

УДК 616.34-007.253.2-084

*Р.И. Сидорчук, А.М. Плегуца, А.С. Паляница, О.Й. Хомко, Р.П. Кнут*

## **СИСТЕМЫ ПРОТЕОЛИЗА-ФИБРИНОЛИЗА ЭКССУДАТА БРЮШИННОЙ ПОЛОСТИ, ПАРИЕТАЛЬНОЙ И ВИСЦЕРАЛЬНОЙ БРЮШИНЫ И ИХ РОЛЬ В ПАТОГЕНЕЗЕ СПАЕЧНОЙ БОЛЕЗНИ**

*Буковинский государственный медицинский университет, Черновцы*

Патогенез спаечной болезни как результат воспаления брюшины изучен недостаточно, особенно это касается изменений систем протеолиза и фибринолиза. Цель исследования – изучить динамику изменений систем протеолиза и фибринолиза в условиях острого воспаления брюшины, как основной причины формирования спаечного процесса. Работа выполнена в эксперименте на 57 белых крысах линии Wistar с соблюдением всех этических норм. Определяли фибринолитическую и протеолитическую активности плазмы, брюшины и экссудата в течении 12, 24, 48 и 72 часов моделирования острого воспаления брюшины. Для спаечной болезни характерна определённая фазность развития изменений от альтернативного повреждения и неспецифического воспаления, до формирования достаточно дифференцированной соединительной ткани вплоть до изменений дегенеративного характера. Несмотря на возрастание параметров протеолиза в брюшной полости и в организме в целом, в последующем, при отсутствии адекватной коррекции, наступает угнетение фибринолиза-протеолиза, и таким образом, создаются условия для возникновения выраженного спаечного процесса. Коррекция определенных нарушений может быть важным профилактическим средством при воспалительном поражении брюшины.

**Ключевые слова:** спаечный процесс, патогенез, эксперимент, фибринолиз-протеолиз.

Важное значение в развитии спаечного процесса брюшной полости имеют факторы и механизмы неспецифического воспаления, гипоксии и образования соединительнотканых элементов. Но полученные данные не дают полного представления о механизмах, противоположных по действию, то есть обладающих протективным влиянием [1, 6].

Среди таких механизмов, по нашему мнению, следует особо отметить системы протеолиза и фибринолиза ткани париетальной и висцеральной брюшины, а также перитонеального экссудата [2, 4, 5]. Изучение динамики данных показателей при остром воспалительном процессе с локализацией в брюшной полости дает возможность определить наиболее ответственные и значимые индигенные противоадгезивные механизмы.

В связи с вышеизложенным, мы задались **целью** изучить динамику изменений систем протеолиза и фибринолиза в условиях острого воспаления брюшины, как основной причины формирования спаечного процесса и спаечной болезни (СБ).

### **Материал и методы**

В соответствии с поставленными заданиями исследования, работа имеет экспериментальный характер. Выбор такого исследова-

тельного протокола обусловлен существенными методологическими трудностями динамического наблюдения за больными со спаечной болезнью в процессе формирования спаечного процесса, а также необходимостью забора материала для исследования, что связано с многократными повторными оперативными вмешательствами.

Воспалительный процесс моделировали у экспериментальных животных – 57 белых крыс линии Wistar [3]. Все животных подлежали обязательному карантину (10-14 суток) в виварии Буковинского государственного медицинского университета перед осуществлением исследования, осматривались на предмет возможных патологий, беременности и т.д. Для исследования отбирались половозрелые, среднего возраста крысы обоих полов, массой не меньше 200-250 г., без явных признаков заболеваний и с нормальными показателями основных лабораторных тестов (общий анализ крови и мочи), животных кормили один раз по утрам, энергетическая ценность пищи составляла не менее чем от 5,6 до 6,2 кДж на кг массы в сутки, воду давали в неограниченном количестве. В случае необходимости животных дополнительно докармливали, но накануне операции животных переводили на голодную диету.

Наркоз здійснювали внутрібрюшинним или підкожним) введенням необхідного кількості 5% розчину тiopентала натрія (0,05 мг на 100г маси) після премедикації, для якої використовували розчин атропіна сульфата (0,1% – 0,005 мл на 100г ваги), димедрола 1% 0,05 мл. і каліпсол із розрахунок 0,2 мг на 100 г маси тіла тваринного, или з допомогою ефірного наркозу. Етаназію експериментальних тваринних здійснювали згідно етичним стандартам і діючим нормативним рекомендаціям, в стані глибокого наркозу, шляхом введення надлишкової кількості наркотического препарату, или декапінатії під наркозом згідно нормативним актам в сфері біоетики.

Визначення інтенсивності ферментативного (ФФА) і неферментативного (НФА) фібринолізу в біологічних рідинках і біоптатах здійснювали з допомогою азофібрину «Simko Ltd.» (Україна). Стан протейолітическої активності (ПА) плазми крові і гомогенатів тканин касательно різних білкових фракцій оцінювали в реакції з азоальбуміном, азоказеїном і азоколом (азоколагеном) «Біомарк» (Україна) [74]. В качестве контрольного показателя порівняння використовували результати вивчення динаміки змін відповідних показателів в плазмі периферическої крові.

Обробка отриманих баз даних проводилася методами варіаційної статистики з використанням критеріїв W. Gusset (*Student*) і R. Fisher, з використанням програмних пакетів Origin® 7.0 (Microcal Software™/Origin Labs®) і Excel® XP™ build 10.6612.6625-SP3 (Microsoft®), Statistica™ 6.0 (Statsoft® Inc).

## Результати і обговорення

Результати вивчення динаміки змін показателів фібринолітическої активності (ФА) плазми крові експериментальних тваринних при моделюванні гострого запалення брюшини приведені в таблиці 1. Розвиток запалительного процесу в брюшині характеризується суттєвими змінами ФА плазми крові експериментальних тваринних. Уже в період ініціації перитоніта, фактически, коли запалення ще не стало необратимим виявлено різке (почти в 2 рази) угнетення ФА. В подальшому, сумарна фібринолітическа активність (СФА) плазми була достовірно вище на протязі всього періоду спостереження. Тем не менше, визначені достовірні зміни СФА плазми на протязі різних періодів розвитку не спостережали. Очевидно, що значення сумарної ФА плазми залежить від багатьох факторів (гуморального і клітинного імунітету, системи комплемента, лізоцима, специфіческих фібринолітических факторів, плазмин-плазміногена, трипсину, і т.д.) і тому ми здійснили дослідження складових, які формують цей параметр [1, 7]. В частности, вивчена динаміка змін специфіческої ензимзалежної складової ФА (ФФА) і обумовленої дією неспецифіческих факторів фібринолізу (НФА). Фактическі результати вивчення динаміки змін ферментної і неферментної складових ФА при запаленні брюшини також приведені в таблиці 1. Значительний (почти в 2 рази) ріст ФФА спостережається уже в перші доби експерименту. Через 48 годин розвитку патологіческого процесу спостережали незначительний

Таблиця 1.

Показатели фібринолітическої активності плазми крові крыс Wistar (n=25), S±sx

Параметр (Е440/мл/час)	Длительність експерименту				
	Контроль	12 годин	24 годин	48 годин	72 годин
Сумарна ФА	1,07±0,09	0,57±0,04*	0,99±0,05*	1,03±0,08*	0,92±0,08*
Неферментна ФА	0,61±0,06	0,30±0,02*	0,54±0,02*	0,55±0,05*	0,53±0,04*
Ферментна ФА	0,51±0,04	0,28±0,02*	0,46±0,03*	0,47±0,04*	0,39±0,05*

Примечание: \* – p&lt;0,05 (різниця достовірна)

рост ФФА, однако, в отличие от СФА, в последующем (через 72 год) наблюдается достоверная ( $P < 0,05$ ) тенденция к снижению ФФА плазмы крови экспериментальных животных. Следует также отметить, что в этот период на аутопсии экспериментальных животных в большом количестве определяли свежие адгезии и образование сращений.

Показатель НФА плазмы крови значительно возростал через 24 часов моделирования, в течении 48 часов тенденция к его росту сохранялась, однако через трое суток появлялась тенденция к снижению данного показателя, что по нашему мнению подтверждает истощение факторов фибринолиза, как одного из вероятных механизмов предотвращения образования сращений. Наивысшего уровня показатели фибринолитической активности плазмы крови (СФА, НФА, ФФА) достигают через 48 год развития абдоминального сепсиса. Во всех случаях зафиксированная разного уровня достоверности тенденция к снижению ФА через 72 год эксперимента. Тенденцию к снижению всех видов ФА, а больше всего ФФА, склонны объяснять усиленной утилизацией факторов фибринолиза, что возникает как реакция на распространенную микроциркуляторную гиперактивированную коагуляцию воспалительно-реактивного характера в результате транслокации микроорганизмов – возбудителей патологического процесса и продуктов их метаболизма (токсинов) в кровеносное русло, в первую очередь мезентериального дерева. Таким образом, выявленные изменения можно объяснить как вариант проявления защитной реакции на развитие гиперкоагуляции в результате синдрома системной воспалительной реакции и ДВС-

синдрома со следующим истощением физиологических механизмов компенсации и значительным доминированием неферментного фибринолиза. Определение показателей фибринолитической активности плазмы также может иметь реальное диагностическое значение. В частности, значительный рост СФА, а также относительный рост НФА за счет ФФА могут свидетельствовать об ухудшении прогноза и последующем истощении фибринолиза, риске развития СБ. Определение ФА плазмы крови дает представление о развитии ДВЗ-синдрома и в известной мере его роль в развитии нарушений микроциркуляции, что также важно с точки зрения формирования спячного процесса.

Определение интенсивности фибринолиза экссудата брюшной полости показало (табл. 2.), что в общем, воспалительный экссудат обладает более выраженным фибринолитическим потенциалом, что вполне объяснимо, поскольку в очаге воспаления концентрируются различные факторы, проявляющие ФА. Но значительно более информативным оказалось определение динамики изменения показателей фибринолиза в течении эксперимента. Особо следует отметить резкое (практически двукратное) уменьшение СФА выпота при сравнении показателей в начале (12 часов) и в конце (72 часа) эксперимента. Сравнение соответствующих показателей ферментной и неферментной ФА (табл. 2.) экссудата в различные периоды развития воспалительного процесса также подтверждает мысль об угнетении ФА перитонеального выпота с течением воспалительного процесса. Основываясь на данных, изложенных в табл. 2, можно предположить, что ФА ткани воспаленной брюши-

Таблица 2.  
Показатели фибринолитической активности экссудата брюшинной полости крыс Wistar (n=19),  $S \pm sx$

Параметр (Е440/мл/час)	Длительность эксперимента			
	12 часов	24 часа	48 часов	72 часа
Суммарная ФА	1,19±0,09	1,05±0,08	0,69±0,06*	0,64±0,08*
Неферментная ФА	0,62±0,05	0,55±0,05	0,38±0,05*	0,37±0,04*
Ферментная ФА	0,57±0,04	0,50±0,05*	0,31±0,04*	0,28±0,05*

Примечание: \* –  $p < 0,05$  (различия достоверны)

ны также будет иметь подобную тенденцию к уменьшению с течением заболевания.

Данные таблицы 3 свидетельствуют, что инициация воспалительного процесса в полости живота приводит к значительному усилению процессов фибринолиза, что обуславливается действием различных цитокинов, принимающих участие в воспалении. Однако, в дальнейшем, гиперфибринолиз постепенно уменьшается, причем тенденция к постепенному угнетению ФА ткани брюшины наблюдалась в течение всего эксперимента. Сравнение данных динамики ФА различных изученных биологических субстратов позволяет сделать определенные выводы. В частности, наивысшие уровни ФА наблюдались в гомогенате брюшины, а наиболее низкие – в плазме. По-видимому, данный факт объясняется тем, что концентрация факторов, обладающих ФА гораздо выше в очаге воспаления, а также тем, что в ткани брюшины в большом количестве присутствуют многочисленные тканевые факторы, также обладающие ФА. Определение динамики ФА активности биосубстратов имеет значение в определении механизмов адге-

зиообразования, однако еще более необходимым является изучение механизмов протеолиза и динамики изменения данных параметров при остром воспалении брюшины, с целью выяснения роли протеолиза в возникновении спаечного процесса. Поскольку ферментные системы, которые обладают ФА по своему физиологическому действию intimately связаны с протеолитическими ферментами, а часто представлены одними и теми же энзимами, считали целесообразным исследовать активность факторов протеолиза плазмы крови, а также наиболее важных, с точки зрения спайкообразования биосубстратов – экссудата и брюшины.

Как свидетельствуют данные, приведенные в таблице 4, в начальном периоде эксперимента наблюдали существенный рост ПА относительно альбумина, коллагена и казеина (в 2,37, 1,23 и в 2,15 раза соответственно). В течение суток со времени моделирования воспалительного процесса наблюдали существенное снижение ПА плазмы крови относительно основных белковых фракций в сравнении с началом эксперимента. ПА относительно низ-

Показатели фибринолитической активности брюшины крыс Wistar (n=19),  $S \pm sx$

Таблица 3.

Параметр (Е440/мл/час)	Длительность эксперимента			
	12 часов	24 часа	48 часов	72 часа
Суммарная ФА	39,74±1,92	34,86±2,79*	26,25±1,72*	23,55±1,60*
Неферментная ФА	20,36±1,05	17,93±1,44*	13,43±0,87*	12,46±0,81*
Ферментная ФА	19,36±1,08	16,93±1,35*	12,81±0,89*	11,09±0,80*

Примечание: \* –  $p < 0,05$  (различия достоверны)

Показатели протеолитической активности плазмы крови крыс Wistar (n=25),  $S \pm sx$

Таблица 4.

Параметр (Е440/мл/час)	Длительность эксперимента				
	Контроль	12 часов	24 часа	48 часов	72 часа
Протеолиз альбумина	2,81±0,25	6,60±0,17*	3,12±0,18*	4,13±0,24*	3,46±0,12
Протеолиз коллагена	0,63±0,05	0,82±0,06*	0,24±0,05*	0,09±0,02*	0,57±0,08*
Протеолиз казеина	3,40±0,17	7,30±0,25*	5,36±0,14*	5,04±0,06	3,32±0,14*

Примечание: \* –  $p < 0,05$  (различия достоверны)

комолекулярних белков в реакції с азоальбумином снижалась почти вдвое, ПА относительно коллагена – почти в четыре раза, а ПА относительно высокомолекулярного азоказеина уменьшалась на 36,1%.

В дальнейшем также наблюдали волнообразную динамику изменений ПА плазмы крови – тенденцию к росту ПА относительно альбумина через 48 ч эксперимента, которая в дальнейшем изменялась на снижение ПА относительно низкомолекулярных белков; – более чем трёхкратное снижение протеолитической активности относительно коллагена в течение 48 ч со следующим резким ростом этого вида ПА через 72 ч; – по отношению к высокомолекулярным белкам ПА плазмы крови снижалась, как через 48 ч, так и через 72 ч эксперимента.

Таким образом, формирование воспалительного процесса в брюшинной полости сопровождается существенными изменениями ПА плазмы крови относительно всех основных белковых фракций (низкомолекулярных альбуминов, средномолекулярного коллагена и высокомолекулярного казеина). Относи-

тельно всех классов белков характерным является рост ПА плазмы крови только в течение начального периода развития воспаления, а в дальнейшем характерной становится волнообразная кривая распределения протеолитической активности. Следует особо отметить, что для ПА относительно высокомолекулярных белков характерной есть постепенная тенденция к снижению до конца эксперимента.

ПА экссудата брюшинной полости при воспалении (табл. 5.) несколько отличалась от таковой плазмы крови. Важно отметить, что только протеолиз коллагена повышался с течением эксперимента. ПА экссудата по отношению низко- и высокомолекулярным белкам (альбумину и казеину) несколько возрастала, но через 72 часа уменьшалась. Хотя протеолиз коллагена и возрастал с прогрессированием воспалительного процесса, абсолютный показатель интенсивности ПА был самым низким.

Протеолиз высокомолекулярных белков был доминирующим в гомогенате ткани брюшины (табл. 6.), при этом наблюдали рост в течение всего эксперимента. Только в конце на-

Показатели протеолитической активности экссудата брюшинной полости крыс Wistar (n=19), S±sx

Таблица 5.

Параметр (Е440/мл/час)	Длительность эксперимента			
	12 часов	24 часа	48 часов	72 часа
Протеолиз альбумина	2,45±0,09	3,52±0,04*	2,30±0,05	1,89±0,07*
Протеолиз коллагена	0,08±0,01	0,05±0,01*	0,06±0,01*	0,19±0,02*
Протеолиз казеина	3,31±0,17	5,65±0,34*	5,08±0,13*	3,10±0,16

Примечание: \* – p<0,05 (различия достоверны)

Показатели протеолитической активности брюшины крыс Wistar (n=19), S±sx

Таблица 6.

Параметр (Е440/мл/час)	Длительность эксперимента			
	12 часов	24 часа	48 часов	72 часа
Протеолиз альбумина	29,32±1,09	25,37±0,95	53,37±2,54*	49,23±2,07*
Протеолиз коллагена	8,11±0,46	61,22±11,09 *	16,37±1,27*	8,59±0,64
Протеолиз казеина	38,49±0,99	101,76±3,55*	105,07±2,04*	99,76±3,15*

Примечание: \* – p<0,05 (различия достоверны)

блюдення появилася тенденція к уменьшению этого показателя. Важно отметить, что, невзирая на почти восьмикратное увеличение коллагенолиза, через 72 часа интенсивность протеолиза коллагена уменьшалась до уровня исходных величин.

### **Выводы**

1. Для спаечной болезни присуща определённая фазность развития изменений от альтернативного повреждения и неспецифического воспаления, до формирования достаточно дифференцированной соединительной ткани вплоть до изменений дегенеративного характера.

2. Несмотря на возрастание параметров протеолиза в брюшной полости и в организме в целом, в последующем, при отсутствии адекватной коррекции, наступает угнетение фибринолиза-протеолиза, и таким образом, создаются условия для возникновения выраженного спаечного процесса.

Перспектива дальнейших исследований состоит в разработке методов коррекции выявленных нарушений.

### **СИСТЕМИ ПРОТЕОЛІЗУ ТА ФІБРИНОЛІЗУ ЕКСУДАТУ ОЧЕРЕВИННОЇ ПОРОЖНИНИ, ПАРІЄТАЛЬНОЇ ТА ВІСЦЕРАЛЬНОЇ ОЧЕРЕВИНИ ТА ЇХ РОЛЬ У ПАТОГЕНЕЗІ СПАЙКОВОЇ ХВОРОБИ**

*Р.І. Сидорчук, О.М. Плегуща, А.С. Паляниця, О.Й. Хомко, Р.П. Кнут*

Патогенез спайкової хвороби як результат запалення очеревини вивчено недостатньо, особливо це стосується змін системи протеолізу та фібринолізу. Мета дослідження – вивчити динаміку змін систем протеолізу та фібринолізу за умов гострого запалення очеревини, як основної причини формування спайкового процесу. Робота виконана в експерименті на 57 білих щурах лінії Wistar з дотриманням усіх етичних норм. Визначали фібринолітичну та протеолітичну активності плазми, очеревини та ексудату упродовж 12, 24, 48 і 72 годин моделювання гострого запалення очеревини. Для спайкової хвороби характерна певна фазність розвитку змін від альтеративного пошкодження та неспецифічного запалення до формування достатньо диференційованої сполучної тканини та змін дегенеративного характеру. Незважаючи на тимчасове зростання параметрів протеолізу у очеревинній порожнині, у наступному, за відсутності адекватної корекції, настає пригнічення протеолізу-фібринолізу і, таким чином, створюються умови для виникнення вираженого спайкового процесу. Корекція визначених порушень може бути важливим профілактичним засобом при запальному ураженні очеревини.

**Ключові слова:** спайковий процес, патогенез, експеримент, фібриноліз-протеоліз.

### **SYSTEMS OF PROTEOLYSIS AND FIBRINOLYSIS OF PERITONEAL CAVITY EXUDATE, PARIETAL AND VISCERAL PERITONEUM AND THEIR ROLE IN PATHOGENESIS OF ADHESIONS DISEASE**

*R.I. Sydorчук, J.M. Plehutsa, A.S. Palianytsia, O.Y. Khomko, R.P. Knut*

Pathogenesis of adhesion disease as a result of peritoneal inflammation is insufficiently studied, especially this is related to systems of proteolysis and fibrinolysis. Aim of the study – to study dynamics of proteolysis and fibrinolysis systems under conditions of acute peritoneal inflammation as a main cause of adhesion formation. The study was performed on 57 white rats of Wistar breed with maintenance of all ethic norms. The fibrinolytic and proteolytic activities of plasma, peritoneum and exudate were determined during 12, 24, 48, and 72 hours of acute inflammation of peritoneum modeling. For the adhesions disease the certain staging of development of changes from alteration damage and nonspecific inflammation to formation sufficiently differentiated connective tissue, and changes of degenerative character is characteristic. Despite the temporary growth of parameters of proteolysis in the abdominal cavity in the sequel in case of absence of adequate correction the depression of proteolysis-fibrinolysis comes and the conditions for beginning of pronounced adhesion process form. The correction of determined violations may be an important prophylactic mean in the inflammatory damage of peritoneum.

**Key words:** adhesion process, pathogenesis, experiment, proteolysis-fibrinolysis.

### **ЛИТЕРАТУРА**

1. Боднар О.Б. Етіологія, патогенез та прогнозування виникнення спайкової хвороби у дітей на сучасному етапі розвитку абдомінальної хірургії, (огляд літератури) / О.Б. Боднар, В.З. Москаленко // Науковий вісник Ужгородського університету. – 2002. – №17. – С. 143-147.
2. Гобеджишвили В. Прогнозирование и профилактика развития спаечного процесса у больных, оперированных на органах брюшной полости / В. Гобеджишвили, М. Лаврешин, Р. Гезгиева // Анналы хирургии. – 2006. – № 3. – С. 42-45.
3. Сидорчук Р.І. Абдомінальний сепсис. / Р.І. Сидорчук – Чернівці: Вид-во БДМУ, 2006. – 482 с.
4. Чемоданов Е.Б. Спаечная болезнь брюшной полости, как фактор риска ранней спаечной кишечной непроходимости (РСКН) в абдомінальной хирургии / Е.Б. Чемоданов, В.В. Жебровский // Хірургія України. – 2003. – №3. – С. 140-143.
5. ten Raa S. The role of neutrophils and oxygen free radicals in post-operative adhesions / S. ten Raa, M.P. van den Tol, W. Sluiter [et al.] // J. Surg. Res. – 2006. – № 136 (1). – P. 45-52.
6. Treutner K.H. Prevention of adhesions. Wish and reality / K.H. Treutner, V. Schumpelick // Chirurg. – 2000. – № 71 (5). – P. 510-517.
7. Yagmurlu A. Reduction of surgery-induced peritoneal adhesions by continuous release of streptokinase from a drug delivery system / A. Yagmurlu, M. Barlas, I. Gursel, I.H. Gokcora // Eur. Surg. Res. – 2003. – № 35 (1). – P. 46-49.

Стаття надійшла 18.02.2011