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

DOI

М. Є. Ковальська

Львівський національний медичний університет ім. Д. Галицького

**ЗМІНИ В ТИМУСІ ТВАРИН ПОКАЗНИКІВ ПРООКСИДАНТНОЇ ТА АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМ ЗА УМОВ ФОРМУВАННЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АЛЕРГІЧНОГО АЛЬВЕОЛІТУ**

**Резюме**. У даній роботі встановлено, що за умов розвитку експериментального алергічного альвеоліту на 34-ту доби зростає концентрація малонового альдегіду за рахунок посилення процесів перекисного окиснення ліпідів. Дані зміни вказують, що в патогенезі розвитку експериментального алергічного альвеоліту в мор ських свинках важливу роль відіграють процеси перекисного окиснення ліпідів та ферментативної і неферментативної ланки антиоксидантної системи, а також значне виснаження ферментативної ланки антиоксидантної глутатіонової системи на 34-ту добу.

**Мета**: вивчення стану про- та антиоксидантної системи у тимусі тварин у різні періоди розвитку ЕАА.

**Матеріали і методи.** Досліди були проведені на 36 морських свинках, масою тіла 0,18-0,20 кг. Розподілили на чотири груп (дев’ять тварин у кожній). Інтактні морські свинки -першу групу (контроль). Тварини з експериментальним алергічним альвеолітом (ЕАА) – друга, третя, четверта групи, відповідно на 1, 2, і 34 доби експерименту. Визначення тестів, які відображають процеси прооксидантної (ДК, МДА) та антиоксидантної систем (СОД, каталаза) в тимусі здійснювали в інтактних морських свинок та у тварин з експериментальним алергічним алвеолітом.

Експериментальний АА - методом О.О.Орехова, Ю.А.Кирилова, 1985 ; Тварин декапітували під ефірним наркозом на 1–у, 2-гу, 34-у доби проведення експерименту. Проводили забір тимуса, з якого готували гомогенат.

У гомогенаті досліджували активність каталази (КТ) - B.Holmes, C.Masters ; супероксиддисмутази (СОД) - R.Fried, а також вміст дієнових кон’югатів (ДК) – методом В.Б.Гаврилова, М.И.Мишкорудної та визначали рівень малонового диальдегіду (МДА) за - методом Э.Н.Коробейникова.

Статистичне опрацювання цифрових даних проводилось з використанням методу Стюдента .

**Результати дослідження та їх обговорення**

Результатами наших досліджень встановлено, що активність ферментів АОС змінювалась однонаправлено в залежності від періодів формування експериментального АА.

У результаті проведених досліджень показано, що у морських свинок з експериментальним АА спостерігається підвищення продуктів ПОЛ як початкового, так і завершального його етапів.

**Висновки**

отримані результати свідчать про значні зміни у стані про- та антиоксидантної систем у тимусі тварин із екзогенним алергічним альвеолітом та є важливими для кращого розуміння патогенезу ЕАА. Дані дослідження дають можливість для пошуку більш ефективних і результативних способів корекції виявлених змін при ЕАА.

**Ключові слова**

експериментальний алергічний альвеоліт, тимус, дієнові кон’югати, малоновий діальдегід, супероксиддисмутаза, каталаза.

**Вступ**

Екзогенний алергічний альвеоліт (ЕАА) - це легеневе захворювання, у патогенезі якого головну роль відіграють імунокомплексні алергічні реакції. В якості алергену виступають переважно інгаляційні екзогенні антигени, які утворюють із відповідними антитілами циркулюючі імунні комплекси. Циркулюючі імунні комплекси, а також специфічні антитіла активізують систему комплементу та альвеолярні макрофаги. Які, в свою чергу, виділяють біологічноактивні речовини, які сприяють проліферації фібробластів та продукції колагену. У результаті цього розвивається альвеолобронхіоліт та відбувається фіброзування інтерстицію. При тривалому поступленні в легені антигену виникають алергічні реакції перчутливості сповільненого типу, які спричиняють формування гранульом. Трансформація останніх у сполучнотканинні формування ускладнює розпізнавання ЕАА [1,2].

Враховуючи те, що не існує специфічних клінічних і лабораторних тестів для виявлення ЕАА, постановка діагнозу здебільшого відбувається лише на основі клінічних даних, а подібність клінічної картини до інших захворювань легень ускладнює цей процес. Крім цього, на цих стадіях розвитку ЕАА виникають незворотні зміни, які ведуть до інвалідизації хворих. Усе це дозволяє вважати дане захворювання тяжкою патологією, а вивчення патогенезу ЕАА актуальним.

Оскільки, для ЕАА характерний імуно-алергічний генез захворювання, цікавим дослідження змін стану прооксидантної та антиоксидантної систем у окремих імунних органах. На сьогодні вже досліджуються такі зміни на ранніх етапах розвитку ЕАА, проте залишаються не вивченими подальший стан антиоксидантної та прооксидантної систем імунних органів в патогенезі ЕАА. Тому, метою нашого дослідження є вивчення стану про- та антиоксидантної системи у тимусі тварин у різні періоди розвитку ЕАА.

**Матеріали та методи дослідження**

Досліди на тваринах виконувалися з дотриманням ухвали Першого національного конгресу з біоетики про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та наукових цілей [ 3, 4].

Комісією з біоетики Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького порушень морально-етичних норм при проведенні науково-дослідної роботи не виявлено.

Експериментальні дослідження проводились на кафедрі патологічної фізіології Львівського національного медичного університету ім. Д. Галицького.

Досліди були проведені на 36 морських свинках, масою тіла 0,18-0,20 кг. Мурчаків розподілили на чотири груп (дев’ять тварин у кожній). Інтактні морські свинки складали першу групу (контроль). Тварини з експериментальним алергічним альвеолітом (ЕАА) – друга, третя, четверта групи, відповідно на 1, 2, і 34 доби експерименту. Визначення тестів, які відображають процеси прооксидантної (ДК, МДА) та антиоксидантної систем (СОД, каталаза) в тимусі здійснювали в інтактних морських свинок та у тварин з експериментальним алергічним алвеолітом.

Ранній період – 1-а і 2-а доби експериментального АА від початку введення антигену. Пізній період – 34-а доба експериментального АА від початку введення антигену.

Експериментальний АА відтворювався за методом О.О.Орехова, Ю.А.Кирилова, 1985 . [5].

Тварин декапітували під ефірним наркозом на 1–у, 2-гу, 34-у доби проведення експерименту. Проводили забір тимуса, з якого готували гомогенат.

У гомогенаті досліджували активність каталази (КТ) за методом B.Holmes, C.Masters [6] та супероксиддисмутази (СОД) визначали методом R.Fried [7], а також вміст дієнових кон’югатів (ДК) – методом В.Б.Гаврилова, М.И.Мишкорудної [8] та визначали рівень малонового диальдегіду (МДА) за

за методом Э.Н.Коробейникова[9].

Статистичне опрацювання цифрових даних проводилось з використанням загальноприйнятого методу Стюдента на ПЕВМ «Robotron» (мова Basic). Статистично достовірними вважалися результати, для яких Р≤0,05.

**Результати дослідження та їх обговорення**

Для оцінки стану прооксидантної та антиоксидантної систем у мурчаків в процесі розвитку ЕАА було досліджено активність КТ і СОД, а також рівень МДА і ДК у тимусі тварин на 1-у, 2-у, 34-у доби з початку експерименту.

У результаті проведених досліджень виявлено, що на 1-у, 2-у і 34-у доби розвитку АА у тимусі морських свинок поступово зростала інтенсивність утворення продуктів перекисного окиснення ліпідів.

Так, вміст дієнових кон’югатів у тимусі морських свинок у ранні, 1-у добу зростає 31,58% (р<0,05), 2-у добу 42,11%(р<0,05) і пізні періоди формування експериментального алергічного альвеоліту на 34-у добу рівний 2-й добі, а рівень малонового диальдегіду на1-у добу 57,61 %(р<0,05), 2-у добу поступово зростає до 68,48% (р<0,05), 34-у добу поступово знижується і рівний 1-й добі порівняно з інтактними тваринами, що вказує на активізацію перосидації ліпідів.

Активність каталази підвищувалась в тимусі у ранній (1 і 2-у доби) період експериментального АА відповідно на 6,12 %(р<0,05) і 10,11 %(р<0,05), у пізній (34-у добу) на 42,32%(р<0,05), а також активність СОД зростала в 1-й, та 2-й добі відповідно до 6,43% (р<0,05) та 66,28%,(р<0,05) а на 34-у доби знижувалась відповідно до 40,66%(р<0,05) порівняно з величинами інтактних морських свинок.

Результатами наших досліджень встановлено, що активність ферментів АОС змінювалась однонаправлено в залежності від періодів формування експериментального АА.

У результаті проведених досліджень показано, що у морських свинок з експериментальним АА спостерігається підвищення продуктів ПОЛ як початкового, так і завершального його етапів. Водночас активність окремих ферментів АОС зазнала протилежних змін. Показники СОД і КТ були знижені на 1-у добу відповідно на 6,43%(р<0,05) і 6,12 %(р<0,05) проти показників контрольної групи тварин, що вказує на пригнічення ферментативної ланки антиоксидантного захисту за умов формування АА.

**Висновки**

Отримані результати дають можливість стверджувати, що поряд із стимуляцією прооксидантної відбувається компенсаторна реакція з боку антиоксидантної ферментативної системи. Це проявляється у підвищенні активності СОД і каталази та збільшення вмісту продуктів ПОЛ – ДК і МДА в тимусітварин при ЕАА.

Таким чином, проведені дослідження показують посилення активності ферментів АОС і продуктів ПОЛ у тимусі морських свинок при ЕАА, що свідчить про порушення функціонального стану про- та антиоксидантної системи, та доводять їх важливу роль у патогенезі ЕАА.

Такі отримані результати свідчать про значні зміни у стані про- та антиоксидантної систем у тимусі тварин із екзогенним алергічним альвеолітом та є важливими для кращого розуміння патогенезу ЕАА. Дані дослідження дають можливість для пошуку більш ефективних і результативних способів корекції виявлених змін при ЕАА.

ЛІТЕРАТУРА

1. Регеда М.С., Грицко Р.Ю., Любінець Л. А. Екзогенний алергічний альвеоліт. - Львів: Сполом, 2007. - 200с.

2. Екзогенний алергічний альвеоліт: монографія / [М.С. Регеда, Р.Ю. Грицко, І.Г. Гайдучок та ін.]. [2-ге видання, доповнене і перероблене]. – 2007. – 200 с..

3. Положення про Комітет з питань етики (біоетики) / (Нормативний документ Міністерства освіти, науки, молоді та спорту України. Наказ від 19.11.2012 № 1287): Нормативно-правова база Міністерства освіти і науки України (офіційний веб-сайт) [Електронний ресурс] / Режим доступу до документу:[**http://www.mon.gov.ua/ua/activity/63/64/normativno-pravova-baza/**](http://www.mon.gov.ua/ua/activity/63/64/normativno-pravova-baza/).

4. Біоетична експертиза доклінічних та інших наукових досліджень, що виконуються на тваринах (методичні рекомендації) / О. Г. Резніков, А. І. Соловйов, Н. В. Добреля, О. В. Стефанов // Вісник фармакології та фармації. – 2007. – № 7. – С. 47–61.

5. Орехов О. О. Патоморфология легких и микроциркуляторного русла малого круга кровообращения при хроническом экспериментальном аллергическом альвеолите / О. О. Орехов, Ю. А. Кирилов // Архив патологии.– 1985.– № 10.– С. 54–61.

6.Holmes R. Epigenetic interconversions of the multiple forms of mouse liver catalase / R. Holmes, C. Masters // FEBS Lett. – 1970. – Vol. 11, N 1. – P. 45–48..

7.Fried R. Enzymatic and non-enzymatic assay of super oxide dismutase // Biochemie.- 1975.-57. 6 5 - P. 657 – 660

8. Гаврилов В. Б. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови / В. Б. Гаврилов, М. И. Мишкорудная // Лабораторная диагностика ишемической болезни сердца. – К. : Здоров’я, 1989. – С. 170–171.

9. Коробейникова Э. Н. Модификация определения продуктов ПОЛ в реакции с тиобарбитуровой кислотой / Э. Н. Коробейникова // Лабораторное дело. – 1989. – № 7. – С. 8– 10.

**UDK** 616.24-002-008.6-056.3-078.839-06:612.014.484]-08

DOI

Marta Kovalska

Lviv National Medical University named after. D. Galytsky

**CHANGES IN TUMUE OF ANIMALS OF PARAMETERS OF PROOXIDATIVE AND ANTIOXIDANT SYSTEMS UNDER THE CONDITIONS FOR FORMATION OF EXPERIMENTAL ALLERGEN ALVELOLITIS**

**Resume.** In this paper it is established that under the conditions of the development of experimental allergic alveolitis at the 34th day the concentration of malonic aldehyde increases due to the strengthening of lipid peroxidation processes. These changes indicate that in the pathogenesis of the development of experimental allergic alveolitis in guinea pigs an important role is played by the processes of lipid peroxidation and enzyme and non-enzymatic levels of the antioxidant system, as well as the significant depletion of the enzyme chain of the antioxidant glutathione system on the 34th day.

**Objective**: To study the state of the pro- and antioxidant system in the thymus of animals at different periods of development of EAA.

**Materials and methods**. Experiments were conducted on 36 guinea pigs, body weight 0.18-0.20 kg. Distributed to four groups (nine animals in each). Intact guinea pigs-the first group (control). Animals with experimental allergic alveolitis (EAA) - the second, third, and fourth groups, respectively, for 1, 2, and 34 days of the experiment. Determination of tests that reflect the processes of prooxidant (DC, MDA) and antioxidant systems (SOD, catalase) in the thymus were performed in intact guinea pigs and in animals with experimental allergic alveolitis. Experimental AA - by the method of OO Orekhov, Yu.A.Kyrilov, 1985; The animals were decapitated under the ethereal anesthesia on the 1st, 2nd, 34th day of the experiment. They conducted a fence of thymus, from which homogenate was prepared.

In the homogenate, the activity of catalase (CT) - B.Holmes, C.Masters; superoxide dismutase (SOD) - R.Fried, as well as the content of diene conjugates (DK) by the method of VBGavrilov, MI Mishkorudnoy and determined the level of malonic dialdehyde (MDA) by E.N.Korobainikov's method. Statistical processing of digital data was carried out using the Styuden method.

**Results of the study and their discussion**. The results of our research have found that the activity of the enzymes AOS varied unidirectionally, depending on the periods of formation of the experimental AA.

**As a result** of the conducted studies, it has been shown that in guinea pigs with experimental AA there is an increase in LPP products both in its initial and in its final stages. The findings of the findings indicate significant changes in the state of pro- and antioxidant systems in the thymus of animals with exogenous allergic alveolitis and are important for a better understanding of the pathogenesis of EAA. These studies provide an opportunity to find more effective and effective ways to correct the detected changes in EAA.

**Key words**: experimental allergic alveolitis, thymus, diene conjugates, malonic dialdehyde, superoxide dismutase, catalase.

**UDK** 616.24-002-008.6-056.3-078.839-06:612.014.484]-08

DOI

М.Е. Ковальская

Львовский национальный медицинский университет им. Д. Галицкого

**ИЗМЕНЕНИЯ В ТИМУСЕ ЖИВОТНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПРООКСИДАНТНО И АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМ В УСЛОВИЯХ ФОРМИРОВАНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АЛЛЕРГИЧЕСКОВО АЛЬВЕОЛИТА**

**Резюме.** В данной работе установлено, что в условиях развития экспериментального аллергического альвеолита на 34-ю суток возрастает концентрация малонового альдегида за счет усиления процессов перекисного окисления липидов. Данные изменения указывают, что в патогенезе развития экспериментального аллергического альвеолита в море ских свинках важную роль играют процессы перекисного окисления липидов и ферментативной и неферментативной звена антиоксидантной системы, а также значительное истощение ферментативной звена антиоксидантной глутатионовой системы на 34-е сутки.

**Цель**: изучение состояния про- и антиоксидантной системы в тимусе животных в разные периоды развития ЕАА.

**Материалы и методы**. Опыты были проведены на 36 морских свинках массой тела 0,18-0,20 кг. Разделили на четыре группы (девять животных в каждой). Интактные морские свинки первых группу (контроль). Животные с экспериментальным аллергическим альвеолитом (ЕАА) - вторая, третья, четвертая группы, соответственно на 1, 2, и 34 суток эксперимента. Определение тестов, которые отражают процессы прооксидантного (ДК, МДА) и антиоксидантной систем (СОД, каталаза) в тимусе осуществляли в интактных морских свинок и у животных с экспериментальным аллергическим алвеолитом. Экспериментальный АА - методом О.О.Орехова, Ю.А.Кирилова, 1985; Животных декапитировали под эфирным наркозом на первом, 2-ю, тридцать четвёртого суток проведения эксперимента. Проводили забор тимуса, из которого готовили гомогенат.

В гомогенате исследовали активность каталазы (КТ) - B.Holmes, C.Masters; супероксиддисмутазы (СОД) - R.Fried, а также содержание диеновых конъюгатов (ДК) - методом В.Б.Гаврилова, М.И.Мишкоруднои и определяли уровень малонового диальдегида (МДА) по - методом Э.Н.Коробейникова. Статистическая обработка цифровых данных проводилось с использованием метода Стюдента.

**Результаты исследования и их обсуждение** Результатами наших исследований установлено, что активность ферментов АОС изменений однонаправленно в зависимости от периодов формирования экспериментального АА. В результате проведенных исследований показано, что у морских свинок с экспериментальным АА наблюдается повышение продуктов ПОЛ как начального, так и завершающего его этапов.

**Выводы** полученные результаты свидетельствуют о значительных изменениях в состоянии про- и антиоксидантной систем в тимусе животных с экзогенным аллергическим альвеолитом и важны для лучшего понимания патогенеза ЕАА. Данные исследования дают возможность для поиска более эффективных и результативных способов коррекции выявленных изменений при ЕАА.

**Ключевые слова**: экспериментальный аллергический альвеолит, тимус, диеновые конъюгаты, малоновый диальдегид, супероксиддисмутаза, каталаза.