксинів грам-позитивної та грам-негативної мікрофлори щодо перебігу ендодальміту в хворих з проникним пораненням ока.

Література. 1. *Vin V. V.* Гематофтальмический барьер при травме глаза / В.В. Вин, С.К. Дмитриев // Офтальмол. ж. – 1997. – №2. – С. 143-148. 2. *Галимова Р.З.* Гиперрегенеративные процессы после проникающих ранений глаз / Р.З. Галимова, Б.С. Бейсенбаева // Офтальмол. ж. – 1999. – №1. – С. 55-57. 3. *Даниличев В.Ф.* Травмы и заболевания глаз. Применение ферментов и пептидных биорегуляторов / В.Ф. Даниличев, И.Б. Максимов – Минск: Наука і Тэхніка, 2001. – 223с. 4. *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 / Одеський мед. ін-т. О.Л. Кухарчук – Одеса, 2001. – 37с. 5. *Логой И.М.* Факторы риска развития пролиферативной витроретинопатии у больных при склеропластическом лечении ретрогенной отслойки сетчатки / И.М. Логой // Офтальмол. ж. – 1999. – №3. – С. 129-134. 6. *Морозов В.И.* Фармакотерапия глазных болезней / В.И. Морозов – М.: Медицина, 2003. – 336с. 7. *Хорошилова-Маслова И.П.* Изучение коллагенового профиля в новообразованной соединительной ткани в посттравматических глазах / И.П. Хорошилова-Маслова // Офтальмол. ж. – 2002. – №2. – С. 115-120. 8. *Шамшинова А.М.* Функциональные методы исследования в офтальмологии / А.М. Шамшинова – М.: Медицина, 2003. – 416с. 9. *Bellot J.L.* Concomitant treatment with a 5-lipoxygenase inhibitor improves the anti-inflammatory effect of the inhibition of nitric oxide synthase during the early phase of endotoxin-induced uveitis in the rabbit / J.L. Bellot // Ophthalmic Res. – 2001. – V.29, №4. – P. 227-236. 10. *Cheng T.* Prostaglandin E2 induces vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor mRNA expression in cultured rat Muller cells / T.Cheng // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. – 1998. – V.39, №3. – P. 581-591. 11. *Garcia-Arumi J.* The role of vitreoretinal surgery in the treatment of posttraumatic macular hole / J.Garcia-Arumi // Retina. – 1999. – V.17, №5. – P. 372-377. 12. *Inoue M.* Blood-aqueous barrier disruption in experimental anterior segment ischemia in rabbit eyes / M. Inoue, H. Shirabe, M. Yamamoto // Ophthalmic. Res. – 1999. – V.31, №3. – P. 213-219. 13. *Kahler C.M.* Induction of arachidonic acid metabolite release by human fibroblasts in proliferative vitreoretinopathy / C.M. Kahler, M. Herold, G. Kaufmann // Eur. J. Pharmacol. – 1998. – V.341, №1. – P. 111-117. 14. *Tsuji F.* The effects of betamethasone derivatives on endotoxin-induced uveitis in

guinea pigs / F. Tsuji, K. Sawa, T. Ikuse, E. Shirasawa // Inflamm. Res. – 1999. – V.46, №12. – P. 486-490.

ВЛИЯНИЕ ЭНДОТОКСИНОВ ГРАМНЕГАТИВНОЙ И ГРАМПОЗИТИВНОЙ МИКРОФЛОРЫ НА ИНТЕНСИВНОСТЬ ФИБРИНОЛИЗА В СТЕКЛОВИДНОМ ТЕЛЕ ГЛАЗА КРОЛИКОВ С ПРОНИКАЮЩИМ РАНЕНИЕМ СКЛЕРЫ

Л.В. Ивасюк, Я.И. Пенишкевич

Резюме. Установлено, что в стекловидном теле кроликов с проникающей травмой склеры нарушается структура тканевого фибринолиза: неферментативная фибринолитическая активность в три раза превышает контрольные показатели, тогда как интенсивность ферментативного фибринолиза, напротив, снижается почти на 40%. Через 24 часа после введения в стекловидное тело кроликов с проникающей травмой склеры эндотоксина *Salmonella typhimurium* достоверных изменений интенсивности и структуры тканевого фибринолиза в corpus vitreum не происходит. Интравитреальное введение глюкозоаминилмурамиддипептида приводит к уменьшению неферментативной фибринолитической активности на 33% относительно контроля и на 44% – относительно показателей у кроликов, которым вводили эндотоксин *Salmonella typhimurium*. Интенсивность ферментативного фибринолиза у животных с проникающей травмой склеры, которым вводили глюкозоаминилмурамиддипептид, на 76% выше, чем у кроликов, которым в стекловидное тело вводили эндотоксин *Salmonella typhimurium*.

Ключевые слова: глаз, травма, фибринолиз, эндотоксин *S. typhimurium*, глюкозоаминилмурамиддипептид.

EFFECT OF ENDOTOXINS OF GRAMNEGATIVE AND GRAMPOSITIVE MICROFLORA ON THE INTENSITY OF FIBRINOLYSIS IN THE VITREOUS BODY OF THE RABBITS EYE WITH A PENETRATING WOUND OF THE SCLERA

L.V. Ivasyuk, Ya.I. Pnishkevich

Abstract. It has been established that in the vitreous body of rabbits with a penetrating injury of the sclera the structure of tissue fibrinolysis is disturbed: the nonenzymatic fibrinolytic activity exceeds the control indices three times whereas the intensity of enzymatic fibrinolysis, on the contrary, decreases by almost 40%. No reliable changes of the intensity and structure of tissue fibrinolysis in the corpus vitreum occur in 24 hours following the introduction of the *Salmonella typhimurium* endotoxin into the vitreous body of rabbits with a penetrating wound of the sclera. An intravitreal injection of glucosaminilmuramidipeptide (GAMDP) results in an abatement of the fibrinolysis in the corpus vitreum nonenzymatic fibrinolytic activity by 33% in relation to the control value and by 44% in relation to the parameters in the rabbits which were introduced the *Salmonella typhimurium* endotoxin. Enzymatic fibrinolysis in the animals with a penetrating injury of the sclera, which were injected GAMDP, was higher by 76% than in the animals which were injected *Salmonella typhimurium* endotoxin into the vitreous body.

Key words: eye, injury, fibrinolysis, endotoxin *S. typhimurium*, GAMDP.

Bukovinian State Medical University (Chernivtsi)

*Clin. and experim. pathol. – 2008. – Vol.7, №3. – P. 56-59.
Надійшла до редакції 06.07.2008*

Рецензент – проф. Ю.Є. Роговий