УДК 615.275.017:616.151.5 – 092.9 https://doi.org/10.24959/ubphj.17.136

О. М. Горошко[1], І. І. Заморський[1], О. С. Шпичак[2], Н. С. Богдан[1], А. О. Паламар[1], В. М. Драчук[1]

[1]Вищий державний навчальний заклад України «Буковинський державний медичний університет»
[2]Національний фармацевтичний університет

Вплив ліпофлавону на фібринолітичну активність у здорових щурів при тривалому введенні

Система фібринолізу тісно пов'язана з функціональною активністю нирок. Тому характеристика фібринолітичної системи крові та інших рідин організму потрібна для об'єктивного визначення стану нирок, особливо в екстремальних ситуаціях.

Мета роботи. Вивчити вплив ліпофлавону на фібринолітичну активність у сечі, плазмі крові та тканині нирок у динаміці при тривалому використанні цього препарату за умов фізіологічної норми.

Матеріали та методи. Експериментальні дослідження проводилися на білих щурах. Піддослідні тварини були розподілені на такі групи: 1 – контроль, 2 – тварини, які отримували ліпофлавон. Препарат вводили внутрішньоочеревинно в дозі 370 мг/кг, що відповідає 10 мг/кг в перерахунку на кверцетин. Декапітацію тварин проводили на 24 год, 48 год, 96 год та 7 добу експерименту. Матеріалами дослідження були сеча, плазма крові, сироватка крові, гомогенати нирок. Тканинний фібриноліз у нирках, сечі та плазмі крові оцінювали шляхом визначення лізису азофібрину з оцінкою сумарної, неферментативної і розрахункової ферментативної фібринолітичної активності.

Результати та їх обговорення. Проведені дослідження показали, що після застосування ліпофлавону спостерігалися зміни фібринолітичної активності в організмі щурів. При тривалому введенні сильніший вплив на фібринолітичну активність у щурів виявляв ліпофлавон у плазмі крові та сечі з меншим впливом на тканини нирок. При цьому слід відмітити, що дія препарату була більш вираженою в перші години експерименту та поступово зменшувалася до сьомої доби.

Висновки. Препарат кверцетину ліпофлавон підсилює фібринолітичну активність у здорових щурів. Більш за все вплив препарату спостерігається у сечі та плазмі крові.

Ключові слова: *тканини нирок; плазма крові; фібриноліз; ліпофлавон*

O. Horoshko, I. Zamorskyy, O. Shpychak, N. Bohdan, A. Palamar, V. Drachuk

Influence of prolonged exposure to lipoflavon on fibrinolytic activity in rats

Topicality. The fibrinolysis system is closely connected to functional activity of the kidneys. That is why characteristic of fibrinolytic system of blood and other organism fluids is necessary for objective evaluation of kidneys condition, particularly in case of emergencies.

Aim. To analyse influence of Lipoflavon on fibrinolytic activity in urine, blood plasma and kidney tissues in its dynamics in case of prolonged exposure of a physiologically normal organism to influence of this medicine.

Materials and methods. The experimental study has been performed on albino laboratory rats. The research animals were divided into the following groups: 1 – control group, 2 – animals treated by Lipoflavon. The medicine was administered intra-abdominally at a dose of 370 mg/kg corresponding to 10 mg/kg of quercetin equivalent. The animals were killed at the 24-th hour, at the 48-th hour, at the 967-th hour and on the 7th day of the experiment. The materials under study were urine, blood plasma, blood serum and kidney homogenates. Tissue fibrinolysis in kidneys, urine and blood plasma was evaluated by means of determination of azofibrin lysis combined with evaluation of overall, non-enzymatic and rated enzymatic fibrinolytic activity.

Results and discussion. The study performed showed that changes of fibrinolytic activity in organisms of rats were present after administration of Lipoflavon. After prolonged exposure stronger influence of Lipoflavon on fibrinolytic activity of rats in blood plasma and urine became apparent, while its influence in kidney tissues was less significant. It is to mention that the strongest effect of the drug was observed during the first hours of the experiment; it was gradually decreasing in the course of the following seven days.

Conclusions. The quercetin preparation "Lipoflavon" increases fibrinolytic activity in organisms of healthy rats. The strongest influence was registered in blood plasma and urine.

Key words*: kidney tissues; blood plasma; fibrinolysis; Lipoflavon*

О. М. Горошко, И. И. Заморский, О. С. Шпичак, Н. С. Богдан, А. А. Паламар, В. М. Драчук

Влияние липофлавона на фибринолитическую активность у здоровых крыс при длительном введении

Система фибринолиза тесно связана с функциональной активностью почек. Поэтому характеристика фибринолитической системы крови и других жидкостей организма нужна для объективного определения состояния почек, особенно в экстремальных ситуациях.

Цель работы. Изучить влияние липофлавона на фибринолитическую активность в моче, плазме крови и ткани почек в динамике при длительном использовании этого препарата в условиях физиологической нормы.

Материалы и методы. Экспериментальные исследования проводились на белых крысах. Подопытные животные были разделены на следующие группы: 1 – контроль, 2 – животные, которые получали липофлавон. Препарат вводили внутрибрюшинно в дозе 370 мг/кг, что соответствует 10 мг/кг в пересчете на кверцетин. Декапитацию животных проводили на 24 ч, 48 ч, 96 ч и 7 сутки эксперимента. Материалами исследования были моча, плазма крови, сыворотка крови, гомогенаты почек. Тканевый фибринолиз в почках, моче и плазме крови оценивали путем определения лизиса азофибрина с оценкой суммарной, неферментативной и расчетной ферментативной фибринолитической активности.

Результаты и их обсуждение. Проведенные исследования показали, что после применения липофлавона наблюдались изменения фибринолитической активности в организме у крыс. При длительном введении сильное влияние на фибринолитическую активность у крыс проявлял липофлавон в плазме крови и моче с меньшим влиянием на ткани почек. При этом следует отметить, что действие препарата было более выраженным в первые часы эксперимента и постепенно уменьшалось к седьмым суткам.

Выводы. Препарат кверцетина – липофлавон усиливает фибринолитическую активность у здоровых крыс. Больше всего влияние препарата наблюдается в моче и плазме крови.

Ключевые слова: *ткани почек; плазма крови; фибринолиз; липофлавон*

ВСТУП

Фібриноліз — процес руйнування згустка крові, пов'язаний з ферментативним розщепленням фібрину на окремі поліпептидні ланцюги за рахунок «плазмінової» системи. Протилежним згортальній системі крові є фібринолітична система, яка забезпечує спонтанний асептичний лізис фібрину і запобігає внутрішньосудинному тромбоутворенню та може змінювати гомеостаз на клітинному і тканинному рівнях, а також на рівні цілісного організму. Процеси фібринолізу нерозривно пов'язані з внутрішньосудинним фібриногенезом за принципом зворотного позитивного біологічного зв'язку. Від балансу коагуляційного та фібринолітичного потенціалів залежить нормальне кровопостачання тканин та органів [1]. Система фібринолізу тісно пов'язана з функціональною активністю нирок. Відомо, що фібринолітична система бере участь у репарації тканин [2]. А отже, характеристика антифібринолітиками системи крові потрібна для об'єктивного визначення активності фібринолізу в організмі, особливо при екстремальних станах [3-6].

Мета роботи – вивчити вплив ліпофлавону на фібринолітичну активність у сечі, плазмі крові та тканині нирок у динаміці при тривалому використанні препарату в умовах фізіологічної норми.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Експериментальні дослідження проводилися на 14 білих щурах масою 120-180 г. Піддослідні тварини були розподілені на такі групи: 1 – контроль, тваринам вводили внутрішньоочеревинно воду для ін'єкцій в обсязі, який є еквівалентним кількості розчину препарату ліпофлавону; 2 – тварини, які отримували ліпофлавон. Препарат вводили внутрішньоочеревинно в дозі 370 мг/кг, що відповідає 10 мг/кг в перерахунку на кверцетин [7]. Тварин декапітували під легким ефірним наркозом, дотримуючись положень «Європейської конвенції із захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях» (Страсбург, 1986). Декапітацію тварин проводили на 24 год, 48 год, 96 год та 7 добу експерименту. Матеріалами дослідження були сеча, плазма крові, сироватка крові, гомогенат нирок. Тканинний фібриноліз нирок, сечі та плазми крові оцінювали з використанням реактивів фірми «Simko Ltd» (Львів) шляхом визначення лізису азофібрину з оцінкою сумарної (СФА), неферментативної (НФА) і з розрахунком ферментативної фібринолітичної активності (ФФА). На спектрофотометрі СФ-46 в кюветах при довжині хвилі 440 нм проти розчину порівняння проводили замір оптичної густини проб [8].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Проведені нами дослідження показали, що після застосування ліпофлавону спостерігалися зміни фібринолітичної активності в організмі щурів. Як свідчать результати дослідження, при тривалому введенні (табл. 1) відмічалась односпрямована зміна фіб-

Таблиця 1

ВПЛИВ БАГАТОРАЗОВОГО ВВЕДЕННЯ ЛІПОФЛАВОНУ НА ФІБРИНОЛІТИЧНУ АКТИВНІСТЬ ЗДОРОВИХ ЩУРІВ ПІСЛЯ БАГАТОРАЗОВОГО ВВЕДЕННЯ (M ± m, n = 7)

Фібринолітична активність, E_{440}/(мл × год)	Контроль	Ліпофлавон			
		на 24 год	на 48 год	на 96 год	на 7-му добу
Сумарна	1,61 ± 0,19	3,65 ± 0,32*	3,44 ± 0,29*	3,33 ± 0,26*	3,79 ± 0,25*
Неферментативна	0,87 ± 0,09	1,86 ± 0,14*	1,77 ± 0,15*	1,70 ± 0,13*	1,95 ± 0,14*
Ферментативна	0,74 ± 0,10	1,79 ± 0,18*	1,66 ± 0,14*	1,633 ± 0,15*	1,85 ± 0,23*

Примітка: * – p_1 – вірогідність різниць показників порівняно з контролем ($p_1 < 0,001$).

Таблиця 2

ВПЛИВ ПРЕПАРАТІВ КВЕРЦЕТИНУ НА ФІБРИНОЛІТИЧНУ АКТИВНІСТЬ СЕЧІ ЗДОРОВИХ ЩУРІВ ПІСЛЯ БАГАТОРАЗОВОГО ВВЕДЕННЯ (M ± m, n = 7)

Фібринолітична активність, E_{440}/(мл × год)	Контроль	Ліпофлавон			
		на 24 год	на 48 год	на 96 год	на 7-му добу
Сумарна	2,76 ± 0,15	6,51 ± 0,12*	4,49 ± 0,07*	2,21 ± 0,15*	3,17 ± 0,13**
Неферментативна	1,44 ± 0,15	3,33 ± 0,67*	2,62 ± 0,05*	2,18 ± 0,07*	1,88 ± 0,07**
Ферментативна	1,32 ± 0,15	2,58 ± 0,12*	2,18 ± 0,06*	2,03 ± 0,07*	1,89 ± 0,06*

Примітка: * – p_2 – вірогідність різниць показників порівняно з контролем ($p_2 < 0,01$); ** – p_3 – вірогідність різниць показників порівняно з контролем ($p_3 < 0,05$).

Таблиця 3

ВПЛИВ ПРЕПАРАТІВ НА ФІБРИНОЛІТИЧНУ АКТИВНІСТЬ ТКАНИНИ НИРОК ЗДОРОВИХ ЩУРІВ ПІСЛЯ БАГАТОРАЗОВОГО ВВЕДЕННЯ (M ± m, n = 7)

Фібринолітична активність, E_{440}/(мл × год)	Контроль	Ліпофлавон			
		на 24 год	на 48 год	на 96 год	на 7-му добу
Сумарна	30,1 ± 1,80	35,36 ± 1,1*	34,76 ± 2,12	34,96 ± 1,2*	35,38 ± 1,3*
Неферментативна	15,6 ± 1,23	17,63 ± 1,21	17,98 ± 1,03	18,18 ± 0,62	18,19 ± 1,12
Ферментативна	14,5 ± 1,53	17,76 ± 1,35	16,82 ± 1,14	16,86 ± 0,62	17,27 ± 1,23

Примітка: * – p_3 – вірогідність різниць показників порівняно з контролем($p_1 < 0,05$).

ринолітичної активності. Так, на 24 год експерименту фібринолітична активність плазми крові щурів зростала наступним чином: у 2,26 рази сумарна, у 2,13 рази неферментативна та у 2,43 рази ферментативна. На 48 год експерименту сумарна фібринолітична активність плазми крові щурів зростала у 2,16 рази, неферментативна – у 2,03 рази та ферментативна – у 2,24 рази. На 96 год та 7 добу експерименту фібринолітична активність плазми крові щурів аналогічно зростала відповідно у 2,07 та 2,35 рази сумарна, у 1,92 та 2,24 рази – неферментативна та у 2,20 та 2,48 рази – ферментативна активність.

Щодо впливу при багаторазовому застосуванні ліпофлавону на фібринолітичну активність сечі (табл. 2) було встановлено, що на 24 год експерименту фібринолітична активність сечі щурів зростала наступним чином: у 2,35 рази сумарна, у 2,31 рази неферментативна та у 1,45 рази ферментативна. На 48 год експерименту сумарна фібринолітична активність сечі щурів зростала таким чином: у 1,63 рази сумарна, у 1,81 рази неферментативна та у 1,65 рази ферментативна. На 96 год сумарна фібринолітична активність сечі щурів зростала в 1,16 рази, неферментативна – в 1,51 рази та ферментативна – в 1,53 рази. На 7 добу експерименту фібринолітична активність сечі зростала таким чином: в 1,14 рази сумарна, в 1,30 рази неферментативна та в 1,43 рази ферментативна.

Фібринолітична активність тканини нирок (табл. 3) при застосуванні ліпофлавону залишалась мало зміною у порівнянні з контролем.

При використанні ліпофлавону показники сумарного фібринолізу в тканині нирок були достовірно більші за контроль на 24, 96 год та 7 добу експерименту; показники неферментативного та ферментативного фібринолізу були близькі до даних контрольної групи тварин.

Отже, при тривалому введенні ліпофлавон виявляв сильніший вплив на фібринолітичну активність у щурів у плазмі крові та сечі та менший вплив на тканини нирок. При цьому слід відмітити, що дія препарату була більш вираженою в перші години експерименту та поступово зменшувалася до сьомої доби, що можна пояснити властивостями організму до відновлення гомеостазу. Оскільки кров, циркулюючи через здорові нирки, збагачується антикоагулюючими факторами, підвищення рівня фібринолітичної активності є важливим фактором як при фізіології, так і для профілактики патологій нирок. Посилення фібринолізу може мати значення для профілактики уротромбозу, зберігання пасажу рідини нирковими канальцями та іншими ділянками сечовивідної системи за умов розвитку патологічних процесів.

ВИСНОВКИ

1. Препарат кверцетину ліпофлавон підсилює фібринолітичну активність в організмі експериментальних щурів.
2. Більше за все вплив препарату кверцетину ліпофлавону спостерігається в плазмі крові та сечі.

Перспективи подальших досліджень. Вивчення впливу препаратів, які чинять антиоксидантний вплив на функції нирок, зокрема протео- та фібринолітичну активність, є актуальним, оскільки надає можливість удосконалення лікування ниркової патології і своєчасного проведення профілактичних заходів.

Конфлікт інтересів: відсутній.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Тимофійчук, І. Р. Стан протео– та фібринолітичної активності структур головного мозку та рівень метаболітів монооксиду нітрогену у щурів різних вікових груп / І. Р. Тимофійчук, С. І. Анохіна // Здобутки клінічної та експериментальної медицини. – 2013. – № 2. – С. 284–285.
2. Міхєєв, А. О. Особливості перебігу протеолізу, фібринолізу та перекисного окиснення ліпідів у кірковій речовині нирок щурів різного віку / А. О. Міхєєв, Є. М. Горбань // Мед. хімія. – 2007. – Т. 9, № 2. – С. 70–73.
3. Антохіна, С. І. Зміни фібрино– та протеолітичної активності плазми крові і тканин внутрішніх органів білих щурів під впливом мелатоніну / С. І. Антохіна // Клін. та експеримент. патол. – 2015. – Т. XIV, № 4 (54). – С. 5–8.
4. Коваленко, С. В. Активність фібринолітичної та протеолітичної систем крові у хворих на хронічне обструктивне захворювання легень та бронхіальну астму / С. В. Коваленко, А. Е. Дорофєєв // Укр. пульмонол. журн. – 2012. – № 3. – С. 35–37.
5. Діагностичне значення маркерів фібринолізу у хворих на остеоартроз великих суглобів, які потребують ендопротезування / Ф. С. Леонтьєва, В. О. Туляков, Д. В. Морозенко, Н. В. Яковенко // Молодий вчений. – 2014. – № 8 (2). – С. 115–117. – Режим доступу : http://nbuv.gov.ua/UJRN/molv_2014_8(2)__30
6. Diabetes mellitus and thrombosis / N. Vazzana, P. Ranalli, C. Cuccurullo, G. Davi // Thromb. Res. – 2012. – Vol. 129, Issue 3. – P. 371–377. doi: 10.1016/j.thromres.2011.11.052
7. Жиляев, С. О. Экспериментальное исследование влияния корвитина и липофлавона на показатели прооксидантно–антиоксидантного баланса и эндогенной интоксикации при черепно–мозговой травме / С. А. Жиляев, С. Ю. Штыголь // Научные ведомости Белгородского гос. университета. – 2013. – № 18 (161). – С. 146–151.
8. Сучасні методики експериментальних та клінічних досліджень Центральної науково–дослідної лабораторії Буковинської державної медичної академії: метод. посібник / В. М. Магаляс, А. О. Міхєєв, Ю. Є. Роговий та ін. – Чернівці : БДМА, 2001. – 42 с.

REFERENCES

1. Tymofiichuk, I. R., Anokhina, S. I. (2013). *Zdobutky klinichnoi i eksperymentalnoi medytsyny.* Ternopil, 2, 284–285.
2. Mikhieiev, A. O., Horban, Ye. M. (2007). *Medychna khimiia, 9 (2),* 70–73.
3. Antokhina, S. I. (2015). *Klinichna ta eksperymentalna patolohiia – Clinical & Experimental Pathology, 4 (54),* 5–8.
4. Kovalenko, S. V., Dorofieiev, A. E. (2012). *Ukrainskyi pulmonolohichnyi zhurnal, 3,* 35–37.
5. Leontieva, F. S., Tuliakov, V. O., Morozenko, D. V., Yakovenko, N. V. (2014). *Molodyi vchenyi, 8 (2),* 115–117. Available at: http://nbuv.gov.ua/UJRN/molv_2014_8(2)__30
6. Vazzana, N., Ranalli, P., Cuccurullo, C., Davì, G. (2012). Diabetes mellitus and thrombosis. *Thrombosis Research, 129 (3),* 371–377. doi: 10.1016/j.thromres.2011.11.052
7. Zhyliaev, S. O., Shtrygol, S. Yu. (2013). *Nauchnye vedomosti Belgorodskogo gosudarstvennogo universiteta, 18 (161),* 146–151.
8. Mahalias, V. M., Mikhieiev, A. O., Rohovyi, Yu. Ye. et al. (2001). *Suchasni metodyky eksperymentalnykh ta klinichnykh doslidzhen Tsentralnoi naukovo–doslidnoi laboratorii Bukovynskoi derzhavnoi medychnoi akademii*. Chernivtsi, BDMA, 42.

Відомості про авторів:
Горошко О. М., канд. фарм. наук, доцент кафедри фармації, ВДНЗ України «Буковинський державний медичний університет»
Заморський І. І., д-р. мед. наук, професор, завідувач кафедри фармакології, ВДНЗ України «Буковинський державний медичний університет»
Шпичак О. С., д-р фарм. наук, доцент кафедри аптечної технології ліків ім. Д. П. Сала, Національний фармацевтичний університет. E-mail: shpichak_oleg@ukr.net
Богдан Н. С., канд. фарм. наук, асистент кафедри фармації, ВДНЗ України «Буковинський державний медичний університет»
Паламар А. О., канд. фарм. наук, асистент кафедри фармації, ВДНЗ України «Буковинський державний медичний університет»
Драчук В. М., асистент кафедри фармакології, ВДНЗ України «Буковинський державний медичний університет»

Information about authors:
Horoshko O. M, Candidate of Pharmaceutical Sciences, associate professor of the Department of Pharmacy Bukovinian State Medical University
Zamorskyy I. I., Doctor of Medical Sciences, professor, head of the Department of Pharmacology Bukovinian State Medical University
Shpychak O. S, Doctor of Pharmacy, associate professor of D. P. Salo Department of Pharmaceutical Technologies National University of Pharmacy. E-mail: shpichak_oleg@ukr.net
Bohdan N. S, Candidate of Pharmaceutical Sciences, assistant of the Department of Pharmacy Bukovinian State Medical University
Palamar A. O., Candidate of Pharmaceutical Sciences, assistant of the Department of Pharmacy Bukovinian State Medical University
Drachuk V. M., assistant of the Department of Pharmacy Bukovinian State Medical University, Chernivtsi

Сведения об авторах:
Горошко А. М., канд. фарм. наук, доцент кафедры фармации, ВГУЗ Украины «Буковинский государственный медицинский университет»
Заморский И. И., д-р мед. наук, профессор, заведущий кафедрой фармакологии, ВГУЗ Украины «Буковинский государственный медицинский университет»
Шпичак О. С., д-р фарм. наук, доцент кафедры аптечной технологии лекарств им. Д. П. Сало, Национальный фармацевтический университет. E-mail: shpichak_oleg@ukr.net
Богдан Н. С., канд. фарм. наук, ассистент кафедры фармации, ВГУЗ Украины «Буковинский государственный медицинский университет»
Паламар А. А., канд. фарм. наук, ассистент кафедры фармации, ВГУЗ Украины «Буковинский государственный медицинский университет»
Драчук В. М., ассистент кафедры фармакологии, ВГУЗ Украины «Буковинский государственный медицинский университет»

Рекомендована д. мед. н., професором С. М. Дроговоз
Надійшла до редакції 21.09.2017 р.