

УДК: 616.24-002-056.3:616.438]-092.9

СТАН ПРО- ТА АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМ У ПАРАТРАХЕАЛЬНИХ ЛІМФАТИЧНИХ ВУЗЛАХ У ТВАРИН ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АЛЕРГІЧНОГО АЛЬВЕОЛІТУ**О.М. МАТОЛІНЕЦЬ**

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, м. Львів

e-mail: moksanam@ukr.net

тел.прив. (+38) 097-907 19 71

СОСТОЯНИЕ ПРО- И АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМ В ПАРАТРАХЕАЛЬНЫХ ЛИМФАТИЧЕСКИХ УЗЛАХ ЖИВОТНЫХ С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ АЛЛЕРГИЧЕСКИМ АЛЬВЕОЛИТОМ**О.М. МАТОЛИНЕЦ**

В работе изучалось состояние про- и антиоксидантной систем в паратрахеальных лимфатических узлах морских свинок на 74-ю, 84-ю и 94-ю сутки эксперимента в динамике экспериментального аллергического альвеолита. После проведения эксперимента было установлено постепенное понижение активности ферментов антиоксидантной системы с одновременным повышением уровня показателей прооксидантной системы в костром мозге животных с экзогенным аллергическим альвеолитом.

Ключевые слова: экспериментальный аллергический альвеолит, антиоксидантная система, прооксидантная система, паратрахеальные лимфатические узлы.

UDC: 616.24-002-056.3:616.438]-092.9

THE CONDITION OF PRO- AND ANTIOXIDANT SYSTEMS IN THE PARATRACHEAL LYMPHADENS IN ANIMALS WITH EXPERIMENTAL ALLERGIC ALVEOLITIS**О.М. MATOLINETS**

In the work has been studied prooxidant and antioxidant systems in the paratracheal lymphadens of guinea pigs with experimental allergic alveolitis on 74-th, 84-th, 94-th day of the experiment. After the experiments it was found a gradual decrease in the activity of antioxidant enzymes and increasing the level of diene conjugates and malonic dialdehyde, which can be important in the mechanism of formation of allergic alveolitis.

Keywords: experimental allergic alveolitis, antioxidant system, prooxidant system, paratracheal lymphadens.

ВСТУП

Екзогенний алергічний альвеоліт (ЕАА) – це імунопатологічне захворювання, яке вперше було описано у 1932 році J. Campbell [10]. У патогенезі ЕАА основну роль відіграють алергічні реакції III і IV типів (за класифікацією Gell і Coombs) [3,6,11]. Здебільшого у ролі алергену виступають речовини грибкового, бактерійного походження, тваринні білки та низькомолекулярні хімічні сполуки. Імунокомплексні реакції (3-й тип) відбуваються при взаємодії інгальованого антигену та Ig G з розвитком пошкодження інтерстицію легень і альвеол. Крім цього, активовані нейтрофіли і макрофаги вивільняють прозапальні і токсичні продукти та викликають посилення гострого запального процесу та підтримання реакцій гіперчутливості сповільненого типу. Відбувається формування гранулем та розвивається інтерстиційний фіброз легень. Проведене ДНК-типуння алелів HLA II класу встановило наявність генетичних маркерів щодо спадкової схильності та резистентності у розвитку ЕАА у дітей та підлітків окремих популяцій [1]. Проте, ступінь пошкодження і незворотність змін легеневої архітектоніки залежить від багатьох факторів: характеру експозиції антигену, природи інгальованих частинок та імунної відповіді пацієнта.

На сьогодні не існує специфічних тестів для виявлення ЕАА, тому постановка діагнозу здебільшого ґрунтується на клінічних даних, а проведення диференційної діагностики ускладнює цей процес. Враховуючи те, що на пізніх стадіях розвитку ЕАА виникають незворотні зміни, які ведуть до інвалідизації хворих [10,11], дане захворювання слід вважати тяжкою патологією, а вивчення усіх ланок патогенезу цього захворювання та шляхів його корекції актуальним.

На даний час залишаються не вивченими стан антиоксидантної та прооксидантної систем імунних органів в генезі ЕАА, тому є цікавим дослідження змін стану про- та антиоксидантної систем у окремих імунних органах у пізні періоди розвитку цього захворювання.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дослідження проводились на мурчаках-самцях ($n = 46$) масою 480–500 г, які знаходились на стандартному раціоні віварію. Експериментальні дослідження на тваринах виконувалися з дотриманням ухвали Першого національного конгресу з біоетики про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та наукових цілей (Київ, 2001) та за погодження комісії з біоетики Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького. Морські свинки розподіляли на чотири групи: перша – контроль, інтактні ($n = 10$) морські свинки; друга – морські свинки ($n = 12$) з ЕАА на 74-у добу від початку введення антигену; третя – морські свинки ($n = 12$) з ЕАА на 84-у добу від початку введення антигену; четверта – морські свинки ($n = 12$) з ЕАА на 94-у добу від початку введення антигену. Відтворювали модель ЕАА за методикою Орехова О.О. і Кірілова Ю.А. [9]. Викликали ЕАА шляхом введення 0,2 мл повного ад'юванта Фрейнда в задню лапку мурчака з метою нагромадження антигену у легеневій тканині. Через 2 тижні після імунізації 6 разів з інтервалом 10 діб внутрішньовенно вводили 0,2 мл 1%-ї суспензії вакцини БЦЖ (бацила Кальметта-Герена). Для біохімічних досліджень брали тканину паратрахеальних лімфатичних вузлів (ПЛВ), з яких готували гомогенат на мікроподрібнювачі тканин РТ-2. Визначення процесів активності вільнорадикального окиснення та функціональний стан антиоксидантної системи (АОС) оцінювали за вмістом в гомогенаті ПЛВ малонового діальдегіду (МДА) [5], вмістом дієнових кон'югатів (ДК) [2], активністю каталази (КТ) [13], активністю пероксидази (ПО) [7], активністю супероксиддисмутази (СОД) [12], рівнем церулоплазміну (ЦП) [4], активністю глутатіонредуктази (ГР) [8]. Статистичну обробку даних проводили за допомогою програми "Statgraphics" із використанням t - критерію Стьюдента. Зміни вважали достовірними при $P < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Для оцінки стану про- та антиоксидантної систем у тварин в процесі розвитку ЕАА було досліджено активність КТ, СОД, ГР, ПО, рівень ЦП, МДА та ДК у паратрахеальних лімфатичних вузлах тварин на 74-у, 84-у та 94-у доби з початку експерименту.

Як видно із рисунку 1, активність досліджуваних ферментів АОС знижувалася у всі періоди експерименту, тоді як рівень показників активності прооксидантної системи, навпаки, зростав.

Так, результати досліджень показали, що на початку формування алергічного альвеоліту (74-а доба) було виявлено підвищення вмісту МДА в паратрахеальних лімфатичних вузлах на 45,2 % ($P < 0,05$) в порівнянні з контролем. Пізніше, на 84-у добу цієї експериментальної моделі хвороби, спостерігалось подальше зростання рівня МДА на 64,2 % ($P < 0,05$) і перевищувало показники групи інтактних тварин на 85,4 % ($P < 0,05$) на 94-у добу експерименту, що свідчило про стимуляцію процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) (рис. 1).

Визначення ДК у паратрахеальних лімфатичних вузлах на 74-у добу формування ЕАА показало їх підвищення на 45,5 % ($P < 0,05$) відносно фізіологічної норми. Згодом на 84-у добу було встановлено також зростання рівня ДК на 82,7 % ($P < 0,05$) і цей показник досягнув найвищих величин – зростав на 124,1 % ($P < 0,001$) у найвіддаленіший етап експерименту, що вказувало на активізацію процесів ліпопероксидації (рис. 1).

Отже, дослідження як первинних, так і вторинних продуктів ПОЛ в паратрахеальних лімфатичних вузлах показало, що найвиразніші зміни відбувалися в усі досліджувані етапи з перевагою у найпізніший період, що включав 94-у добу формування цієї експериментальної моделі хвороби.

Вивчення активності ферментів, зокрема ГР у паратрахеальних лімфатичних вузлах на тлі надмірного утворення продуктів ПОЛ виявило пригнічення її на 29,1 % ($P < 0,05$), 51,3 % ($P < 0,05$) і 58,8 % ($P < 0,001$) відповідно на 74-у, 84-у і 94-у доби розвитку алергічного альвеоліту (рис. 1).

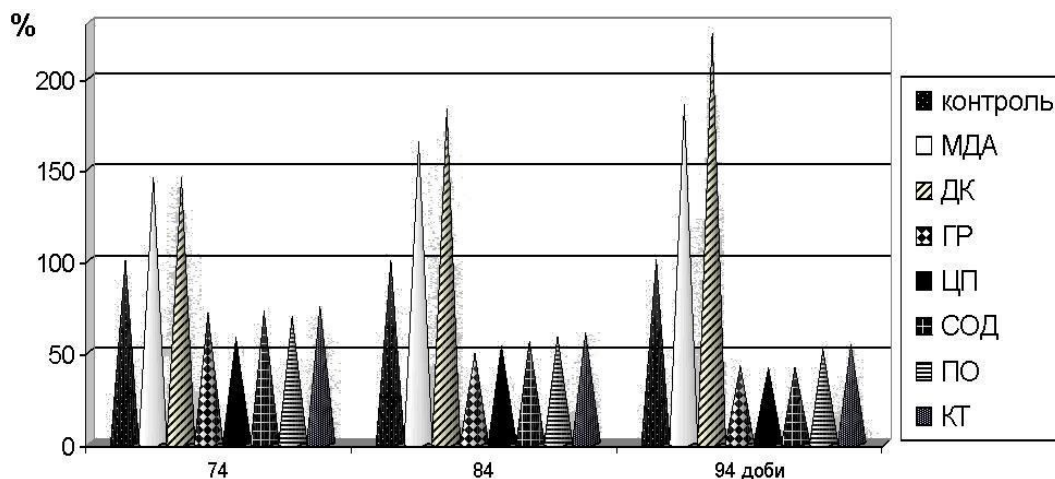


Рис. 1. Стан оксидантної і антиоксидантної систем в паратрахеальних лімфатичних вузлах морських свинок в динаміці формування ЕАА (в % від контролю).

Отже, дослідження активності ГР в паратрахеальних лімфатичних вузлах морських свинок за умов формування ЕАА показало її зниження в усі досліджувані періоди розвитку цієї експериментальної моделі хвороби, що свідчить про зниження механізмів захисту організму.

Дослідження іншого ферменту – рівня ЦП в паратрахеальних лімфатичних вузлах на 74-у добу експерименту показало зниження його на 43,3 % ($P < 0,05$) відносно показників контрольних тварин. Цей показник зазнавав ще більшого зниження на 47,3 % ($P < 0,05$) на 84-у добу розвитку ЕАА і найнижчим рівень ЦП спостерігався у тварин з ЕАА на 94-у добу його формування проти групи здорових тварин - на 59,0% ($P < 0,001$), що вказує на суттєве пригнічення антиоксидантного захисту у периферичних органах імунної системи тварин у пізні періоди генезу цієї експериментальної моделі хвороби (рис. 1).

Для з'ясування функціонального стану антиоксидантної системи в цілому має важливе значення дослідження активності СОД. Показано, що на 74-у добу розвитку ЕАА відбувалося зниження активності СОД на 28,2 % ($P < 0,05$) проти контролю. На 84-у добу експерименту спостерігалось подальше зниження активності цього ферменту на 45,9 % ($P < 0,05$) і в найпізніший етап дослідження (94-а доба) було виявлено найнижчі показники СОД в паратрахеальних лімфатичних вузлах на 59,3 % ($P < 0,001$) відносно групи інтактних тварин (рис. 1). Це дає підстави стверджувати, що на усіх етапах вивчення активності СОД відбувалося пригнічення цього фермента, який є важливим компонентом ферментативної ланки антирадикального захисту клітин.

Не менш суттєву антиоксидантну функцію виконує інший фермент – ПО, який досліджувався в паратрахеальних лімфатичних вузлах при ЕАА. Показано, що на 74-у і 84-у доби розвитку цієї експериментальної моделі хвороби спостерігалось її зниження відповідно на 31,5 % ($P < 0,05$) і 42,0 % ($P < 0,05$) проти контролю. У морських свинок на 94-у добу експерименту було встановлено аналогічний напрям змін. Активність ПО на 94-у добу дослідження знижувалася на 49,6 % ($P < 0,05$) відносно аналогічних показників у паратрахеальних лімфатичних вузлах контрольної групи тварин (рис. 1).

Одну з ключових функцій має інший фермент – КТ, щодо нейтралізації продуктів ліпопероксидації. Визначення КТ в паратрахеальних лімфатичних вузлах на 74-у добу ЕАА показало зниження її на 26,3% ($P < 0,05$) відносно фізіологічної норми. Згодом на 84-у добу експерименту було виявлено і надалі зниження активності КТ на 40,0 % ($P < 0,05$) і найнижчих значень набув цей показник на 94-у добу ЕАА, він знижувався на 47,6 % ($P < 0,05$) проти контрольної групи тварин, що свідчило про помітне виснаження антиоксидантної системи за умов формування алергічного альвеоліту (рис. 1).

Отже, такі отримані результати свідчать про значні зміни у стані про- та антиоксидантної систем у паратрахеальних лімфатичних вузлах тварин із ЕАА та є важливими для кращого розуміння патогенезу ЕАА. Дані дослідження дають можливість здійснювати пошук ефективних і результативних способів корекції виявлених змін при ЕАА.

ВИСНОВКИ

Проведене комплексне біохімічне дослідження показників оксидантної (ДК і МДА) та антиоксидантної систем в динаміці формування ЕАА показало поступове надмірне нагромадження продуктів ліпопероксидації на тлі суттєвого пригнічення антирадикального захисту, що вказує на переважання механізмів пошкодження над механізмами захисту. Одержані результати досліджень дають можливість констатувати про наявність порушень функціонального стану прооксидантної і антиоксидантної систем за умов формування алергічного альвеоліту у пізні періоди його розвитку.

ВІДПОВІДНІСТЬ ЕТИЧНИМ СТАНДАРТАМ

Експерименти на тваринах проведені відповідно до положень Гельсінкської Декларації 1975 року, переглянутої та доповненої в 2002 році, директив Національних Комітетів з етики наукових досліджень.

Проведення експериментів схвалено Комітетом з етики. Дотримано сучасні правила утримання і використання лабораторних тварин, що відповідають принципам Європейської Конвенції про захист хребетних тварин, котрі використовуються для наукових експериментів і потреб (Страсбург, 1985).

ЛІТЕРАТУРА

1. Абдуллаев Ф.М. Иммуногенетические маркеры риска развития экзогенного аллергического альвеолита у детей и подростков Азербайджанской популяции / Ф.М. Абдуллаев, А.А. Эюбова, Л.И. Аллахвердиева // Иммунология. – 2004. – № 2. – С. 98-100.
2. Гаврилов В.Б. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме / В.Б. Гаврилов, В.И. Мышкорудная // Лабораторная диагностика ишемической болезни сердца. – К. : Здоровья, 1989. – С. 170-171.
3. Добрянський С.Б. Активність супероксиддисмутази в тимусі морських свинок за умов розвитку алергічного альвеоліту/ С.Б. Добрянський // Здобутки клінічної і експериментальної медицини. – 2010. – № 2. – С.123.
4. Колб В.Г. Справочник по клинической химии / В.Г. Колб, В.С. Камышников. – М.: Минск, 1982. – 366 с.
5. Коробейников Э.Н. Модификация определения продуктов ПОЛ в реакции с тиобарбитуровой кислотой / Э.Н. Коробейников // Лабораторное дело. – 1989. – № 7. – С. 8-10.
6. Косарев В.В. Экзогенный аллергический альвеолит в терапевтической и профпатологической практике семейного врача / В.В. Косарев, С.А. Бабанов // Новые Санкт-Петербургские врачебные ведомости. – 2012. – № 1. – С. 56-63.
7. Методы исследований в профпатологии // Под ред. О.Г. Архиповой. – М.: Медицина, 1988. – С.153.
8. Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен) // Под ред. М.И. Прохоровой. – Л.: Ленингр. ун-та, 1982. – С. 70-71.
9. Орехов О.О. Патоморфология легких и микроциркуляторного русла малого круга кровообращения при хроническом экспериментальном аллергическом альвеолите / О.О. Орехов, Ю.А. Кириллов // Архив патологии. – 1985. – №10. – С. 54-61.
10. Рєгєда М.С. Екзогенний алергічний альвеоліт / М.С. Рєгєда // — Л.: Сполом, 2007. — 165 с.
11. Шмєлєв Е.И. Экзогенные аллергические альвеолиты / Е.И. Шмєлєв // Пульмонология и аллергология. – 2003. – № 4. – С. 3-9.
12. Fried R. Enzymatic and non-enzymatic assay of superoxidedismutase / R. Fried // Biochemie. – 1975. – Vol.57., № 5. – P. 657-660.
13. Holmes R. Epigenetic interconversions of the multiple forms of mouse liver colase / R. Holmes, C. Masters // FEBS lett. – 1970. – Vol.11., №1. – P.45-48.

Дата поступления: 26.09.2013 р.