УДК 616.127-005.4+616.25+616.15.96:612.44

ТИРЕОЇДОПОСЕРЕДКОВАНІ ЗМІНИ ПРОКОАГУЛЯНТНОЇ І ФІБРИНОЛІТИЧНОЇ АКТИВНОСТІ ТКАНИН ПЛЕВРИ У ХВОРИХ НА ІШЕМІЧНУ ХВОРОБУ СЕРЦЯ

С. Є. Глазунов, О. А. Хрєнов, В. М. Федосєєва, Л. І. Слобожан,
ДУ «Кримський державний медичний університет ім. С. І. Георгієвського», м. Сімферополь

В експерименті in vitro вивчалася коагуляційна і фібринолітична активність крові здорових донорів під впливом тироксину та екстрактів тканин плеври померлих хворих на ішемічну хворобу серця (ІХС) без плеврального випоту і з транссудатом. Виявлено тиреоїдопосередковану динаміку прокоагулянтної і фібринолітичної активності на рівні парієтальної і вісцеральної плеври в бік переважання активності фібринолітичних факторів. Обговорюється роль цих змін у розвитку гідротораксу при ІХС за рахунок підвищення проникності і порушення реканалізації плевральної щілини.

Ключові слова: *гемостаз, фібриноліз, гідроторакс, ішемічна хвороба серця, тироксин.*

В эксперименте in vitro изучалась коагуляционная и фибринолитическая активность крови здоровых доноров под влиянием тироксина и экстрактов тканей плевры умерших больных ишемической болезнью сердца (ИБС) без плеврального выпота и с транссудатом. Выявлена тиреоидопосредованная динамика прокоагулянтной и фибринолитической активности на уровне париетальной и висцеральной плевры в сторону преобладания активности фибринолитических факторов. Обсуждается роль этих изменений в развитии гидроторакса при ИБС за счет повышения проницаемости и нарушения реканализации плевральной щели.

Ключевые слова: *гемостаз, фибринолиз, гидроторакс, ишемическая болезнь сердца, тироксин.*

Вирішення проблеми підвищення ефективності лікування ішемічної хвороби серця (ІХС) багато в чому пов'язане з подальшим розшифруванням дисбалансу нейроімуноендокринної системи [1, 2, 3, 4, 5]. У зв'язку з цим особливий інтерес становить субклінічне порушення синтезу T_3, виявлене у багатьох пацієнтів з ІХС, ускладненою застійної хронічною серцевою недостатністю (ХСН) [6, 7]. Ці факти послужили науковим аргументом на користь використання тиреоідних гормонів та їх аналогів у лікуванні декомпенсованих форм ІХС [9]. У хворих ХСН із синдромом низького T_3 прогресування порушень серцевого викиду і скорочувальною здатності міокарда пов'язані у тому числі з T_3-регульованої експресією кардіоміоцитами певних генів [8]. При дуже тяжкій декомпенсованій ХСН, крім зменшення сироваткового рівня T_3 (при нормальному вмісті ТТГ), зменшується і сироватковий рівень T_4, що розцінюється як наростання порушень тиреоїдного статусу [10].

У структурі клінічних форм ХСН особливий науковий інтерес становлять декомпенсовані форми, що ускладнилися розвитком гідротораксу [4]. Встановлено, що навіть "м'яке" (субклінічне) зниження рівня тиреоїдних гормонів супроводжується підвищенням черезкапілярної проникності як для рідини, так і для білка, сприяючи, зокрема, розвитку периферичних набряків і асциту [11, 12].

Загальною **метою дослідження** було наукове обґрунтування доцільності використання та оцінка клінічної ефективності застосування замісної гормональної

терапії (тіреоідні гормони) в комплексному лікуванні хворих із застійною серцевою недостатністю з гідроторакс при синдромі низького трийодотироніну. У рамках зазначеної мети в статті подані результати вітральних експериментів, що документують вплив тироксину на фібринолітичні та прокоагулянтні властивості парієтальної і вісцеральної плеври у хворих із ХСН.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Обстежено 20 померлих хворих: 1-шу групу становили 11 померлих хворих ХСН без плеврального випоту, 2-гу групу становили 9 померлих хворих ХСН із прижиттєво діагностованим плевральним випотом (транссудатом). Матеріалом дослідження у хворих 1-ї та 2-ї груп були отримані при аутопсії зразки тканин парієтальної і вісцеральної плеври. Смерть у хворих 1-ї та 2-ї груп настала з коротким агональним періодом. При цьому ми враховували, що раптова смерть – це природна і тому найбільш цінна модель регіонарного гомеостатичного потенціалу [1]. Забір тканин плеври у всіх померлих людей здійснювався в інтервалі до 6:00 з моменту смерті. Контрольну групу становили 27 здорових осіб.

Екстракти тканин парієтального і вісцерального листків серозної оболонки плеври готувалися з використанням методики Скіпетрова В. П. і співавт. (1979) [5], згідно з якою взяті при патологоанатомічному дослідженні померлих хворих шматочки парієтального і вісцерального листків серозної оболонки плеври ретельно відмивали від крові, висушували фільтрувальним папером, зважували, заливали десятикратною кількістю фізіологічного розчину і розтирали до гомогенного стану. Гомогенати центрифугували при 1500 об/хв впродовж 5 хв. Для дослідження використовували надосадову рідину у вихідній концентрації 1:10. Для визначення впливу екстрактів на показники гемостазу в стандартні реакції на етапі поставлення реакції вводили 0,05 мл екстракту тканини. Визначення фібринолітичної (активаторної) активності екстрактів тканин і динаміки показника під впливом тироксину здійснювали методом введення екстрактів на різних етапах поставлення реакції з кров'ю здорових донорів [7]. Для вивчення впливу тироксину на фібринолітичну активність крові паралельно проводили ще один експеримент (досвід 2) з екстрактами тканин, попередньо проінкубованих з 0,25 мкг/1 мл L-тироксину (хімічної компанії SIGMA, США). Для оцінки прокоагулянтних властивостей тканин плеври використаний метод визначення часу рекальцифікації плазми здорових донорів, до якої на етапі поставлення реакції вводився тканинний екстракт.

Визначення T_4 і T_3 в екстрактах тканин плеври проводили з використанням тест-систем для кількісного імуноферментного аналізу "T_4 ІФА діаплюс" (сумарна концентрація білково-зв'язаної і незв'язаної форм T_4), "T_3 ІФА діаплюс" (сумарна концентрація білково-зв'язаної і незв'язаної форм T_3) (Москва).

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Фібринолітичні властивості екстрактів тканин плеври вивчалися нами в трьох серіях дослідів. Як зазначалося вище, екстракти вводилися на відповідних етапах поставлення еуглобулінового тесту з кров'ю здорових донорів. Отримані результати наведені в табл. 1.

Аналіз наведених у табл. 1 даних свідчить, що в І серії дослідів, коли в реагуючу суміш додавали 0,5 мл екстракту вихідної концентрації, у хворих 1-ї групи екстракти вісцеральної плеври стимулювали фібриноліз в 1,6 раза більше, ніж екстракти парієтальної плеври, а у хворих 2-ї групи – в 1,5 раза більше. Порівняно з контролем (фібринолітична активність периферичної крові здорових осіб, умовно взята за 100,0%) екстракти парієтальної плеври у зазначеній серії дослідів стимулюють фібриноліз у хворих 1-ї групи на 133,1 % ($p < 0,001$), у хворих 2-ї групи – на 166,0 % ($p < 0,001$), екстракти вісцеральної плеври – відповідно на 261,6 % ($p < 0,001$) та 294,1 % ($p < 0,001$). Під впливом преінкубації зразків тканин із тироксином (дослід 2) має місце інгібіція фібринолітичної активності плеври: екстракти парієтальної плеври

знижують (порівняно з дослідом 1) досліджений показник у хворих 1-ї групи на 11,0 % ($p_2 < 0,02$), у хворих 2-ї групи – на 16,8 % ($p_2 < 0,001$), екстракти вісцеральної плеври – відповідно на 10,1 % ($p_2 < 0,01$) і на 14,0 % ($p_2 < 0,001$).

Таблиця 1 – Тироксинозалежні фібринолітичні (активність активатора плазміногена) властивості екстрактів тканин плеври померлих хворих 1-ї та 2-ї груп,%

Розведення екстрактів	Стат. показник	Парієтальна плевра		Вісцеральна плевра	
		1-ша група	2-га група	1-ша група	2-га група
I серія дослідів (вводиться 0,5 мл екстракту в реагуючу суміш перед інкубацією в холодильнику)					
1:10 (дослід 1, без тироксину)	M ± m n p p_1	233,1 ± 7,4 11 < 0,001 –	266,0 ± 7,8 9 < 0,001 < 0,01	361,6 ± 9,2 11 < 0,001 –	394,1 ± 9,4 9 < 0,001 < 0,02
1:10 (дослід 2, із тироксином)	M ± m n p p_1 p_2	207,5 ± 7,1 11 < 0,001 – < 0,02	221,2 ± 6,9 9 < 0,001 < 0,2 < 0,001	325,0 ± 8,7 11 < 0,001 – < 0,01	339,1 ± 9,2 9 < 0,001 < 0,5 < 0,001
II серія дослідів (вводиться 0,1 мл екстракту в реагуючу суміш перед інкубацією в холодильнику)					
1:10 (дослід 1, без тироксину)	M ± m n p p_1	165,2 ± 5,7 11 < 0,001 –	187,8 ± 6,0 9 < 0,001 < 0,02	259,2 ± 8,8 11 < 0,001 –	295,2 ± 9,0 9 < 0,001 < 0,01
1:10 (дослід 2, із тироксином)	M ± m n p p_1 p_2	150,3 ± 5,8 11 < 0,001 – < 0,1	161,0 ± 5,8 9 < 0,001 < 0,5 < 0,01	234,5 ± 8,7 11 < 0,001 – < 0,1	241,6 ± 8,6 9 < 0,001 > 0,5 < 0,001
III серія дослідів (вводиться 0,1 мл екстракту безпосередньо в еуглобулінову фракцію після розчинення її в боратному буфері)					
1:10 (дослід 1, без тироксину)	M ± m n p p_1 p_3	110,9 ± 4,8 11 < 0,05 – < 0,001	133,0 ± 5,3 9 < 0,001 < 0,01 < 0,001	219,8 ± 7,7 11 < 0,001 – < 0,01	238,0 ± 8,3 9 < 0,001 < 0,2 < 0,001
1:10 (дослід 2, із тироксином)	M ± m n p p_1 p_2 p_3	106,4 ± 4,9 11 < 0,5 – > 0,5 < 0,001	117,2 ± 5,0 9 < 0,01 < 0,2 < 0,05 < 0,001	198,3 ± 7,1 11 < 0,001 – < 0,1 < 0,01	206,3 ± 7,3 9 < 0,001 < 0,5 < 0,01 < 0,01
Здорові люди (кров)	M ± m n	100,0 ± 1,4 20			

Примітка. Активність активатора плазміногена в крові здорових людей умовно взята за 100%; p – достовірність відмінностей, вирахувана порівняно з відповідним показником у крові здорових людей; p_1 – достовірність відмінностей, вирахувана порівняно з відповідним показником у хворих 1-ї групи (відповідний листок плеври); p_2 – достовірність відмінностей, вирахувана порівняно з відповідним показником у досліді 1 у тій самій групі хворих; p_3 – достовірність відмінностей між відповідними показниками в II і III серіях дослідів

У II серії дослідів, метою якої є визначення стійкості до розведення тканинних активаторів фібринолізу, нами встановлено, що у хворих 1-ї та 2-ї груп активність активаторів (у досліді 1, без преінкубації тканин із тироксином) в екстрактах парієтальної плеври зберігається.

Зазначені факти свідчать, що основну роль у формуванні фібринолітичного потенціалу плевральних порожнин (у тому числі за рахунок вимивання з кровотоком тканинних фібринолітичної активності факторів) відіграє вісцеральна плевра. Встановлено також, що в II серії дослідів під впливом тироксину фібринолітична активність екстрактів як парієтальної, так і вісцеральної плеври достовірно знижується тільки в осіб 2-ї групи. Таким чином, тільки в осіб із гідротораксом система тиреоід-залежної регуляції регіонарного (плевра) фібринолітичного потенціалу (очевидно внаслідок закону біологічної доцільності) функціонує "більш надійно".

Достовірна різниця у фібринолітичній активності екстрактів у II і III серіях дослідів, виявлена нами у хворих 1-ї та 2-ї груп (у III серії дослідів 0,1 мл екстракту вносили не в реагуючу суміш перед інкубацією в холодильнику, а в отриману з контрольної плазми еуглобулінову фракцію після розчинення її в боратному буфері), свідчить про наявність у тканинах як парієтальної, так і вісцеральної плеври невеликої кількості інгібіторів фібринолітичного процесу. Встановлено також, що під впливом тироксину інгібіторна активність тканин статистично достовірно зростає. Можна припустити відносний характер підвищення інгібіторного потенціалу тканин плеври – за рахунок зниження активності тканинних фібринолітичних факторів.

Таким чином, отримані нами результати доводять можливість тиреоід-залежних змін фібринолітичного потенціалу тканин плеври, що може формувати внутрішній (плевра – плевральна щілина) контур саморегуляції (самопідтримки) патологічного процесу в самій плеврі: порушення можливостей надходження рідини в плевральну порожнину (переважно – легенева плевра) та/або можливостей виведення рідини з плевральної порожнини (переважно – міжреберна плевра).

Потрібно також ураховувати, що виявлену нами здатність тироксину знижувати фібринолітичну активність тканин плеври (з урахуванням безпосереднього впливу плеври на порожнинний (плевральну щілину) фібриноліз можна розцінити як суттєвий саногенетичний механізм, спрямований на нормалізацію реканалізації плевральної порожнини.

Результати дослідження тироксинозалежного впливу екстрактів плеври на час рекальцифікації плазми здорових донорів подані в табл. 2.

З табл. 2 бачимо, що у хворих 1-ї, і 2-ї груп парієтальний листок серозної оболонки має більш виражені прокоагулянтні властивості, ніж вісцеральний листок. При цьому в осіб з прижиттєво діагностованим гідротораксом (2-га група) суттєвої різниці в прокоагулянтній активності вісцеральної плеври порівняно з особами 1-ї групи не виявлено. Встановлено також, що у хворих 2-ї групи прокоагулянтна активність екстрактів тканин pleura parietalis на 17,0% ($p1 < 0,05$) вища, ніж у хворих 1-ї групи. Останнє, на нашу думку, свідчить, що в осіб з гідротораксом більш глибокі, ніж у хворих ХСН без плеврального синдрому, порушення в системі гемокоагуляції/фібриноліз саме на рівні парієтальної плеври (яка має значно більші можливості щодо виведення (всмоктування) рідини з плевральної щілини порівняно з вісцеральним листком) можуть бути важливою ланкою патогенезу плеврального випоту. Результати наших досліджень також свідчать, що безпосередній вплив тироксину на прокоагулянтний потенціал плеври (за тестом час рекальцифікації плазми) відсутній.

Результати дослідження рівнів T_4 і T_3 в екстрактах тканин плеври (отриманих post mortem) у хворих 1-ї та 2-ї груп у вихідному розведенні 1:10 подані в табл. 3.

При оцінці отриманих результатів необхідно враховувати, що використані нами для дослідження T_4 і T_3 тест-системи для кількісного одностадійного конкурентного твердофазного імуноферментного аналізу дозволяють визначати відповідні гормони в будь-яких біологічних середовищах, а діапазон чутливості тест-систем, зазначений у доданих інструкціях, також дозволяє отримати коректні результати при 7-кратному розведенні досліджуваних біологічних середовищ (наприклад, сироватки або плазми крові).

Таблиця 2 – Вплив тироксину на прокоагулянтні властивості екстрактів тканин плеври померлих хворих 1-ї та 2-ї груп (за впливом екстрактів тканин плеври на час рекальцифікації плазми здорових донорів), с

Розведення екстрактів	Стат. показник	Парієтальна плевра		Вісцеральна плевра	
		1-ша група	2-га група	1-ша група	2-га група
1:10 (дослід 1, без тироксина)	M ± m n p p_1	61,6 ± 3,5 11 < 0,001 –	51,1 ± 3,2 9 < 0,001 < 0,05	80,5 ± 3,9 11 < 0,001 –	83,2 ± 4,0 9 < 0,001 > 0,5
1:10 (дослід 2, із тироксином)	M ± m n p p_1 p_2	63,8 ± 3,6 11 < 0,001 – > 0,5	55,6 ± 3,4 9 < 0,001 < 0,1 < 0,5	84,6 ± 4,0 11 < 0,001 – < 0,5	85,2 ± 4,2 9 < 0,001 > 0,5 > 0,5
Здорові люди (кров)	M ± m n	113,7 ± 1,9 27			

Примітка: p – достовірність відмінностей, вирахувана порівняно з показником у крові здорових людей; p1 – достовірність відмінностей, вирахувана порівняно з відповідним показником у хворих 1-ї групи (відповідний листок плеври); p2 – достовірність відмінностей, вирахувана порівняно з відповідним показником у досліді 1 у тій самій групі хворих

Таблиця 3 – Рівні T_4 і T_3 в екстрактах тканин плеври у хворих 1-ї та 2-ї груп у вихідному розведенні 1:10,% (за 100% умовно взятий рівень гормону в крові у здорових осіб)

Показник	Стат. показн.	Здорові люди (кров)	Парієтальна плевра		Вісцеральна плевра	
			1-ша група	2-га група	1-ша група	2-га група
T_4	M ± m n p p_1	100,0 ± 0,7 27 – –	23,6 ± 2,6 11 < 0,001 –	У 7 хворих у доступному для методу діапазоні концентрацій T_4 не виявлено	17,5 ± 1,9 11 < 0,001 –	9,6 ± 0,8 9 < 0,001 < 0,001
T_3	M ± m n p p_1	100,0 ± 0,8 27 – –	16,5 ± 1,6 11 < 0,001 –	У 9 хворих у доступному для методу діапазоні концентрацій T_3 не виявлено	12,6 ± 0,8 11 < 0,001 –	У 9 хворих у доступному для методу діапазоні концентрацій T_3 не виявлено

Примітка: p – достовірність відмінностей, вирахувана порівняно з відповідним показником у крові здорових людей; p_1 – достовірність відмінностей, вирахувана порівняно з відповідним показником у хворих 1-ї групи (відповідний листок плеври)

Під час аналізу поданих у табл. 3 даних, на нашу думку, найбільш логічно проводити оцінку не стільки цифрового матеріалу, скільки самого факту або наявності, або відсутності (в доступному для методу діапазоні концентрацій) гормону в тканинному екстракті. Так, звертає на себе увагу, що в тканинах pleura parietalis у хворих 2-ї групи виявити як загальний T_4, так і загальний T_3 за допомогою використаних нами тест-систем не вдалося. Враховуючи, що у хворих 1-ї групи загальний T_4 і загальний T_3 в екстрактах тканин парієтальної плеври визначається у всіх 11 випадках, можна припустити, що навіть при фізіологічному рівні вмісту загального T_4 в периферичному кровотоці у хворих із прижиттєво діагностованим гідротораксом (2-га група) має місце дисбаланс метаболізму тиреоїдних гормонів на рівні тканин, що характеризується або порушенням механізмів "доставки" гормонів ЩЗ у тканини, або його підвищеним споживанням in loko morbi, з утворенням великих кількостей гормонально неактивного реверсивного Т3, який не виявляється тест-системою. Звичайно, такий висновок можна зробити з певною часткою

умовності (з урахуванням посмертних змін гормонального фону при короткому агональному періоді) та з урахуванням результатів дослідження хворих 1-ї та 2-ї груп, оскільки прижиттєве дослідження рівня загального T_4 та загального T_3 у хворих 1- і 2-ї груп не проводилося.

ВИСНОВКИ

1. Доведено можливість тиреоідопосередкованих змін системи гемокоагуляції/фібриноліз на рівні тканин плеври (як парієтального, так і вісцерального листків) у бік переважання активності фібринолітичних факторів. Зазначені зміни можуть лежати в основі розвитку гідротораксу: підвищення проникності (переважно – вісцеральна плевра) і порушення реканалізації (переважно – парієтальна плевра) плевральної щілини.

2. Дано наукове обґрунтування використання лікувальної корекції рівня тиреоїдних гормонів для підвищення ефективності лікування плеврального випоту незапального характеру за рахунок корекції дисбалансу в системі гемокоагуляція/фібриноліз на рівні тканин плеври.

SUMMARY

THYROID-MEDIATED CHANGES OF COAGULATIVE AND FIBRINILYTIC ACTIVITY AT THE LEVEL OF PLEURAL TISSUE IN PATIENTS WITH CORONARY HEART DISEASE

Glasunov S. E., Khrenov A. A., Fedosyeyeva V. M., Slobozhan L. I.

The coagulative and fibrinilytic activity of health donor blood upon the influence of thyroxin and pleural tissue extracts of dead patients with coronary heart disease (CHD) with and without of pleural transudate was investigated in vitro. Thyroid-mediated changes of coagulate and fibrinilytic activity with the predominance of fibrinilytic activity at the level of parietal and visceral pleura were revealed. The role of these changes in the development of hydrothorax in CHD due to increased permeability and disorders of recanalization of pleura is discussing.

Key words: *haemostasis, fibrinolysis, hydrothorax, coronary heart disease, thyroxin*.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРИ

1. Братчик А. М. Клинические проблемы фибринолиза. – К. : Здоров'я, 1993. – 344 с.
2. Воронков Л. Г. Замедление прогрессирования сердечной недостаточности: возможности врача сегодня и завтра // Укр. кардіол. журн. – 1999. – № 2. – С. 5–9.
3. Диагностика и терапия хронической сердечной недостаточности / Д. В.Преображенский, Б. А. Сидоренко, Н. Е. Романова и др. // Хроническая сердечная недостаточность. – 2002.– Том 4, № 11. – С. 3–21.
4. Кушаковский М. С. Хроническая застойная сердечная недостаточность.– СПб.: Фолиант, 1998. – 317 с.
5. Скипетров В. П. Гемокоагуляционные свойства слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта / Скипетров В. П., Потапкина Н. А., Чернышев В. А. // Клин. хирургия. – 1976. – № 5. – С. 44−47.
6. Al-Khader A. A., Aber G. M. The relationship between the 'idiopathic oedema syndrome' and subclinical hypothyroidism // Clin. Endocrinol. (Oxf). – 1999. – Vol. 10, № 3. – P. 271–279.
7. Astrup T. The methods for estimation fibrinolytic activity / T. Astrup // Arch. Bioch. Bioph. – 1972. – Vol. 147. – P. 406–409.
8. Danzi S. Thyroid hormone-regulated cardiac gene expression and cardiovascular disease / Danzi S., Klein I. // Thyroid. – 2002. – Vol.12, № 6. – P. 467–472.
9. Dillmann W. H. Cellular action of thyroid hormone on the heart / W. H. Dillmann // Thyroid. – 2002. – Vol. 12, № 6. – P. 447–52.
10. Flattet A. Euthyroid sick syndrome / Flattet A., Burger A. G. // Schweiz. Med. Wochenschr. – 1996. – Vol. 8(116), № 6. – P. 169–172.
11. Isolated ascites revealing a hypothyroidism. Study of 2 cases / J. Desrame, P. Mathurin, R. Rozov, et al. // Gastroenterol. Clin. Biol. – 1998. – Vol. 22, № 8-9. – P. 732–725.
12. Wheatley T. Mild hypothyroidism and oedema: evidence for increased capillary permeability to protein / Wheatley T., Edwards O. // Clin. Endocrinol. (Oxf). – 1993. – Vol. 18, № 6. – P. 627–635.
13. Глазунов С. Е. Динамика общей фибринолитической, активаторной и плазминовой активности крови и плеврального выпота под влиянием тироксина у больных хронической сердечной недостаточностью и плевральным синдромом различной этиологии / С. Е. Глазунов, А. А. Хренов // Пробл. достиж. персп. разв. мед.-биол. наук и практ. здравоохр.: труды Крымского гос. мед. ун-та им. С. И. Георгиевского. – 2007.– Т. 143, Ч. I. – С. 25–29.

Надійшла до редакції 29 березня 2012 р.