

АНОТАЦІЯ

Небелюк Н. М. Патолофізіологічні особливості перебігу експериментальної бронхіальної астми в умовах адреналінового пошкодження міокарда та їх корекція корвітином. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття ступеня доктора філософії за спеціальністю 222 – Медицина (22 – Охорона здоров'я). – Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького МОЗ України, Львів, 2021.

Дисертаційна робота присвячена вивченню особливостей порушень показників цитокінового профілю, клітинного та гуморального імунітету, процесів прооксидантної та антиоксидантної систем в крові, легенях і міокарді в динаміці (1-а, 4-а, 18-а і 25-а доби) розвитку експериментальної бронхіальної астми і адреналінового пошкодження міокарда до та після лікування препаратом корвітином.

Були проведені імунологічні, імуноферментні та біохімічні дослідження на 128 морських свинках (самцях), масою тіла 180-220 г, які утримувалися на стандартному раціоні віварію Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького.

Усі морські свинки розподілені на п'ять груп: перша – інтактні тварини – контроль (10 морських свинок); друга (дослідна) група містила 4 підгрупи (по 9 морських свинок у кожній) – тварини з БА відповідно на 1-у, 4-у, 18-у і 25-у доби експерименту (до лікування); третя (дослідна) група складалася з чотирьох підгруп (по 9 морських свинок у кожній) – тварини з АПМ відповідно на 1-у, 4-у, 18-у і 25-у доби експерименту (до лікування); четверта група містила 4 підгрупи (по 9 морських свинок у кожній) – тварини з БА і АПМ відповідно на 1-у, 4-у, 18-у і 25-у доби експерименту (до лікування); п'ята група – (10 морських свинок) – тварини на 25-у добу БА і АПМ, яким вводили внутрішньоочеревинно корвітин у дозі 40 мг/кг впродовж 10 днів (з 16-ої по 25-у доби).

Відтворювали модель експериментальної БА за методом В. І. Бабича. Адреналінове пошкодження міокарда моделювали за методом О. О. Маркової.

Бронхіальна астма поєднана з адреналіновим пошкодженням міокарда зумовлює зростання фактора некрозу пухлин та інтерлейкіну-6 в крові відповідно на 51,2 % (P<0,05), 61,5 % (P<0,05), 66,6 % (P<0,05), 74,3 % (P<0,05) та 28,3 % (P<0,05), 35,0 % (P<0,05), 45,0 % (P<0,05) і 65,0 % (P<0,05) та зниження рівня інтерлейкіну-10 на 23,0 % (P<0,05), 26,3 % (P<0,05), 43,9 % (P<0,05) і 47,2 % (P<0,05) проти контролю.

Поєднана патологія на усіх етапах свого формування супроводжується пригніченням клітинного та стимуляцією гуморального імунітету (зниження вмісту Т-лімфоцитів у крові на 4-у, 18-у і 25-у доби відповідно на 12,0 % (P<0,05), 32,0 % (P<0,05) і 41,2 % (P<0,05), на 1-у добу не спостерігалось достовірних змін; підвищення рівня В-лімфоцитів на 19,4 % (P<0,05), 25,3 % (P<0,05), 58,4 % (P<0,05) і 77,9 % (P<0,05) і циркулюючих імунних комплексів на 31,7 % (P<0,05), 36,2 % (P<0,05), 46,7 % (P<0,05) і 54,0 % (P<0,05) відповідно на 1-у, 4-у, 18-у і 25-у доби відносно інтактної групи тварин).

Динаміка формування бронхіальної астми і адреналінового пошкодження міокарда (1-а, 4-а, 18-а і 25-а доби) характеризується поступовим зростанням процесів ліпопероксидації на тлі пригнічення антиоксидантного захисту – підвищується вміст дієнових кон'югатів відповідно на 35,3 %, 42,7 %, 71,3 %, 78,7 % (P<0,05), малонового діальдегіду на 28,6 %, 33,9 %, 59,5 % і 68,7 % (P<0,05) та компенсаторне підвищення активності супероксиддисмутази на 10,8 % і 11,9 % (P<0,05), каталази на 14,8 % і 21,1 % (P<0,05), глутатіонредуктази в легенях на 61,1 % і 100,0 % (P<0,05) на 1-у і 4-у доби експерименту, а далі – на 18-у і 25-у доби експерименту відбувалося зниження СОД в легенях відповідно на 29,2 % і 40,3 % (P<0,05), КТ на 35,1 % і 52,0 % (P<0,05), ГР на 61,1 % і 77,8 % (P<0,05) в порівнянні з першою групою тварин, що вказувало на розвиток оксидантного стресу, який є одним з провідних механізмів пошкодження клітин.

У патогенезі формування поєднаної патології – бронхіальної астми і адреналінового пошкодження міокарда (1-а, 4-а, 18-а і 25-а доби) важливу роль відіграє розвиток оксидантного стресу, який проявляється підвищенням вмісту дієнових кон'югатів у міокарді відповідно на 38,2 %, 52,6 %, 79,0 % і 102,6 %

($P < 0,05$) і малонового діальдегіду на 33,6 %, 60,3 %, 67,8 %, 100,7 % ($P < 0,05$) та підвищенням активності супероксиддисмутази відповідно на 27,5 % і 15,8 % ($P < 0,05$), КТ на 22,3 %, 24,8 % ($P < 0,05$), ГР на 133,3 % і 155,6 % ($P < 0,05$) та зниження цих ензимів пізніше на 18-у і 25-а доби експерименту, СОД відповідно на 42,0 % і 51,1 % ($P < 0,05$), КТ на 23,0 % і 48,1 % ($P < 0,05$), ГР на 66,7 % і 87,8 % ($P < 0,05$) проти контролю.

Використання препарату корвітину призводило до зниження вмісту ФНП-альфа на 33,8 % ($P < 0,05$), ІЛ-6 на 49,4 %, В-лімфоцитів на 25,9 % ($P < 0,05$), ЦІК на 27,5 % ($P < 0,05$) в крові, ДК на 36,6 % ($P < 0,05$), МДА на 33,4 % ($P < 0,05$) в легенях, ДК на 39,0 % ($P < 0,05$), МДА на 33,8 % ($P < 0,05$) в міокарді та підвищення рівня ІЛ-10 на 54,1 % ($P < 0,05$), Т-лімфоцитів на 46,2 % ($P < 0,05$) в крові, підвищення активності СОД, КТ і ГР в легенях відповідно на 44,7 %, 82,9 % і 100,0 % ($P < 0,05$) та СОД, КТ і ГР в міокарді на 63,2 %, 62,9 %, 81,8 % ($P < 0,05$) проти групи тварин без впливу цього лікарського середника, що свідчило про його виражений антиоксидантний та імуномодулюючий ефект за умов розвитку бронхіальної астми і адреналінового пошкодження міокарда.

Наукова новизна одержаних результатів. Уперше встановлено патогенетичні особливості змін клітинного і гуморального імунітету, цитокиногенезу, прооксидантних і антиоксидантних процесів в крові, легенях і міокарді та доведена їхня участь в патогенезі формування бронхіальної астми і адреналінового пошкодження міокарда.

Уперше показано, що поєднана патологія (бронхіальна астма і адреналінове пошкодження міокарда) спричиняє поступове зростання рівня прозапальних цитокінів (фактора некрозу пухлин-альфа та інтерлейкіну-6) на тлі зниження протизапального цитокіну (інтерлейкіну-10) в крові на усіх етапах їх формування з перевагою на 18-у і 25-у доби експерименту.

Уперше з'ясовано, що бронхіальна астма і адреналінове пошкодження міокарда (1-а, 4-а, 18-а і 25-а доби) супроводжується стимуляцією гуморального в умовах депресії клітинного імунітету особливо на 18-у і 25-у доби експерименту.

Уперше виявлено, що при бронхіальній астмі і адреналіновому пошкодженні міокарда в усіх періодах їх розвитку відбувається активізація процесів ліпопероксидації та компенсаторне зростання активності ферментів антиоксидантної системи (супероксиддисмутази, каталази, глутатіонредуктази) на 1-у і 4-у доби експерименту у легенях з подальшим їх суттєвим зниженням на 18-у і 25-у добу експерименту.

Уперше встановлено, що при бронхіальній астмі і адреналіновому пошкодженні міокарда спостерігається послідовне зростання процесів перекисного окиснення ліпідів у всі періоди їх розвитку (1-а, 4-а, 18-а і 25-а доби), із одночасним підвищенням маркерів антиоксидантного захисту на 1-у і 4-у доби експерименту з наступною депресією активності супероксиддисмутази, каталази і глутатіонредуктази в міокарді тварин на 18-у і 25-у доби експерименту.

Уперше доведено антиоксидантний та імуномодулюючий вплив препарату корвітину на порушені маркери метаболічних та імунних процесів (знижується рівень В-лімфоцитів, циркулюючих імунних комплексів, дієнових кон'югатів, малонового діальдегіду, фактора некрозу пухлин-альфа та інтерлейкіну-6 та підвищується активність супероксиддисмутази, каталази, глутатіонредуктази, Т-лімфоцитів та інтерлейкіну-10 в крові, легенях, міокарді) за умов розвитку бронхіальної астми і адреналінового пошкодження міокарда.

Практичне значення отриманих результатів. Результати проведених біохімічних та імунних досліджень розширюють та поглиблюють відомі знання про механізми формування бронхіальної астми і адреналінового пошкодження міокарда. Виражений антиоксидантний та імуномодулюючий вплив препарату корвітину на порушені маркери метаболічних та імунних процесів вказує на доцільність і перспективність його подальшого вивчення та застосування в клініці за умов розвитку бронхіальної астми та адреналінового пошкодження міокарда і розробки методичних рекомендацій. Результати дослідження впроваджені в навчальний процес на кафедрі патологічної фізіології Івано-Франківського національного медичного університету, Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського, Львівського національного

медичного університету імені Данила Галицького, ВДНЗ України “Буковинський державний медичний університет”, кафедрі анатомії та патологічної фізіології Львівського медичного інституту, що підтверджено актами впровадження.

Ключові слова: експериментальна бронхіальна астма, адреналінове пошкодження міокарда, процеси ліпопероксидації, антиоксидантна система, корвітин.

Список публікацій здобувача за темою дисертації.

• **Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:**

1. Регеда М. С., **Небелюк Н. М.** Значення вільнорадикального окиснення і антиоксидантного захисту для патогенезу розвитку експериментальної бронхіальної астми та адреналінового пошкодження міокарда. *Одеський медичний журнал*. 2016 № 4 (156). С. 5-8. *(Особистий внесок – самостійно виконано дослідження, статистично опрацьовано отримані результати, написано текст та сформульовано висновки).*

2. Регеда М. С., **Небелюк Н. М.** Вплив корвітину на порушені показники перокисного окиснення ліпідів та антиоксидантної системи в легенях при експериментальній бронхіальній астмі у поєднанні з адреналіновим пошкодженням міокарда. *Досягнення біології та медицини*. 2016 № 1 (27). С. 27-30. *(Особистий внесок – самостійно виконано дослідження, статистично опрацьовано отримані результати, написано текст та сформульовано висновки).*

3. Регеда М. С., **Небелюк Н. М.** Роль процесів перекисного окиснення ліпідів та активності ферментів антиоксидантного захисту в міокарді у патогенезі експериментальної бронхіальної астми. *Вісник наукових досліджень*. 2016 № 2 (83). С. 85-86. *(Особистий внесок – самостійно виконано дослідження, статистично опрацьовано отримані результати, написано текст та сформульовано висновки).*

4. Регеда М. С., **Небелюк Н. М.** Значення вільнорадикального окиснення і антиоксидантного захисту для патогенезу розвитку експериментальної бронхіальної астми та адреналінового пошкодження міокарда.

Медицина та клінічна хімія. 2016 № 2 (67) том. 18. С. 59-62. (Особистий внесок – самостійно виконано дослідження, статистично опрацьовано отримані результати, написано текст та сформульовано висновки).

5. **Nebelyuk Nazariy**. Effect of corvitin on changes in cytokin levels in the development of experimental bronchial asthma in combination with adrenaline myocardial damage. *Journal of Education, Health and Sport*. 2021. Vol. 11, № 2. P. 308–316.

6. Регеда М. С., Любінець Л. А., **Небелюк Н. М.** Роль процесів перекисного окиснення ліпідів та активності ферментів антиоксидантного захисту в легенях у патогенезі експериментальної бронхіальної астми. *Медицинський форум*. 2017 № 12 (12). С. 51-53. (Особистий внесок – самостійно виконано дослідження, статистично опрацьовано отримані результати, написано текст та сформульовано висновки).

- **Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:**

7. Регеда М. С., Любінець Л. А., **Небелюк Н. М.** Зміни рівня циркулюючих імунних комплексів за умов розвитку експериментальної бронхіальної астми в поєднанні з адреналіновим пошкодженням міокарда. *Медицина наука та практика в умовах сучасних трансформаційних процесів: зб. матеріалів міжнародної наук.-практ. конф., 21-22 квітня 2017 р. Львів. 2017. С. 35-38.* (Особистий внесок – самостійно виконано дослідження, статистично опрацьовано отримані результати, написано текст та сформульовано висновки).

8. **Небелюк Н. М.** Зміни рівня Т-лімфоцитів за умов розвитку експериментальної бронхіальної астми у поєднанні з адреналіновим пошкодженням міокарда. *Проблеми та стан розвитку медичної науки та практики в Україні: зб. матеріалів міжнародної наук.-практ. конф., 9-10 червня 2017 р. Дніпро. 2017. С. 51-53.*

9. **Небелюк Н. М.** Визначення рівня дієнових кон'югатів у легеневій тканині за умов розвитку експериментальної бронхіальної астми у поєднанні з адреналіновим пошкодженням міокарда. *Актуальні питання сучасної медицини: наукові дискусії: зб. матеріалів міжнародної наук.-практ. конф., 27-28 жовтня 2017 р. Львів. 2017. С. 37-39.*

10. **Небелюк Н. М.** Визначення рівня малонового діальдегіду в легеневій тканині за умов розвитку експериментальної бронхіальної астми у поєднанні з адреналіновим пошкодженням міокарда. *Рівень ефективності та необхідність впливу медичної науки на розвиток медичної практики*: зб. матеріалів міжнародної наук.-практ. конф., 2-3 березня 2018 р. Київ. 2018. С. 82-84.

ANNOTATION

Nebelyuk N. M. Pathophysiological features of the course of experimental bronchial asthma in the conditions of adrenaline myocardial damage and their correction by Corvitin. – Qualifying scientific work on the rights of the manuscript.

Dissertation for the degree of Doctor of Philosophy in the specialty 222 – Medicine (22 – Healthcare). – Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Ministry of Health of Ukraine, Lviv, 2021.

The dissertation work is devoted to studying of features of disturbances of indicators of a cytokine profile, cellular and humoral immunity, processes of prooxidant and antioxidant systems in blood, lungs and a myocardium in dynamics (1st, 4th, 18th and 25th days) of development of experimental bronchial asthma and adrenaline myocardial damage before and after treatment with Corvitin.

Immunological, enzyme-linked immunosorbent assays and biochemical studies were performed on 128 guinea pigs (males) weighing 180-220 g, which were kept on the standard diet of the vivarium of Danylo Halytsky Lviv National Medical University.

All guinea pigs are divided into five groups: the first – intact animals – control (10 guinea pigs); the second (experimental) group – contained 4 subgroups (9 guinea pigs in each) – animals with asthma, respectively, on the 1st, 4th; 18th and 25th day of the experiment (before treatment); the third (experimental) group consisted of four subgroups (9 guinea pigs in each) – animals with AMD, respectively, on the 1st, 4th; 18th and 25th day of the experiment (before treatment); the fourth group contained 4 subgroups (9 guinea pigs in each) – animals with asthma and AMD, respectively, on the 1st, 4th, 18th and 25th day of the experiment (before treatment); the fifth group (10 guinea pigs) – animals on the 25th day of asthma and AMD, which were injected

intraperitoneally Corvitin at a dose of 40 mg/kg for 10 days (from the 16th to the 25th day).

Reproduced a model of experimental asthma by the method of Babich VI. Adrenaline myocardial damage was modeled by the method of Markova OO.

Bronchial asthma combined with adrenaline myocardial damage causes an increase in tumor necrosis factor and interleukin-6 in the blood by 51.2 % ($P<0.05$), 61.5 % ($P<0.05$), 66.6 % ($P<0.05$), respectively ($P<0.05$), 74.3 % ($P<0.05$) and 28.3 % ($P<0.05$), 35.0 % ($P<0.05$), 45.0 % ($P<0.05$) and 65.0 % ($P<0.05$) and a decrease in the level of interleukin-10 by 23.0 % ($P<0.05$), 26.3 % ($P<0.05$), 43.9 % ($P<0.05$) and 47.2 % ($P<0.05$) against control.

Combined pathology at all stages of its formation is accompanied by suppression of cellular and stimulation of humoral immunity (decrease of T-lymphocytes in the blood on the 4th, 18th and 25th day, respectively, by 12.0 % ($P<0.05$), 32.0 % ($P<0.05$) and 41.2 % ($P<0.05$), no significant changes were observed on the 1st day; an increase in the level of B-lymphocytes by 19.4 % ($P<0.05$), 25.3 % ($P<0.05$), 58.4 % ($P<0.05$) and 77.9 % ($P<0.05$) and circulating immune complexes by 31.7 % ($P<0.05$), 36.2 % ($P<0.05$), 46.7 % ($P<0.05$) and 54.0 % ($P<0.05$), respectively, on the 1st, 4th, 18th and 25th days against intact groups of animals).

The dynamics of the formation of bronchial asthma and adrenaline myocardial damage (1st, 4th, 18th and 25th days) is characterized by a gradual increase in lipoperoxidation against the background of suppression of antioxidant protection – increases the content of diene conjugates by 35.3 %, 42.7 %, 71.3 %, 78.7 % ($P<0.05$), malonic dialdehyde by 28.6 %, 33.9 %, 59.5 % and 68.7 % ($P<0.05$) and compensatory increase in the activity of superoxide dismutase by 10.8 % and 11.9 % ($P<0.05$), catalase by 14.8 % and 21.1 % ($P<0.05$), glutathione reductase in the lungs by 61.1 % and 100.0 % ($P<0.05$) on the 1st and 4th day of the experiment, and then on the 18th and 25th day of the experiment there was a decrease in SD in the lungs by 29.2 % and 40.3 % ($P<0.05$), C by 35.1 % and 52.0 % ($P<0.05$), GR by 61.1 % and 77.8 % ($P<0.05$) compared with the first group of animals, which indicated the development of oxidative stress, which is one of the leading mechanisms of cell damage.

In the pathogenesis of the formation of combined pathology – bronchial asthma and adrenaline myocardial damage (1st, 4th, 18th and 25th days) an important role is played by the development of oxidative stress, which is manifested by an increase in diene conjugates in the myocardium by 38.2 %, 52.6 %, 79.0 % and 102.6 % ($P<0.05$) and malonic dialdehyde by 33.6 %, 60.3 %, 67.8 %, 100.7 % ($P<0.05$) and increased superoxide dismutase activity by 27.5 % and 15.8 % ($P<0.05$), C by 22.3 %, 24.8 % ($P<0.05$), GR by 133.3 % and 155.6 % ($P<0.05$) and a decrease in these enzymes later on the 18th and 25th day of the experiment, SD, respectively, 42.0 % and 51.1 % ($P<0.05$), C by 23.0 % and 48.1 % ($P<0.05$), GR by 66.7 % and 87.8 % ($P<0.05$) against control.

The use of the drug Corvitin led to a decrease in the content of TNF- α by 33.8 % ($P<0.05$), IL-6 by 49.4 %, B-lymphocytes 25.9 % ($P<0.05$), CIC by 27.5 % ($P<0.05$) in the blood, DC by 36.6 % ($P<0.05$), MD by 33.4 % ($P<0.05$) in the lungs, DC by 39.0 % ($P<0.05$), MD by 33.8 % ($P<0.05$) in the myocardium and an increase in IL-10 by 54.1 % ($P<0.05$), T-lymphocytes by 46.2 % ($P<0.05$) in the blood, the activity of SD, C and GR in the lungs by 44.7 %, 82.9 % and 100.0 % ($P<0.05$) and SD, C and GR in the myocardium by 63.2 %, 62.9 %, 81.8 % ($P<0.05$) against a group of animals without the injection of this drug, which indicated its pronounced antioxidant and immunomodulatory effect in the development of bronchial asthma and adrenaline myocardial damage.

Scientific novelty of the obtained results. For the first time the pathogenetic features of changes in cellular and humoral immunity, cytokinogenesis, prooxidant and antioxidant processes in blood, lungs and myocardium were established and their participation in the pathogenesis of bronchial asthma and adrenaline myocardial damage was proved.

For the first time it was shown that the combined pathology (bronchial asthma and adrenaline myocardial damage) causes gradual growth of proinflammatory cytokines (tumor necrosis factor- α and interleukin-6) against decrease in anti-inflammatory cytokine (interleukin-10) in blood at all stages of their formation with an advantage on 18th and 25th days of the experiment.

It was found for the first time that bronchial asthma and adrenaline myocardial damage (1st, 4th, 18th and 25th days) are accompanied by stimulation of humoral in the conditions of depression of cellular immunity, especially on the 18th and 25th days of the experiment.

It was discovered for the first time that in bronchial asthma and adrenaline myocardial damage at all periods of their development there is an activation of lipoperoxidation processes and a compensatory increase in the activity of enzymes of the antioxidant system (superoxide dismutase, catalase, glutathione reductase) on the 1st and 4th days and a significant decrease on the 18th and 25th days of the experiment.

It was established for the first time that in bronchial asthma and adrenaline myocardial damage there is a consistent increase in lipid peroxidation in all periods of their development (1st, 4th, 18th and 25th days), with a simultaneous increase in markers of antioxidant protection on the 1st and 4th day of the experiment, followed by depression of the activity of superoxide dismutase, catalase and glutathione reductase in the myocardium of animals on the 18th and 25th days of the experiment.

For the first time, the antioxidant and immunomodulatory effects of Corvitol on impaired markers of metabolic and immune processes (decreased levels of B-lymphocytes, circulating immune complexes, diene conjugates, malonic dialdehyde, tumor necrosis factor- α and interleukin-6 glutathione reductase, T-lymphocytes and interleukin-10 in the blood, lungs, myocardium) in the development of bronchial asthma and adrenaline myocardial damage.

The practical significance of the results. The results of biochemical and immune studies expand and deepen the known knowledge about the mechanisms of formation of bronchial asthma and adrenaline myocardial damage. The pronounced antioxidant and immunomodulatory effect of Corvitol on impaired markers of metabolic and immune processes indicates the feasibility and prospects for its further study and use in the clinic in the development of asthma and adrenaline myocardial damage and the development of guidelines. The results of the study are implemented in the educational process at the Department of Pathological Physiology of Ivano-Frankivsk National Medical University, I. Gorbachevsky Ternopil National Medical University, Danylo Halytsky

Lviv National Medical University, Bukovynian State Medical University, Department of Anatomy, Physiology and pathology of the Lviv Medical Institute, which is confirmed by acts of implementation.

Key words: experimental bronchial asthma, adrenaline myocardial damage, lipoperoxidation processes, antioxidant system, Corvitin.