

УДК 616.24-002-008.6-056.3-057-092(612.017.1+612.015.11)

ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕНЕНИЙ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ПРООКСИДАНТНОЙ И АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМ В СЕЛЕЗЕНКЕ И ТИМУСЕ В ПОЗДНИЙ ПЕРИОД РАЗВИТИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АЛЛЕРГИЧЕСКОГО АЛЬВЕОЛИТА И ИХ КОРРЕКЦИЯ КОРВИТИНОМ

Матолинец Т.М.

Львовский национальный медицинский университет имени Данила Галицкого, Львов, Украина (79010, Украина, г. Львов, ул. Пекарская, 69)

Работа посвящена изучению роли нарушений функционального состояния прооксидантной и антиоксидантной систем в тимусе и селезенке морских свинок в патогенезе экспериментального аллергического альвеолита и возможности коррекции возникших нарушений корвитином. Начиная с 74-х суток эксперимента установлено повышение уровня образования продуктов липопероксидации, которое достигло наивысших цифр на 94-е сутки эксперимента. Особенно выраженные изменения наблюдались в центральном иммунном органе тимусе и в меньшей степени в периферическом – селезенке. Развитие экспериментального аллергического альвеолита сопровождалось поэтапным снижением активности каталазы, супероксиддисмутазы, пероксидазы, церулоплазмينا в зависимости от длительности действия антигенного фактора (74, 84, 94-е сутки). Особенно выраженным было снижение активности ферментов антиоксидантной системы в исследуемых иммунных органах в поздний период (94-е сутки) наблюдения, что свидетельствует о ее истощении. Использование флавоноидного препарата корвитина оказывало положительное корригирующее влияние на нарушенное состояние липопероксидации и антирадикальной защиты и сопровождалось возрастанием активности ферментов антиоксидантной системы и снижением содержания малонового диальдегида и диеновых конъюгатов в тимусе и селезенке животных с экспериментальным аллергическим альвеолитом.

Ключевые слова: пероксидное окисление липидов, антиоксидантная система, экспериментальный аллергический альвеолит, корвитин.

PECULIARITIES OF CHANGES IN FUNCTIONAL CONDITION OF PROOXIDANT AND ANTIOXIDANT SYSTEMS IN THE SPLEEN AND THYMUS AT LATE PERIODS OF EXPERIMENTAL ALLERGIC ALVEOLITIS DEVELOPMENT AND THEIR CORRECTION WITH CORVITIN

Matolinets T.M.

Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv, Ukraine (69 Pekarska str., Lviv, 79010, Ukraine)

The research deals with substantiation of the role and peculiarities of disturbances of oxidant and antioxidant systems' functional condition in immune organs in pathogenesis of experimental allergic alveolitis and their correction with corvitin. Gradual excessive formation of lipid peroxidation products, which started from the 74th day of experiment and achieved the highest index on the 94th day, at the same time gradual decrease in activities of superoxide dismutase, catalase, peroxidase, ceruloplasmin, which was the most manifested in central (thymus) and less in peripheral immune organs (spleen) from the 74th to 94th days of experimental allergic alveolitis development have been shown for the first time. Positive corrective influence of corvitin on deviated condition of lipid peroxidation and antiradical defence has been proved for the first time, which was manifested by increase in activities of catalase, superoxide dismutase, peroxidase, ceruloplasmin, glutathione reductase and decreased level of malonic dialdehyde and diene conjugates in thymus and spleen in experimental allergic alveolitis.

Keywords: peroxide lipid oxidation, antioxidant system, experimental allergic alveolitis, corvitin.

Введение. Экзогенный аллергический альвеолит (ЭАА) – иммунопатологическое заболевание, в патогенезе которого главную роль играют аллергические реакции III и IV типов (по классификации Gell и Coombs) [8]. Иммунные комплексы формируются в легких при взаимодействии ингалированного антигена и IgG с развитием повреждения интерстиция и альвеол. Антигенами выступают в основном продукты грибкового и бактериального

происхождения, животные белки и низкомолекулярные химические соединения. Продукты активации нейтрофилов и макрофагов, которые при этом высвобождаются, вызывают альтерацию и поддерживают развитие реакций гиперчувствительности замедленного типа. Происходит формирование гранулем и развитие интерстициального фиброза [8]. Однако степень повреждения и необратимость изменений легочной архитектоники разные, в зависимости от природы ингалированных частиц, иммунного ответа и характера экспозиции данного антигена. Учитывая то, что на поздних стадиях развития ЭАА возникают необратимые изменения, ведущие к инвалидизации больных [4], данное заболевание следует считать тяжелой патологией, а изучение всех звеньев патогенеза этого заболевания и путей его коррекции актуальным. Пока еще не изученными остаются состояние про- и антиоксидантной систем в тимусе и селезенке животных в поздние периоды развития ЭАА и пути коррекции выявленных изменений. Поэтому с этой целью использовали корвитин – модулированную форму кверцетина. Кверцетин является представителем флавонов класса флавоноидов, который обладает высокими антирадикальными, антиоксидантными, мембраностабилизирующими и противовоспалительными свойствами [6].

Цель исследования. Изучить особенности изменений функционального состояния прооксидантной и антиоксидантной систем в центральных и периферических органах иммунной системы в позднем периоде развития экспериментального аллергического альвеолита, а также эффективность их коррекции корвитином.

Материал и методы исследования. Исследования проводились на морских свинках - самцах (n = 60) массой 480 – 500 г, которые находились на стандартном рационе вивария. Экспериментальные исследования на животных выполнялись с соблюдением постановления Первого национального конгресса по биоэтике о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и научных целей (Киев, 2001). Животных распределяли на 5 групп (n = 12): I группа – контрольные животные, II, III и IV группа – животные с ЭАА соответственно на 74, 84, 94-е сутки эксперимента, V группа – животные с ЭАА на 94-е сутки эксперимента, которым в течение 10 дней вводили внутривенно препарат «Корвитин» (Борщаговский химико-фармацевтический завод, Украина) в дозе 40 мг / кг. Воспроизводили модель ЭАА по методике Орехова А.А. и Кириллова Ю.А. [7]. Вызывали ЭАА путем введения 0,2 мл полного адьюванта Фрейнда в заднюю лапку животных с целью накопления антигена в легочной ткани. Через 2 недели после иммунизации 6 раз с интервалом 10 суток внутривенно вводили 0,2 мл 1%-ной суспензии вакцины БЦЖ (бацилла Кальметта-Герена). Для исследований использовали гомогенат тимуса и селезенки. Уровень активности свободнорадикального окисления и функциональное состояние антиоксидантной системы (АОС) оценивали по содержанию

малонового диальдегида (МДА) [3] и диеновых конъюгатов (ДК) [1], активности каталазы (КТ) [10], активности пероксидазы (ПО) [5], активности супероксиддисмутазы (СОД) [9], уровню церулоплазмина (ЦП) [2]. Статистическую обработку данных проводили с помощью программы Statgraphics с использованием t-критерия Стьюдента. Изменения считали достоверными при $P < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение. Экспериментальные исследования показывают, что на 74-е сутки формирования ЭАА происходил рост уровня МДА на 87,5% ($P < 0,05$) в тимусе по сравнению с контролем. Впоследствии на 84-е сутки ЭАА было обнаружено дальнейшее повышение содержания МДА на 237,5% ($P < 0,05$) относительно показателей группы интактных животных. Позже, на 94-е сутки этой экспериментальной модели болезни наблюдался существенный рост исследуемого показателя на 412,5% ($P < 0,05$) против контроля.

На 74 – 94-е сутки эксперимента наблюдались аналогичные изменения уровня ДК в тимусе животных. В частности, установлено в этот период ЭАА повышение содержания ДК на 100,0% ($P < 0,05$) от контроля на 74-е сутки, на 84 -е сутки – на 200,0% ($P < 0,05$) и на 94-е сутки содержание ДК возрастало на 300,0% ($P < 0,05$) против группы интактных животных, что свидетельствует об интенсивном накоплении продуктов перекисного окисления липидов в зависимости от продолжительности действия антигена.

В тимусе на 74-е сутки ЭАА было обнаружено отчетливое снижение активности ЦП на 40,7% ($P < 0,05$) по сравнению с группой интактных морских свинок. В другие сроки, в частности на 84-е сутки эксперимента, наблюдалось дальнейшее падение уровня ЦП на 50,1% ($P < 0,05$), которое сохранило эту тенденцию на 94-е сутки эксперимента - на 61,8% ($P < 0,05$), что дает основания утверждать о развитии дефицита его в тимусе при ЭАА.

Результаты исследований показали, что у морских свинок на 74-е сутки ЭАА происходило снижение активности СОД в тимусе на 46,6% ($P < 0,05$) против контроля. Снижение этого показателя на 53,5% ($P < 0,05$) и 61,5% ($P < 0,05$) на 84-е и 94-е сутки относительно группы интактных животных позволяет констатировать угнетение активности СОД, особенно в поздний период развития ЭАА. Активность ПО на 74-е сутки эксперимента была ниже контроля на 25,2% ($P < 0,05$), а затем на 84-е и 94-е сутки происходило дальнейшее падение исследуемого показателя соответственно на 43,5% ($P < 0,05$) и 59,7% ($P < 0,05$) против контроля, что свидетельствует об истощении этого компонента ферментативной антиоксидантной защиты. На 74-е сутки эксперимента было выявлено существенное угнетение активности КТ в тимусе на 43,8% ($P < 0,05$), на 84-е и 94-е сутки - на 73,8% ($P < 0,05$) и 78,7% ($P < 0,05$) соответственно относительно контроля, что указывает на развитие дефицита каталазной активности в условиях формирования ЭАА.

Таким образом, в тимусе в динамике развития ЭАА возникало избыточное образование как первичных, так и вторичных продуктов липопероксидации, особенно в отдаленные сроки (94-е сутки) наблюдения на фоне недостаточности ферментативной и неферментативной антирадикальной защиты, что свидетельствует о заметном нарушении равновесия между прооксидантной и антиоксидантной системами. Вероятно, в таком случае создаются благоприятные условия для прогрессирования этой болезни и развития различных осложнений. Поэтому для коррекции выявленных нарушений при ЭАА целесообразным было использование мощного антиоксиданта корвитина.

После применения корвитина в тимусе снижались уровни ДК на 200,0% ($P < 0,05$) и МДА на 46,3% ($P < 0,05$) по сравнению с группой морских свинок с ЭАА без коррекции (рис. 1).

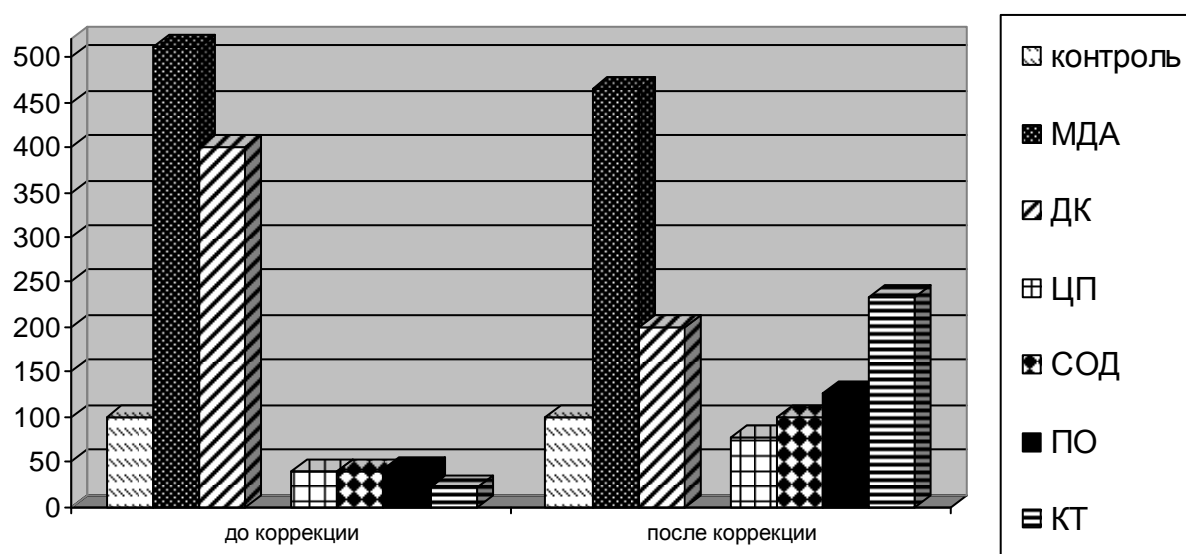


Рис. 1. Влияние корвитина на показатели прооксидантной и антиоксидантной систем в тимусе морских свинок с ЭАА (в % до и после коррекции на 94-е сутки эксперимента).

Использование корвитина вызвало повышение активности СОД на 39,2% ($P < 0,05$) и КТ на 212,5% ($P < 0,05$) в тимусе животных, что свидетельствует о его положительном воздействии на исследуемые показатели. Наблюдалось также повышение активности ПО на 86,1% ($P < 0,05$) и ЦП на 75,8% в тимусе относительно группы морских свинок с ЭАА без коррекции. Таким образом, использование корвитина с целью коррекции выявленных изменений показателей прооксидантной и антиоксидантной систем в тимусе животных с ЭАА, вызвало угнетение процессов липопероксидации и активацию антиоксидантной системы.

Проведенные исследования содержания первичных и конечных продуктов ПОЛ в селезенке морских свинок показали постепенное их повышение, которое достигло максимальных значений на 94-е сутки ЭАА. Таким образом, на 74-е сутки эксперимента было установлено повышение содержания МДА на 54,1% ($P < 0,05$) и ДК на 80,9% ($P < 0,05$)

относительно контроля. Впоследствии, на 84-е и 94-е сутки развития ЭАА, происходило дальнейшее возрастание уровня МДА и ДК в селезенке соответственно на 108,7% ($P < 0,05$) и 100,0% ($P < 0,05$) на 84-е сутки, на 94-е сутки - на 137,5% ($P < 0,001$) и на 144,2% ($P < 0,05$) по сравнению с контрольной группой. Полученные данные указывают на развитие дефицитного состояния со стороны антиоксидантной системы в селезенке при ЭАА. Активность ЦП во все дни эксперимента постепенно снижалась соответственно на 37,6% ($P < 0,05$), на 45,0% ($P < 0,05$) и на 51,1% ($P < 0,05$) по сравнению с группой интактных животных. Установлено также снижение активности СОД на 34,7% ($P < 0,05$), на 40,7% ($P < 0,05$) и 50,0% ($P < 0,05$) относительно контроля соответственно на 74, 84, 94-е сутки исследований. В селезенке морских свинок на 74-е сутки формирования ЭАА происходило умеренное снижение активности ПО на 29,6% ($P < 0,05$) против контроля. На 84-е сутки эксперимента снижение этого фермента происходило на 41,6% ($P < 0,05$) и достигло самых низких показателей (на 52,8%, $P < 0,05$) в поздний период исследования (94-е сутки) по сравнению с интактными животными, что свидетельствует об истощении активности одного из важных ферментов антиоксидантной защиты. В начале исследования (на 74-е сутки) наблюдалось незначительное снижение активности КТ на 18,1% ($P < 0,05$) по сравнению с контролем, на 84-е и 94-е сутки активность КТ в селезенке снижалась соответственно на 26,4% ($P < 0,05$) и 41,2% ($P < 0,05$) относительно контроля. Использование корвитина вызывало снижение содержания ДК на 20,1% ($P < 0,05$) и МДА на 24,6% ($P < 0,05$) в селезенке по сравнению с группой животных, которым не вводили этот лекарственный препарат, что указывает на его антиоксидантный эффект (рис. 2).

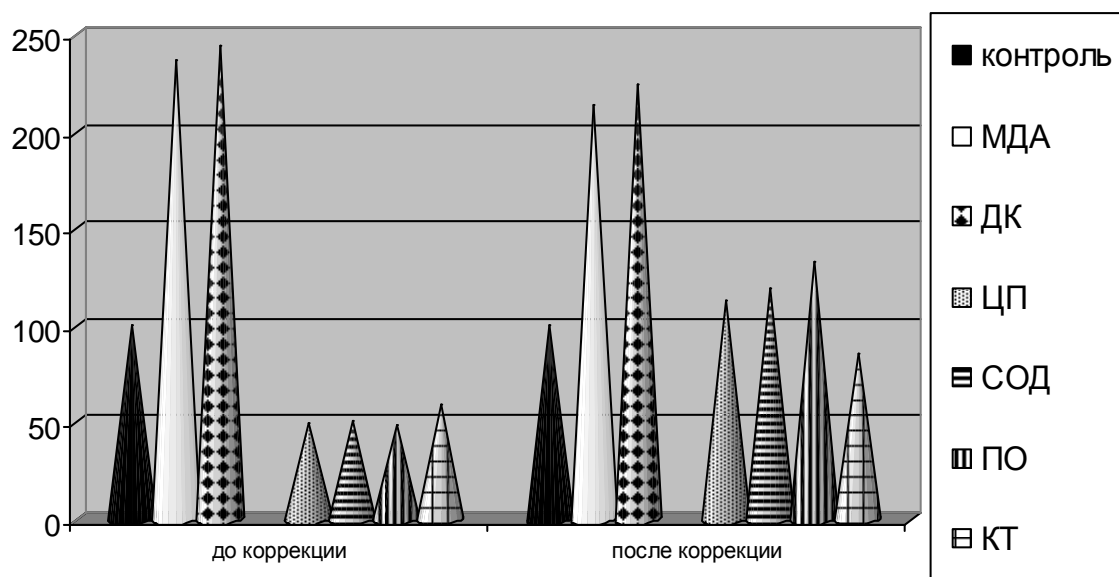


Рис. 2. Влияние корвитина на показатели прооксидантной и антиоксидантной систем в селезенке морских свинок с ЭАА (в % до и после коррекции на 94-е сутки эксперимента).

После коррекции возросла активность СОД на 69,3% ($P < 0,05$) и КТ на 44,8% ($P < 0,05$) в селезенке по сравнению с группой морских свинок с ЭАА. Также наблюдался в селезенке рост активности ПО на 80,2% ($P < 0,05$) и ЦП на 61,6% ($P < 0,05$) против показателей группы животных с ЭАА.

Выводы

- Экспериментальный аллергический альвеолит сопровождается активацией процессов свободнорадикального окисления липидов и заметным угнетением антиоксидантной защиты как в центральном, так и в периферическом органах иммунной системы, особенно в поздний период развития аллергического альвеолита.
- Применение корвитина положительно влияет на течение экспериментального аллергического альвеолита, что подтверждается снижением содержания продуктов липопероксидации - диеновых конъюгатов и малонового диальдегида в селезенке и в тимусе и ростом антиоксидантной защиты, свидетельством чего есть повышение активности исследуемых ферментов антиоксидантной системы.

Список литературы

1. Гаврилов В.Б., Мышкорудная В.И. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме // Лабораторная диагностика ишемической болезни сердца. – Киев : Здоров'я, 1989. – С. 170–171.
2. Колб В.Г., Камышников В.С. Справочник по клинической химии. – М. : Минск, 1982. – 366 с.
3. Коробейников Э.Н. Модификация определения продуктов ПОЛ в реакции с тиобарбитуровой кислотой // Лабораторное дело. – 1989. – № 7. – С. 8–10.
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. Методы исследований в профпатологии / под ред. О.Г. Архиповой. – М. : Медицина, 1988. – 153 с.
6. Мойбенко А.А. Патогенетическое обоснование эффективности отечественного кардиопротектора Корвитина (водорастворимого кверцетина) при остром инфаркте миокарда // Вісник фармакології та фармації. – 2008. – № 5. – С. 38–47.
7. Орехов О.О., Кириллов Ю.А. Патоморфология легких и микроциркуляторного русла малого круга кровообращения при хроническом экспериментальном аллергическом альвеолите // Архив патологии. – 1985. – № 10. – С. 54–61.

8. Шмелев Е.И. Экзогенные аллергические альвеолиты // Пульмонология и аллергология. – 2003. – № 4. – С. 3–9.
9. Fried R. Enzymatic and non-enzymatic assay of superoxidedismutase // Biochemie. – 1975. – Vol. 57, № 5. – P. 657–660.
10. Holmes R., Masters C. Epigenetic interconversions of the multiple forms of mouse liver colase // FEBS lett. – 1970. – Vol. 11, № 1. – P. 45–48.

Сведения о рецензентах:

Огоновский Р.З., д.м.н., профессор кафедры хирургической стоматологии и челюстно-лицевой хирургии Львовского национального медицинского университета им. Данила Галицкого, г. Львов.

Регеда М.С., д.м.н, профессор, заведующий кафедрой патологической физиологии Львовского национального медицинского университета им. Данила Галицкого, г. Львов.