



УДК 616.24-002-008.6-056.3-078.839-06:612.014.484]-08

М. Є. Ковальська

МЕДИКАМЕНТОЗНА КОРЕКЦІЯ ЗМІН СТАНУ ПРО- ТА АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМ У ТИМУСІ МОРСЬКИХ СВИНОК НА ВСІХ ЕТАПАХ РОЗВИТКУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АЛЕРГІЧНОГО АЛЬВЕОЛІТУ В УМОВАХ СТРЕСУ

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького,
Львів, Україна

УДК 616.24-002-008.6-056.3-078.839-06:612.014.484]-08

М. Е. Ковальская

МЕДИКАМЕНТОЗНАЯ КОРЕКЦИЯ ИЗМЕНЕНИЙ СОСТОЯНИЯ ПРО- И АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМ В ТИМУСЕ МОРСКИХ СВИНОК НА ВСЕХ ЭТАПАХ РАЗВИТИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АЛЛЕРГИЧЕСКОГО АЛЬВЕОЛИТА В УСЛОВИЯХ СТРЕССА

Львовский национальный медицинский университет имени Данила Галицкого, Львов, Украина

Сегодня механизмы формирования экзогенного аллергического альвеолита до конца не ясны. В частности, не изученными остаются вопросы, касающиеся функционального состояния и роли процессов про- и антиоксидантной систем (АОС) в патогенезе экспериментального аллергического альвеолита, тем более в разные периоды развития заболевания.

Цель исследования — оценить состояние антиоксидантной системы и процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в тимусе морских свинок с экспериментальным аллергическим альвеолитом в условиях иммобилизационного стресса в разные периоды его формирования до и после использования препарата корвитина.

Было доказано, что на поздних этапах развития экспериментального аллергического альвеолита в условиях иммобилизационного стресса корвитин проявил выраженное антиоксидантное действие, ингибировал свободнорадикальные процессы, что делает обоснованной и адекватной коррекцию данным препаратом изменений процессов ПОЛ и АОС в тимусе животных в поздние периоды развития экспериментального аллергического альвеолита и стресса. Таким образом, политропность фармакодинамических эффектов с одновременным отсутствием побочных эффектов позволяет утверждать, что корвитин является одним из самых перспективных для изучения современных препаратов фармакотерапии многих патологических процессов, в частности экспериментального аллергического альвеолита в условиях иммобилизационного стресса.

Ключевые слова: экспериментальный аллергический альвеолит, антиоксидантная система, прооксидантная система, корвитин, тимус, стресс.

UDC 616.24-002-008.6-056.3-078.839-06:612.014.484]-08

М. Ye. Kovalska

MEDICINE CORRECTION OF CHANGES OF THE STATUS OF THE PRO- AND ANTIOXIDANT SYSTEM IN THYMUS OF GUINEA PIGS AT ALL STAGES OF THE EXPERIMENTAL ALLERGEN ALVEOLITIS DEVELOPMENT UNDER STRESS CONDITIONS

D. Galytsky Lviv National Medical University, Lviv, Ukraine

Relevance. Now the etiological factors of the disease are already known, the mechanisms of formation of exogenous allergic alveolitis are not fully understood. In particular, the questions concerning the functional state and role of prooxidant and antioxidant systems in the pathogenesis of



experimental allergic alveolitis, especially in different periods of the development of the disease, remain unexplored. In the available literature, there are no studies of LPO parameters and antioxidant system activity in the thymus in experimental allergic alveolitis and Korvitin correction. The problem of exogenous allergic alveolitis is urgent and requires further experimental and clinical studies.

Purpose of the study. To estimate the state of the antioxidant system and the processes of LPO in the thymus of guinea pigs with experimental allergic alveolitis under conditions of immobilization stress in different periods of its formation before and after the use of the Korvitin.

Material and methods of investigation. There were three groups of guinea pigs (n=12): 1st — control, 2nd — EAA under gauze stress conditions on the 34th day of the experiment; 3rd — EAA under conditions of gauze stress on the 34th day of the experiment, which within 10 days was administered intraperitoneally with the drug Korvitin (Borshchagovsky Chemical-Pharmaceutical Plant) at a dose of 40 mg/kg. Then the animals were decapitated and the level of LPO and activity of antioxidant system (AOS) enzymes were determined in the thymus.

Results of the study. The MDA level increased by 80.44% compared to the control ($p < 0.05$) at the 34-day test. DK level was not reliable in comparison with the first group of animals. Also, a significant decrease in the activity of antioxidant enzymes in guinea pigs was observed in conditions of combined pathological processes of EAA and immobilization stress. The activity of SOD decreased relative to the control by 55.8% ($p < 0.05$). So in the thymus, the activity of SOD increased significantly by 36.3% ($p < 0.05$), CT activity by 40.4% ($p < 0.05$). The level of MDA after the administration of Korvitin significantly decreased in the thymus of guinea pigs. Thus, the MDA content decreased by 43.48% relative to the animals of the second group ($p < 0.05$), and the DK level was not reliable.

Conclusions. At late stages of development of EAA in conditions of immobilization stress, corvitin showed a pronounced antioxidant effect, inhibited free-radical processes. All this makes a reasonable and adequate correction of Korvitin changes in the processes of LPO and AOS in the thymus of animals in later periods of EAA development and stress. Thus, polytropism of pharmacodynamic effects with simultaneous absence of side effects allows us to state that Korvitin is one of the most prospective for the study of modern drugs of pharmacotherapy of many pathological processes, in particular EAA in conditions of immobilization stress.

Key words: experimental allergic alveolitis, antioxidant system, prooxidant system, Korvitin, thymus, stress.

Вступ

Екзогенний алергічний альвеоліт (ЕАА) вперше було описано у 1932 р. J. Campbell. Це імуніалергічне захворювання, у патогенезі якого основну роль відіграють алергічні реакції III і IV типів (за класифікацією Gell і Coombs) [1; 2]. Антигенами виявляються здебільшого алергени грибкового, бактерійного походження, тваринні білки та низькомолекулярні хімічні сполуки.

Як алерген виступають переважно інгаляційні екзогенні антигени, які утворюють із відповідними антитілами циркулюючі імунні комплекси. Циркулюючі імунні комплекси, а також специфічні антитіла активізують систему комплементу й альвеолярні макрофаги. Ті, у свою чергу, виділяють біологічно активні речовини, які сприяють проліферації фібро-

бластів і продукції колагену. У результаті цього розвивається альвеолобронхіоліт і відбувається фіброзування інтерстицію. При тривалому надходженні в легені антигену виникають алергічні реакції гіперчутливості сповільненого типу, які спричиняють формування гранульом. Трансформація останніх у сполучнотканинні формування ускладнює розпізнавання ЕАА [3–6].

Ступінь ушкодження й оборотність змін легеневої архітекtonіки залежать від багатьох факторів: характеру експозиції антигену, природи інгаляованих частинок та імунної відповіді пацієнта. Однак слід враховувати, що на пізніх стадіях розвитку ЕАА виникають необоротні зміни, які призводять до інвалідизації пацієнтів [4].

Зважаючи те, що не існує специфічних симптомів і лабо-

раторних тестів для виявлення ЕАА, встановлення діагнозу здебільшого відбувається за аналізом змін даних, проте тотожність клінічної картини з іншими захворюваннями легенів ускладнює цей процес. Усе це дозволяє вважати дане захворювання тяжкою патологією, а вивчення патогенезу ЕАА актуальним.

Оскільки для ЕАА характерний імуніалергічний генез захворювання, цікавим є дослідження змін стану про- й антиоксидантної систем в імунних органах, у тимусі зокрема. Сьогодні вже досліджуються такі зміни на ранніх етапах розвитку ЕАА, проте залишається не вивченим подальший стан антиоксидантної та прооксидантної систем імунного органа — тимуса — у патогенезі ЕАА за умов стресу [5; 6]. Вивчення потребують також стан про- й антиоксидантної систем



у різні періоди розвитку ЕАА і стресу та шляхи корекції виявлених змін.

З цією метою використовували корвітин — модульовану форму кверцетину [7–9]. Кверцетин — представник флавонів класу флавоноїдів, який характеризується високими антиоксидантними, антирадикальними, металохелатуючими, антигіпоксантами, антиапоптичними, імуномодулюючими, мембраностабілізуючими та капілярно-укріплювальними властивостями; має протизапальні, гіполіпідемічні властивості; пригнічує каталітичні властивості тромбіну; проявляє антигістамінну активність [7–10]. Корвітин є одним з найбільш безпечних та ефективних фармакотерапевтичних засобів у лікуванні багатьох захворювань, що дозволило використовувати його для корекції ЕАА і стресу.

Мета дослідження — оцінити стан антиоксидантної системи (АОС) та процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) у тимусі морських свинок з експериментальним алергічним альвеолітом за умов іммобілізаційного стресу у різні періоди його формування до та після використання препарату корвітину.

Матеріали та методи дослідження

Усі експерименти на лабораторних тваринах були проведені при дотриманні принципів біоетики відповідно до положень Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях (Страсбург, 1986), Директиви Ради Європи 2010/63/EU, Закону України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження», загальних етичних

принципів експериментів на тваринах, ухвалених Першим національним конгресом України з біоетики (2001).

Дослідження проводили на морських свинках ($n=36$) масою 0,18–0,20 кг, які перебували на стандартному раціоні віварію.

Морських свинок розподілили на три групи ($n=12$): 1-ша — контрольні тварини; 2-га — тварини з ЕАА в умовах іммобілізуючого стресу на 34-ту добу експерименту; 3-тя — тварини з ЕАА в умовах іммобілізуючого стресу на 34-ту добу експерименту, яким протягом 10 діб вводили внутрішньочеревинно препарат «Корвітин» (Борщівський хіміко-фармацевтичний завод) дозою 40 мг/кг.

Експериментальний ЕАА відтворювали за методикою авторів [11]. Попередньо тварин імунізували повним ад'ювантом Фрейнда (0,2 мл у задню лапку внутрішньом'язово). Після 2 тиж. через кожні 10 днів, вводили внутрішньовенно по 0,2 мл 1 % розчину БЦЖ. Експериментальну модель іммобілізаційного стресу викликали таким чином: іммобілізували тварину на операційному столику на спині, фіксуючи її атравматично — за кінцівки. Тривалість іммобілізації становила 2 год. Іммобілізаційний стрес відтворювали за методом П. Д. Горизонтова [12].

Потім тварин декапітували та визначали в тимусі гомогенату вміст продуктів ПОЛ і активність ферментів АОС. Вміст дієнових кон'югатів (ДК) визначали за методом авторів [13], малонового діальдегіду (МДА) за методом автора [14], активність супероксиддисмутази (СОД) — за методом R. Fried [15], активність каталази (КТ) — за В. Holmes, С. Masters [16].

Статистичне опрацювання цифрових даних проводилося з використанням загальноприйнятого методу Стьюдента на ПЕВМ "Robotron" (мова Basic). Статистично достовірними вважалися результати, для яких $p \leq 0,05$.

Результати дослідження та їх обговорення

За рахунок посиленого утворення вільнорадикальних сполук виникло компенсаторне напруження окремих складових частин системи антиоксидантного захисту (ДК і МДА). Так, у відповідь на підвищення вмісту продуктів ПОЛ на усіх етапах розвитку ЕАА та іммобілізаційного стресу в тимусі спостерігалось зниження активності СОД щодо показників контролю. Аналогічна ситуація відбувалася з активністю КТ. Аналіз ферментативної активності церулоплазміну (ЦП) у тимусі тварин показав, що у динаміці розвитку ЕАА і стресу спостерігалось поступове зниження активності маркера проти величин інтактних тварин. Інтенсивне нагромадження продуктів ПОЛ зумовило депресію активності ЦП у тимусі, що відображено в табл. 1.

Деякі автори [1; 4; 9] описали, що за умов розвитку запалення, стресу, алергії порушується рівновага між прооксидантною й антиоксидантною системами. Отже, можна стверджувати, що активація ПОЛ — невід'ємна складова частина, важлива ланка запального процесу, яка відображає і характеризує його гостроту, тяжкість, особливості перебігу, ефективність лікувальних заходів.

За умов формування ЕАА та іммобілізаційного стресу в експерименті встановлено підвищення вмісту ДК у тимусі від-



Таблиця 1

**Вміст антиоксидантної системи та процесів
перекисного окиснення ліпідів у тимусі морських свинок
з експериментальним алергічним альвеолітом
за умов іммобілізаційного стресу**

Показник	Група тварин	
	Контрольна (інтактна), n=12	2-га (34-та доба до лікування), n=12
ДК, нмоль/мл (г)	0,019±0,002	0,046±0,003; p<0,05
МДА, нмоль/мл (г)	0,092±0,008	0,166±0,072; p<0,05
СОД, ум. од./мл (г)	0,482±0,080	0,213±0,024; p<0,05
КТ, м. о./мл (г)	1,602±0,212	0,759±0,070; p<0,05
ЦП, мг/л	13,812±0,825	7,62±0,72; p<0,05

Примітка. p — достовірність різниці показників при алергічному альвеоліті та іммобілізаційному стресі до лікування порівняно з даними у контрольній групі.

повідно на 142,10 % (p<0,05) порівняно з контрольними величинами, що вказує на стимуляцію процесів ПОЛ.

Вплив корвітину на показники прооксидантної та антиоксидантної систем у тимусі морських свинок при алергічному альвеоліті за умов стресу подано на рис. 1. Застосування даного препарату викликає зниження рівня ДК на 37,36 % (p<0,05) порівняно з групою морських свинок з ЕАА за умов стресу, яким не вводився цей лікарський посередник.

Результати біохімічних досліджень на 34-ту добу експерименту показали підвищення вмісту МДА в тимусі на 80,44 % (p<0,05) щодо показників інтактної групи. Використання антиоксиданту корвітину спричинило зниження рівня МДА на 43,48 % (p<0,05) порівняно з групою тварин з ЕАА за умов стресу, які не зазнали впливу цього лікарського засобу, що свідчило про його коригувальний вплив на продукти ліпопероксидації.

Визначення активності СОД у тимусі на 34-ту добу експе-

рименту виявило її зниження на 55,8 % (p<0,05) щодо показників контролю до лікування. Введення антиоксиданту корвітину протягом 10 днів зумовлювало підвищення активності СОД у тимусі на 36,3 % (p<0,05) порівняно з тваринами, у яких розвивався альвеоліт за умов іммобілізаційного стресу без застосування даного препарату.

Дослідження активності КТ у тимусі при алергічному альвеоліті та іммобілізаційному стресі показало зниження їх показників відповідно на 52,6 % (p<0,05) порівняно з інтактною групою тварин. Після застосування препарату корвітину активність КТ зросла лише на 40,4 % (p<0,05) порівняно з групою морських свинок із цією поєднаною імунокомплексною патологією, що не зазнали впливу даного препарату.

Визначення активності ЦП у тимусі на 34-ту добу при алергічному альвеоліті за умов іммобілізаційного стресу виявило суттєве їх зниження відповідно на 44,8 % (p<0,05) щодо групи тварин, яким не призначали цей препарат, а після застосування препарату корвітину активність ЦП підвищилася на 24,4 % (p<0,05) порівняно з показниками контрольної групи.

Використання корвітину, що зумовило підвищення активності ЦП порівняно з групою тварин з алергічним альвеолітом за умов стресу, яким не вводили цей препарат, свідчить про позитивний його вплив на зазначені показники.

Отже, дослідження дії препарату корвітину на окремі показники прооксидантної та антиоксидантної систем у тимусі виявило його коригувальний антиоксидантний ефект на вміст ДК, МДА та активність СОД, КТ і ЦП.

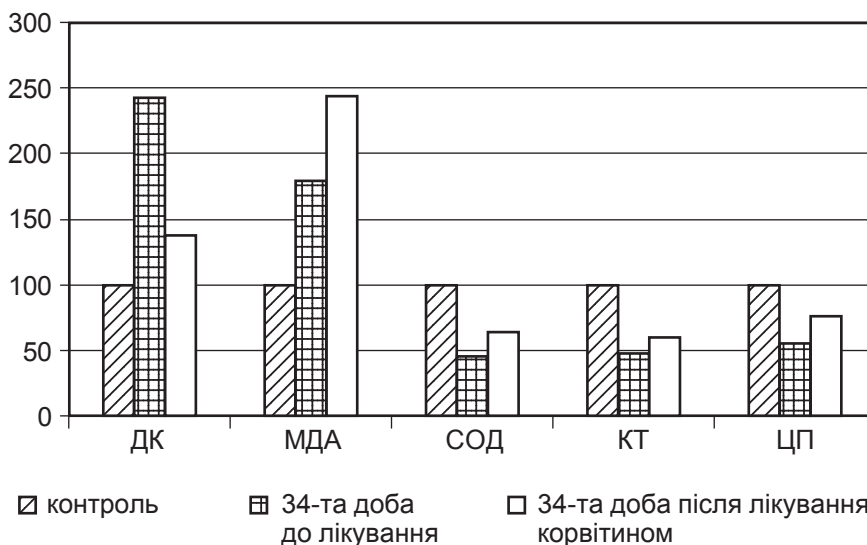


Рис. 1. Дія корвітину на показники прооксидантної та антиоксидантної систем у тимусі морських свинок при алергічному альвеоліті за умов стресу

Висновки

Проведені дослідження свідчать про те, що експериментальний ЕАА у морських свинок є адекватною моделлю для вивчення його патогенетичних механізмів. На пізніх етапах розвитку ЕАА в умовах іммобілізаційного стресу корвітин виявив виражену антиоксидантну дію, інгібував вільнорадикальні процеси. Усе це робить обґрунтованою й адекватною корекцію корвітином змін процесів ПОЛ і АОС у тимусі тварин у пізні періоди розвитку ЕАА та стресу. Таким чином, політропність фармакодинамічних ефектів з одночасною відсутністю побічної дії дозволяє стверджувати, що корвітин — один із найперспективніших для вивчення сучасних препаратів фармакотерапії багатьох патологічних процесів, зокрема ЕАА в умовах іммобілізаційного стресу.

Ключові слова: експериментальний алергічний альвеоліт, антиоксидантна система, прооксидантна система, корвітин, тимус, стрес.

ЛІТЕРАТУРА

1. Гаврисюк В. К., Страфун О. В. Гиперсенситивный пневмонит. *Здоров'я України*. 2016. № 2 (34). С. 22–23.
2. Fagan N. L., Foral P. A., Malesker M. A. et al. Therapeutic Update on Drug-Induced Pulmonary Disorders. *U.S. Pharmacist*. 2011. Vol. 36, N 7. P. HS3–HS8.
3. Glazer C. S. Chronic hypersensitivity pneumonitis: important considerations in the work-up of this fibrotic lung disease. *Current Opinion in Pulmonary Medicine*. 2015. Vol. 21. P. 171–177.
4. Косарев В. В., Бабанов С. А. Экзогенный аллергический альвеолит в терапевтической и профпатологической практике семейного врача. *Новые Санкт-Петербургские врачебные ведомости*. 2012. № 1. С. 56–63.
5. Griese M., Haug M., Hartl D. et al. Hypersensitivity pneumonitis: lessons for diagnosis and treatment of rare entity in children. *Orphanet Journal of Rare Diseases*. 2013. Vol. 8. P. 121–125.
6. Максютин Н. П., Мойбенко А. А., Мохорт Н. А. и др. Биофлавоноиды как органопротекторы (кверцетин, корвитин, квертин) / под общ. ред. А. А. Мойбенко. Киев : Наук. думка, 2012. 274 с.
7. Girard M., Cormier Y. Hypersensitivity pneumonitis. *Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology*. 2010. Vol. 10. P. 99–103.
8. Girard M., Israel-Assayag E., Cormier Y. Impaired function of regulatory T-cells in hypersensitivity pneumonitis. *The European Respiratory Journal*. 2011. Vol. 37. P. 632–639.
9. Гаврисюк В. К. Принципы лечения больных идиопатическим легочным фиброзом. *Здоров'я України*. 2017. № 1 (38). С. 20–22.
10. Макапьянц Н. Н., Шмелев Е. И. Новые схемы терапии при острых, подострых и хронических вариантах экзогенного аллергического альвеолита. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2012. № 11. С. 39–44.
11. Орехов О. О., Кирилов Ю. А. Патоморфология легких и микроциркуляторного русла малого круга кровообращения при хроническом экспериментальном аллергическом альвеолите. *Архив патологии*. 1985. № 10. С. 54–61.
12. Горизонтов П. Д., Белоусова О. И., Федотов М. И. Стресс и система крови. Москва : Медицина, 1983. 338 с.
13. Гаврилов В. Б., Мишкорудная М. И. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперексидов липидов в плазме крови. *Лабораторная диагностика ишемической болезни сердца*. Киев : Здоров'я, 1989. С. 170–171.
14. Коробейникова Э. Н. Модификация определения продуктов ПОЛ в реакции с тиобарбитуровой кислотой. *Лабораторное дело*. 1989. № 7. С. 8–10.
15. Fried R. Enzymatic and non-enzymatic assay of super oxide dismutase. *Biochemie*. 1975. Vol. 57, N 65. P. 657–660.
16. Holmes R., Masters C. Epigenetic interconversions of the multiple forms of mouse liver catalase. *FEBS letters*. 1970. Vol. 11, N 1. P. 45–48.
17. Glazer C.S. Chronic hypersensitivity pneumonitis: important considerations in the work-up of this fibrotic lung disease. *Curr Opin Pulm Med* 2015; 21: 171-177.
18. Kosarev V.V., Babanov S.A. Exogenous allergic alveolitis in therapeutic and to the profpatologicheskoy practice of domestic doctor. *Novye Sankt-Petersburgskie vrachebnye vedomosti* 2012; 1: 56-63.
19. Griese M., Haug M., Hartl D. et al. Hypersensitivity pneumonitis: lessons for diagnosis and treatment of rare entity in children. *Orphanet Journal of Rare Diseases* 2013; 8: 121-125.
20. Maksyutina N.P., Moybenko A.A., Mokhort N.A. et al. *Bioflavonoidy kak organoprotektory (kvertsetin, korvitin, kvertin)*; ed. A.A. Moybenko. Kyiv, Naukova dumka, 2012. 274 p.
21. Girard M., Cormier Y. Hypersensitivity pneumonitis. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2010; 10: 99-103.
22. Girard M., Israel-Assayag E., Cormier Y. Impaired function of regulatory T-cells in hypersensitivity pneumonitis. *Eur Respir J* 2011; 37: 632-639.
23. Gavrysyuk V.K. (2017) Principles of treatment of patients suffering from idiopathic pulmonary fibrosis. *Zdorovya Ukrainy*, 1 (38): 20-22.
24. Makapyants N.N., Shmelev Ye.I. (2012) New schemes of therapy at acute, subacute and chronic variants of exogenous allergic alveolitis. *Vest. Ros. akad. med. nauk*, 11: 39-44.
25. Orekhov O.O., Kirilov Yu.A. Pathomorphology of lungs and microcirculatory bed of lesser circle of blood at chronic experimental allergic alveolitis. *Arkhiv patologii* 1985; 10: 54-61.
26. Gorizontov P.D., Belousova O.I., Fedotov M.I. *Stress i sistema krovi*. Moscow, Meditsina, 1983, 338 p.
27. Gavrilov V.B., Mishkorudnaya M.I. Spectrofotometric determination of level of hydroperoxides of lipids in blood plasma. *Laboratornaya diagnostika ishemicheskoy bolozni serdtsa*. Kyiv, Zdorovya, 1989, p. 170-171.
28. Korobeynikova E.N. Modification of determination of LP products in the reaction with the thiobarbituric acid. *Laboratornoe delo* 1989; 7: 8-10.
29. Fried R. Enzymatic and non-enzymatic assay of super oxide dismutase. *Biochemie* 1975; 57 (65): 657-660.
30. Holmes R., Masters C. Epigenetic interconversions of the multiple forms of mouse liver catalase. *FEBS Lett* 1970; 11 (1): 45-48.

REFERENCES

1. Gavrysyuk V.K., Strafun O.V. (2016) Hypersensitivity pneumonitis. *Zdorovya Ukrainy*, 2 (34): 22-23.
2. Fagan N.L., Foral P.A., Malesker M.A. et al. Therapeutic Update on Drug-Induced Pulmonary Disorders. *U.S. Pharmacist* 2011; 36 (7): HS3-HS8.

Надійшла до редакції 22.12.2017
Рецензент д-р мед. наук,
проф. В. І. Величко,
дата рецензії 17.01.2018

